



Universidad Nacional Autónoma de México.

Facultad de Medicina.

División de Estudios de Posgrado.

Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"

Servicio de gastroenterología

"Correlación entre las concentraciones séricas de la proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8 y la progresión del proceso fibrogénico hepático en la colangitis biliar primaria."

TESIS

Para Optar por el Grado de Especialista en Gastroenterología.

Presenta:

Dra. María Argentina Díaz Castro

Asesor de Tesis:

Dr. José Luis Pérez Hernández

Dra. Carolina Guzmán Arriaga

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, octubre de 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

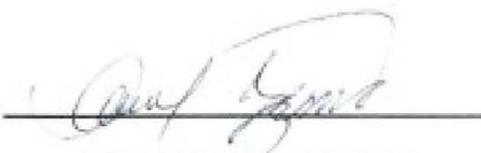
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.



Dr. José Luis Pérez Hernández
Médico adscrito del Servicio de Gastroenterología
Servicio de Gastroenterología
Hospital General de México.
Tutor de Tesis



Dra. Carolina Guzmán Arriaga
Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad (HIPAM)
Unidad de Medicina Experimental, UNAM Hospital General de México.
Co-tutor de tesis

DEDICATORIA

- *A mi padre Dios por que ha sido su voluntad que yo haya llegado hasta acá, por siempre sostenerme en cada adversidad.*
- *A mi madre, ese ser incondicional y amoroso que en todo momento ha estado para mí, por escucharme sin juzgarme y apoyarme en cada decisión importante.*
- *A mi padre, por ser mi mejor ejemplo de superación y enseñarme que aunque la vida puede ser difícil siempre se puede soñar con más.*
- *A ti Luis, padre de mi hija y futuro esposo, definitivamente sin tu apoyo y compañía esta meta no habría sido posible, gracias por tu tenacidad, amor y paciencia.*
- *A mi hermosa hija Andrea Isabella, mi mayor motivación, porque a pesar de la distancia cada día me dejaste sentir tu amor, y por siempre recibirme con los brazos abiertos.*
- *Y a toda mi gran familia, han sido un apoyo único estos 3 años.*

AGRADECIMENTOS

- *A la Dra. Fátima Higuera de la Tijera y Dr. José Luis Pérez Hernández por su compromiso con la enseñanza y por sembrar en sus alumnos la semilla de la investigación.*
- *A la Dra. Carolina Guzmán Arriaga por su pasión por la investigación y permitirme ser parte de este proyecto.*
- *A ustedes compañeros y amigos, porque juntos hicimos este camino mucho más agradable.*
- *Este trabajo fue parcialmente financiado por CONACyT (CB-221137).*

INDICE

1. Marco teórico.....	10
1.1 Introducción.....	10
1.2 Fisiopatología de la CBP.....	10
1.3 Presentación clínica y diagnóstico de la CBP.....	10
1.4 Rol de la biopsia hepática en la CBP.....	11
1.5 Tratamiento de la CBP.....	11
1.6 Fibrosis y cirrosis hepática.....	12
1.7 Diagnóstico de la fibrosis hepática.....	13
1.8 Proteínas de unión al factor de crecimiento insulinoide IGFBPs.....	15
1.9 IGFBPs en enfermedad hepática crónica.....	16
2.0 Planteamiento del problema.....	18
3.0 Justificación.....	19
4.0 Hipótesis.....	20
5.0 Objetivos.....	21
5.1 Objetivo general.....	21
5.2 Objetivos específicos.....	21
6.0 Metodología	22
6.1 Diseño estudio.....	22
6.2 Grupo de estudio.....	22
6.2.1 Criterios de inclusión.....	22
6.2.2 Criterios de exclusión.....	22
6.2.3 Criterios de eliminación.....	22
6.3 Procedimientos	23
7.0 Operacionalización de variables.....	25
7.1 Tipo de variables.....	25
7.2 Definición de variables.....	25
8.0 Análisis estadístico.....	29
9.0 Aspectos éticos y de bioseguridad.....	30

10.0 Resultados	34
11.0 Análisis y discusión	38
12.0 Conclusiones	40
13.0 Bibliografía	41
14.0 Anexos	43
Anexo 1 Carta de consentimiento Informado	43
Anexo 2 Hoja de recolección de datos	46
Anexo 3 Carta de aprobación comité de investigación Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"	47

SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

<i>Siglas</i>	<i>Descripción</i>
CBP	Colangitis biliar primaria
IGFBP 8	Proteínas de unión al factor de crecimiento insulinoide 8
FCTC	Factor de crecimiento de tejido conectivo
AMA	Anticuerpos Antimitocondriales
ANA	Anticuerpos Antinucleares
FA	Fosfatasa alcalina
GGT	Gammaglutamiltranspeptidasa
AUDC	ácido ursodesoxicólico
MEC	Matriz extracelular
ALT	Alanino amino transferasa
AST	Aspartato amino transferasa
IMC	Indice de masa corporal

Resumen

Introducción: La fibrosis es una respuesta cicatrizal ante diversos agentes etiológicos que afecta a diferentes órganos incluyendo al hígado. La cirrosis, la etapa más avanzada de la progresión de la fibrosis hepática, es una de las principales causas de mortalidad en nuestro país y la principal causa de hepatocarcinoma celular. El estándar de oro para el diagnóstico de la fibrosis es la biopsia hepática, la cual tiene diversas desventajas; alternativamente, se han desarrollado paneles de biomarcadores no-invasivos, cuya capacidad de diagnóstico y estadificación sigue siendo pobre. Los marcadores más utilizados son moléculas subrogadas del daño hepático, sin embargo existen diferentes moléculas que podrían tener una participación directa en la progresión de la fibrosis hepática, tal es el caso de la familia de proteínas de unión al factor de crecimiento insulinoide (IGFBP). Nuestro grupo de investigación ha identificado la participación de IGFBP-8, también conocida como factor de crecimiento de tejido conectivo (FCTC) en la regulación de matriz extracelular (MEC). Con esta evidencia es posible plantear que esta proteína tiene un papel relevante en la progresión del proceso fibrogénico en enfermedad colestásica, lo cual no ha sido descrito en pacientes con enfermedad hepática crónica. El propósito de este estudio es estudiar el patrón de concentraciones séricas de las IGFBP - 8 en pacientes con colangitis biliar primaria (CBP) y establecer su relación con los diferentes grados de fibrosis. Este estudio permitirá identificar patrones de susceptibilidad a la progresión de la fibrosis hepática que contribuirían a mejorar el diagnóstico y pronóstico de la misma, e incluso podría identificar un blanco terapéutico.

Planteamiento del problema: Con la evidencia en la literatura es posible plantear que esta proteína tiene un papel fundamental en la progresión del proceso fibrogénico en enfermedad hepática colestásica crónica lo cual no ha sido aún descrito en pacientes con enfermedad hepática crónica.

Objetivo. Evaluar la correlación entre las concentraciones séricas de proteínas de unión a factor de crecimiento insulinoide 8 y el grado de fibrosis hepática en pacientes con CBP.

Metodología: Se realizó un estudio analítico, observacional, de corte transversal. Se incluyeron 30 pacientes con CBP, procedentes de la clínica de hígado, a quienes previo consentimiento informado se les tomó muestra sanguínea, la cual posteriormente fue analizada en el laboratorio de hígado, páncreas y motilidad (HIPAM) de la unidad de medicina experimental; en dichos pacientes se describieron las características generales, se determinaron las diferentes etapas de fibrosis (F0 a F4), mediante elastografía transitoria (Fibroscan); en cada paciente se cuantificaron las concentraciones séricas IGFBP - 8 y se determinó si presentaban sobre expresión (>500 pg/mg en sangre). Se estableció la correlación entre la sobreexpresión del IGFBP - 8 y cada nivel de fibrosis.

Análisis de resultados: Se usó estadística descriptiva, analítica, medias, medianas, desviación estándar, rangos intercuartílicos y correlación de Pearson para la presentación y análisis de las variables.

Palabras Clave: Colangitis biliar primaria, fibrosis hepática, proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8.

1. Marco teórico

1.1 Introducción

La cirrosis hepática es una de las causas de mortalidad más frecuentes en nuestro país, ocupando la 3ª causa de muerte entre los hombres y la 7ª entre las mujeres de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud, el INEGI y otras estadísticas nacionales. A nivel mundial, México es el 13º país con mayor mortalidad por cirrosis, lo cual pone a nuestro país en uno de los primeros lugares en cuanto a años de vida saludables perdidos (AVISA) a causa de esta patología.

La colangitis biliar primaria (CBP), es una enfermedad poco frecuente pero importante que afecta predominantemente a las mujeres. Es una enfermedad hepática colestásica crónica autoinmune reconocida a nivel mundial con varias características, que incluyen: colestasis, reactividad serológica a anticuerpos antimitocondriales (AMA) o reactividad de anticuerpos antinucleares específicos (ANA), con evidencia histológica acompañante de colangitis crónica no supurativa, granulomatosa, linfocítica de los conductos biliares pequeños. Esta enfermedad es a menudo progresiva, lo que resulta en una enfermedad hepática en etapa terminal y sus complicaciones asociadas. El objetivo de la terapia de por vida es prevenir la enfermedad hepática progresiva y mejorar los síntomas asociados con la enfermedad que reducen la calidad de vida del paciente [1].

1.2 Fisiopatología de la CBP

Los factores desencadenantes de la enfermedad no se conocen bien. Es probable que las influencias ambientales desempeñen un papel importante interactuando con el riesgo inmunogenético y epigenético, favoreciendo la lesión epitelial biliar mediada por el sistema inmunitario crónico con colestasis subsiguiente, ductopenia y fibrosis biliar progresiva [1].

1.3 Presentación clínica y diagnóstico de la CBP

La CBP puede ser asintomática al inicio o manifestarse con fatiga, prurito, malestar abdominal en el cuadrante superior derecho e ictericia; y en etapas más avanzadas presentar datos clínicos evidentes de cirrosis hepática y sus complicaciones. [1].

Los marcadores bioquímicos tempranos incluyen aumento de las concentraciones séricas de fosfatasa alcalina (FA) y gammaglutamiltranspeptidasa (GGT), seguido de hiperbilirrubinemia conjugada en estadios más avanzados. Así mismo se puede encontrar determinación sérica positiva de AMA en más de 90% de los pacientes y ANA específicos para CBP en aproximadamente 30 % de los casos. Por otra parte la realización de estudios de imagen tales como ultrasonido abdominal y colangiografía son importantes para excluir otras entidades diagnósticas [1].

1.4 Rol de la biopsia hepática en la CBP

Ante una alta sospecha de CBP con anticuerpos negativos se puede recurrir a la biopsia hepática para confirmar dicho diagnóstico.

Los hallazgos histológicos descritos característicos son inflamación crónica no supurativa, que rodea y destruye los conductos biliares interlobulares y septales, y se denomina "lesiones del conducto florido". Estos son a menudo identificables en las primeras etapas. El infiltrado inflamatorio consiste principalmente en linfocitos T asociados con pocos linfocitos B, macrófagos y eosinófilos; También se pueden observar granulomas epitelioides. Un aumento progresivo en el daño del conducto biliar conduce a ductopenia, inflamación y depósito de colágeno, y se puede usar para estratificar cuatro (1–4) "etapas" de CBP (cuando se clasifican según Ludwig y Scheuer). La etapa 4 indica la presencia de cirrosis.

1.5 Tratamiento de la CBP

Se han estudiado varios agentes, incluidos los inmunosupresores, pero faltan pruebas reproducibles y / o consistentes de beneficios. Al momento los enfoques terapéuticos basados en ácidos biliares son los únicos que han mostrado resultados favorables [1]. Actualmente el ácido ursodesoxicólico (AUDC) es recomendado por la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas (AASLD) y Asociación Europea para el Estudio del Hígado (EASL) a dosis de 13 – 15 mg /kg de peso /día.

Para el tratamiento de síntomas como el prurito, los secuestradores de bilis (ej. colestiramina) se usan ampliamente como terapia de primera línea, aunque la tolerabilidad es a menudo un problema, con efectos secundarios que incluyen hinchazón y estreñimiento [2]. Los secuestradores de bilis deben administrarse 2–4 horas antes o después de otros medicamentos (incluyendo AUDC), ya que interfieren con la absorción intestinal.

1.6 Fibrosis y cirrosis hepática

La fibrosis es una respuesta cicatrizal ante diversos agentes etiológicos que afecta a órganos como el hígado, el páncreas, el pulmón, el corazón y el riñón entre otros, constituyendo un importante problema de morbi-mortalidad particularmente en enfermedades crónicas [3,4].

Independientemente de la etiología, la fibrosis se caracteriza por la presencia de regiones dañadas encapsuladas por MEC, principalmente compuesta por tres tipos de moléculas: colágenas, glicoproteínas y proteoglicanos [5].

En el caso del hígado, el evento fibrogénico se presenta como respuesta ante el daño ocasionado por un agente tóxico, por el daño asociado por la infección con virus hepatotrópicos (ej. VHC) o a una respuesta inmune. Las regiones dañadas dentro del parénquima hepático son invadidas paulatinamente por tejido cicatrizal compuesto por MEC con lo cual la fibrosis va progresando de ausencia total de cicatriz (F0) a fibrosis en los espacios portales sin la presencia de septos (F1), fibrosis portal con algunos septos (F2), presencia de múltiples septos (F3) hasta que finalmente encapsula completamente al lobulillo hepático formándose nódulos de regeneración en el estadio más avanzado de la fibrosis que es la cirrosis (F4) [6]. De esta manera, el hígado cirrótico no sólo pierde su estructura habitual, sino que va perdiendo sus funciones de depuración, metabolismo de tóxicos y de síntesis de factores de la coagulación y otras proteínas.

1.7 Diagnóstico de la fibrosis hepática

La biopsia hepática se sigue considerando el estándar de oro en el diagnóstico de la fibrosis y la cirrosis [7]. Este procedimiento presenta diferentes desventajas, tales como el alto riesgo que representa, su falta de precisión y su poca aceptación por parte de los pacientes. El procedimiento permite tomar un fragmento de aproximadamente 1/50,000 del total del tejido hepático, y puede realizarse de dos maneras: percutánea y transyugular. En ambos casos se requiere de un especialista para realizar el procedimiento. Una vez que se ha colectado el fragmento de tejido este se tiñe y tiene que ser analizado por un patólogo con experiencia en tejido hepático, por lo que la variabilidad inter-observador puede ser muy elevada limitando su capacidad diagnóstica [4, 8, 9]. El seguimiento de los pacientes, que en su gran mayoría cursan como crónicos, es complicado dado que sería necesaria la toma de múltiples biopsias para conocer la efectividad de los tratamientos recibidos y la progresión del proceso fibrogénico.

Alternativamente, se han desarrollado paneles de biomarcadores no-invasivos, particularmente analizando la sangre de los sujetos. La ventaja de este tipo de análisis respecto a la biopsia es que pueden ser repetidos en un mismo paciente a lo largo de su enfermedad con un riesgo significativamente más bajo, sin embargo, su capacidad de diagnóstico y estadificación de la fibrosis sigue siendo pobre.

Se han creado una serie de índices compuestos por moléculas séricas que son interpretadas mediante complejos algoritmos matemáticos, este tipo de índices tienen algunas ventajas y desventajas. Paneles diagnósticos como el FibroTest, FibroMeter y Hepascore han sido probados en miles de pacientes con Hepatitis C [7, 10]. FibroTest identifica al 70% de pacientes con diagnóstico histológico de fibrosis severa, y aproximadamente al 90% de pacientes con cirrosis, puede descartar de manera confiable la fibrosis moderada y la cirrosis; y pareciera tener una precisión similar para la fibrosis en pacientes que no cursan de manera crónica. Hepascore presenta una capacidad diagnóstica similar a la del FibroTest. Por su

parte FibroMeter no ha sido estudiado de manera tan extensiva como los paneles anteriores, pero parece tener una capacidad diagnóstica similar al FibroTest [9].

Otro índice propuesto es el APRI que mide la relación entre los niveles séricos de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) y el conteo plaquetario, este índice es mucho más económico respecto a los anteriormente mencionados, y tiene una utilidad similar a otros paneles diagnósticos. Por su parte, la medición de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) es frecuente en la clínica, sin embargo no predicen la progresión de la fibrosis ya sea medidas de manera independiente o bien como el índice ALT/AST [5].

Recientemente se ha integrado al diagnóstico de la fibrosis hepática el método conocido como elastografía transicional (FibroScan), que consiste en medir la dureza del hígado en kiloPascales. Este método se ha evaluado en un gran número de pacientes, y ha mostrado un 70% de concordancia respecto a la biopsia para pacientes con fibrosis moderada a severa, mientras que en el 85% de los casos puede identificar a pacientes con cirrosis.

Las desventajas de la elastografía son su poca capacidad para identificar las etapas tempranas de la fibrosis (leve y moderada) muy pocos centros hospitalarios poseen el equipo y por lo tanto el costo para el paciente es alto [7].

Hasta ahora, la sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de la fibrosis hepática ha mostrado ser similar entre los diversos paneles. De esta manera, la elastografía puede tener una certeza diagnóstica muy parecida a la del APRI y a otros marcadores séricos subrogados de daño hepático, incluso el uso combinado de diferentes pruebas no mejora el diagnóstico [13].

Los marcadores más utilizados en este tipo de pruebas son moléculas subrogadas del daño hepático, que si bien parecen reflejar parcialmente el proceso fibrogénico, no están directamente relacionadas con el mismo. Sin embargo, existen diferentes moléculas secretadas, potencialmente cuantificables en la sangre y que podrían

tener una participación directa en la progresión de la fibrosis hepática, tal es el caso de la familia de proteínas de unión al factor de crecimiento insulinoide (IGFBP).

1.8 La familia de Proteínas de Unión al Factor de Crecimiento Insulinoide IGFBPs.

La familia de factores de crecimiento insulinoide (IGF) tiene como principal fuente al hígado, por lo que algunos de sus miembros presentan una disminución asociada a la enfermedad hepática crónica y la cirrosis [13, 15]. Esta súper familia incluye 2 factores de crecimiento (IGF-1 y 2), receptores específicos de IGFs (IGF-1R, IGF-2R), una familia de proteínas de unión (IGFBP-1 a 12), la subunidad ácido-lábil (ALS) y un sistema de proteasas que regulan la unión de IGFs a sus proteínas de unión. El sistema de IGFs es regulado a nivel central por la hormona del crecimiento (GH) como principal inductor de la síntesis hepática de IGFs y por la somatostatina (SST) que funciona como inhibidor de su síntesis [15].

Las proteínas IGFBPs constituyen un grupo de proteínas homólogas que son sintetizadas en la mayoría de los tejidos pero cuya principal fuente es el hígado [15, 16]. Las IGFBPs se encargan de unir a los IGFs, de esta manera modulan su acción metabólica [16], y prolongan su vida media así como su biodisponibilidad [15]. Las IGFBPs comprenden un grupo con alta afinidad por IGFs mientras que sus proteínas relacionadas (IGFBP-rP) también unen IGFs pero con una afinidad más baja.

El grupo de las IGFBPs está constituido por 6 proteínas altamente conservadas con alta afinidad por los IGFs (IGFBP-1 a 6). Por su parte las proteínas relacionadas (IGFBP-rP) tienen una afinidad más baja por los IGFs y a la fecha son un grupo con 6 miembros estructuralmente relacionados (IGFBP-7 a 12 o bien IGFBP-rP-1 a 6) [13]. IGFBP-1 a 4 se unen con afinidades similares tanto a IGF-1 como a IGF-2, mientras que IGFBP-5 y 6 tiene mayor afinidad por IGF-2 [16]. IGFBP-3 es la forma predominante en la circulación y se une a la mayor parte de IGFs circulantes [16, 17] mediante la formación de un heterotrímero con ALS [20].

La interacción de los IGFs con sus proteínas de unión tiene efectos diferenciales de acuerdo con el IGFBP enlazado. IGFBP-1, 3, 4 y 6 inhiben las acciones de los IGFs disminuyendo su biodisponibilidad y por lo tanto su interacción con sus receptores, mientras que IGFBP-2 y 5 tienen el efecto opuesto [16]. Estos efectos dependen a su vez de las proteasa de IGFBPs, que pueden incrementar o disminuir las concentraciones de IGFs libres.

Las funciones de este grupo de proteínas han sido ampliamente estudiadas por su papel en la regulación de los IGFs y por consiguiente en la homeostasis de la glucosa. Sin embargo, estas moléculas han mostrado otras funciones independientes de IGF. Las IGFBPs han sido implicadas en procesos como la diferenciación celular, la proliferación, tanto como parte de la regeneración tisular como de la progresión al cáncer, en la senescencia celular, en la apoptosis de células transformadas, algunas parecen incluso tener efectos como supresores de tumores.

Estas moléculas incluso han mostrado participación en el proceso fibrogénico pulmonar, la sobre expresión de IGFBP-5 favorece la producción de MEC, la respuesta fibrogénica por parte de los fibroblastos [21-23]. Efectos similares se han observado en la piel [24, 25]. IGFBP-4 ha mostrado asociación con los niveles de expresión de las metaloproteinasas de matriz (MMP). Particularmente MMP 1, 3 y 13 muestran una correlación con IGFBP-4 en la remodelación tisular del endometrio en el periodo post-parto [24], así como en la síntesis de colágena en el tejido conectivo peritendinoso [27].

IGFBP-8, también conocida como factor de crecimiento de tejido conectivo (FCTC) tiene un papel documentado en la regulación de MEC [31].

1.9 IGFBPs en la enfermedad hepática crónica

En la enfermedad hepática crónica, se han documentado alteraciones en las concentraciones circulantes de algunas de las IGFBPs [26], sin embargo su posible participación en la misma no es clara.

En un modelo murino de inflamación hepática crónica, fibrosis y hepatocarcinogénesis se demostró que las IGFBPs 3, 4, 5, 6 y 7 estaban sobre expresadas en las células estelares activadas [28].

La expresión de IGFBP-1 se incrementa en el hígado durante el proceso de regeneración post-lesión [31], y se ha mostrado que puede funcionar como un factor antiapoptótico en el hepatocito [31]. Nuestro grupo de investigación identificó en particular que la IGFBP-1 se encuentra en concentración hasta 25 veces más alta en el suero de pacientes con fibrosis hepática [28].

IGFBP-2 ha sido recientemente relacionada con la obesidad [32, 33] y su expresión correlaciona con la grasa visceral y la concentración de insulina en ayuno [32], por lo que pudiera tener una participación en el desarrollo de hígado graso, esteatohepatitis y fibrosis. IGFBP-3 por su parte, muestra una reducción en su expresión en el hepatocarcinoma celular (HCC) respecto a al hígado cirrótico [18]. Por otro lado, se ha demostrado que IGFBP-5 correlaciona con esteatosis y fibrosis en pacientes con hígado graso no-alcohólico [34]. De manera similar a IGFBP-3 la proteína de baja afinidad IGFBP-7 (también denominada IGFBP-rP-1) disminuye su expresión en el HCC [18, 35] en ratón.

En las células estelares hepáticas, IGFBP-8 es activado por el TGF- β , principal factor profibrogénico [31]. Nuestro grupo de investigación mostró previamente que esta proteína se asocia al progreso de la fibrosis hepática en un modelo murino de colestasis inducida por ligadura del conducto biliar (Arévalo-Sánchez TA, et. al. *Annals of Hepatology* 2017; 16(4):246.)

2.0 Planteamiento del Problema

El grupo de investigación de la Dra. Carolina Guzmán Arriaga ha realizado diversos estudios enfocados en la fisiopatología de la fibrosis hepática y recientemente realizó un estudio con animales de experimentación donde se incluyeron 4 grupos de ratones a los que se les ligó el conducto biliar y un grupo control sin ligadura del conducto biliar, se encontró que a los 7 y 25 días la expresión del IGFBP 8 se incrementó significativamente a los 7 días en suero y a los 25 días en el tejido hepático en los ratones con ligadura del conducto biliar, lo que no sucedió en el grupo control. Esto sugiere que la estenosis de la vía biliar puede ser un estímulo para el incremento de esta proteína que a su vez genere mayor fibrosis.

El papel de estas proteínas en el proceso fibrogénico en el hígado no está establecido, sin embargo se ha demostrado su participación en los procesos de proliferación celular, regeneración, senescencia y en la progresión a cáncer en diferentes tejidos incluyendo el mamario y el prostático, además de su participación en el proceso fibrogénico pulmonar [22].

Con esta evidencia es posible plantear que esta familia de proteínas tiene un papel relevante en la progresión del proceso fibrogénico hepático lo cual no ha sido descrito en pacientes con enfermedad hepática crónica. El propósito de la presente tesis es estudiar el patrón de concentraciones séricas de la IGFBP 8 en pacientes con CBP y establecer su relación con los diferentes grados de fibrosis. Este estudio permitirá identificar patrones de susceptibilidad a la progresión de la fibrosis hepática que contribuirían a mejorar el diagnóstico y pronóstico de la misma, e incluso podría identificar un posible blanco terapéutico.

3.0 Justificación

En la actualidad no existe un tratamiento específico para revertir o detener el avance de la fibrosis hepática, tampoco existen métodos diagnósticos que permitan identificar de manera sencilla, reproducible y confiable el avance de la fibrosis. La biopsia hepática sigue siendo hasta ahora el método que con mayor probabilidad puede establecer este diagnóstico. Sin embargo sus claras desventajas, alto riesgo para el paciente, costo, y gran variabilidad en la interpretación hace mucho más urgente la necesidad de contar con biomarcadores no invasivos que puedan ser aplicados cuando la biopsia no es una opción diagnóstica.

El costo social y económico del diagnóstico de las enfermedades hepáticas en México es muy alto. Se estima que por motivos económicos sólo un 20% de los pacientes puede realizarse las pruebas diagnósticas existentes actualmente, y de ellos únicamente el 50% recibe tratamiento, por lo cual es necesario tener un método de diagnóstico accesible para más mexicanos. La identificación de los patrones de secreción de la IGFBP 8 y su validación puede contribuir a mejorar el diagnóstico de la fibrosis en colangitis biliar primaria, particularmente siendo una opción no invasiva.

4.0 Hipótesis

Nula: La proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8 no participa en la regulación de la síntesis y deposición de las proteínas de matriz extracelular y su patrón de secreción no está directamente asociado a la progresión del proceso fibrogénico hepático en colangitis biliar primaria.

Alternativa: La proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8 participa en la regulación de la síntesis y deposición de las proteínas de matriz extracelular y su patrón de secreción está directamente asociado a la progresión del proceso fibrogénico hepático en colangitis biliar primaria, la cual es identificable en el suero del paciente.

5.0 Objetivos

Objetivo General:

- Identificar el patrón de secreción de la proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8 en pacientes con colangitis biliar primaria y establecer su correlación con el grado de fibrosis hepática.

Objetivos específicos:

- Cuantificar la concentración de IGFBP 8 en el suero de pacientes con colangitis biliar primaria
- Establecer la relación entre el grado de fibrosis con las concentraciones circulantes de la IGFBP 8
- Identificar el patrón de secreción de IGFBP 8 que incrementa la susceptibilidad a progresar entre las etapas de fibrosis

6.0 Metodología

6.1 Diseño del estudio

Analítico, observacional, de corte transversal.

6.2 Grupo de estudio

Se calculó la muestra con el software G-Power 3.1.9.2 tomando en cuenta el error alfa de 0.05, poder estadístico de 0.8 y tamaño del efecto de 0.8, Se incluyeron 30 pacientes con colangitis biliar primaria atendidos en la clínica de hígado del servicio de gastroenterología del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, en los cuales se determinaron las diferentes etapas de fibrosis (F0 a F4), mediante elastografía transitoria (Fibroscan). En cada paciente se cuantificaron las concentraciones séricas del IGFBP-8 y se determinó si presentaban sobre expresión (>500 pg/mL en sangre). Se estableció la correlación entre la sobreexpresión del IGFBP 8 y cada nivel de fibrosis.

6.2.1 Criterios de inclusión

1. Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico establecido de colangitis biliar primaria.

6.2.2 Criterios de exclusión

1. Consumo riesgoso de alcohol
2. Síndrome de sobreposición de hepatitis autoinmune / colangitis biliar primaria.
3. Infección crónica por virus de hepatitis B y/o C.
4. Síndrome metabólico.

6.2.3 Criterio de eliminación

1. Retiro de consentimiento informado
2. Expediente incompleto,

6.3 Procedimiento

- Una vez seleccionados los sujetos en estudio, se obtuvo consentimiento informado para participar en el mismo, según requerimientos del Comité de Ética de nuestra Institución y de acuerdo a los Principios de la Declaración de Helsinki y con La ley General de Salud, Título Segundo. De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos Capítulo I, Disposiciones Comunes. Artículo 13 y 14 (consentimiento informado adjunto en documento pdf)
- Se recabó la información enfocada a las características, clínicas y bioquímicas de cada paciente, se corroboró y completó esta información mediante la revisión del expediente clínico.
- Se tomó (previo consentimiento informado y explicación de riesgo mínimo) una muestra sanguínea venosa periférica de aproximadamente 10 – 15 ml, que se colocó en 3 tubos e inmediatamente se centrifugaron para posteriormente ser procesadas y analizadas.

Cuantificación de IGFBP- 8 en el suero de los sujetos

La cuantificación de IGFBP 8 en suero se realizó usando el kit CTGF ABTS ELISA (Peprotech, USA). El procedimiento consistió en agregar 100 μ L de anticuerpo de captura (1 μ g/ μ L) a cada pozo de una placa de 96 pozos y e incubar toda la noche; al día siguiente se aspiró el anticuerpo de captura y se lavó 4 veces con 300 μ L de buffer de lavado. Después se agregaron 300 μ L de buffer de bloqueo y se dejó incubando una hora a temperatura ambiente. Se repitieron 4 ciclos de lavado. Se agregaron 100 μ L de los estándares o las muestras a los pozos correspondientes (suero) y se dejó incubando 2 horas a temperatura ambiente. Se realizaron 4 lavados y se agregó el anticuerpo de detección (0.5 μ g/ μ L) con 100 μ L en cada pozo, se incuba por 2 horas a temperatura ambiente. Se realizaron 4 ciclos de lavado y se añadieron 100 μ L de Avidina conjugada con Peroxidasa dejando incubando 30 minutos más. Se realizaron 4 lavados más y se agregaron 100 μ L de la solución sustrato, incubando hasta el cambio de color.

Las absorbancias se determinaron con un lector de microplacas a las longitudes de onda 405 y 650 nm. La cantidad de IGFBP 8 se calculó en base a la curva estándar, su rango de determinación fue de 63-4000 pg/mL.

7.0 Operacionalización de las variables

7.1 Tipos de Variables

Variable dependiente: Concentración de IGFBP 8

Variable Independiente: Fibrosis hepática

Variables cuantitativas

- **Discretas:** Edad, comorbilidades, talla, plaquetas.
- **Continuas:** Peso, IMC, glucemia, AST, ALT, proteínas totales, albúmina, bilirrubina total, bilirrubina indirecta, bilirrubina directa, GGT, FA, IGFBP 8 sérico, Kpa en fibroscan.

Variables Cualitativas

- **Nominales:** sexo, comorbilidades.
- **Ordinales:** grado de fibrosis por fibroscan.

7.2 Definición de las Variables

Variable	Definición Operacional	Tipo Variable	Unidad de Medición
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento del individuo, se describirá en años.	Cuantitativa Discreta	Años
Sexo	Se definirá como masculino o femenino según características fenotípicas.	Cualitativa Nominal	Masculino / Femenino
Índice de masa corporal IMC	Es un indicador de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Se	Cuantitativa continua	kg/m ²

	calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros		
Comorbilidades	Otras afecciones crónicas diferentes a la patología en estudio	Cualitativa Nominal	La referidas por el paciente
Plaquetas (PLQ):	Se refiere a la cuenta total de las células de la serie megacariocítica reportada en la BH	Cuantitativa Continua	Se expresa en $10^3/\mu\text{l}$.
Glucemia (Gluc):	Es la cantidad de glucosa libre en sangre reportada en la química sanguínea (QS)	Cuantitativa Continua	Se expresa en mg/dL
Albúmina (Alb):	Proteína producida por el hígado siendo la mayor proteína contenida en sangre, reportada en la QS.	Cuantitativa Discreta	Se expresa mg/dL.
Bilirrubina total (BT):	Pigmento de la bilis resultado de la descomposición de la Hb que incluye la suma de la bilirrubina directa e indirecta, reportada en la QS.	Cuantitativa Discreta	Se expresa en mg/dL
Bilirrubina Directa (BD):	Es el total de bilirrubina conjugada con ácido glucorónico, reportada en la QS.	Cuantitativa Discreta	Se expresa en mg/
Bilirrubina Indirecta	No conjugada o libre, se produce en la sangre a partir	Cuantitativa Discreta	Se expresa

(BI):	de la degradación de los eritrocitos, reportada en la QS.		en mg/dL.
Alanina-aminotransferasa (TGP):	Enzima unilocular que se localiza en el parénquima hepático y en menor proporción en músculo esquelético, corazón, riñón, páncreas y eritrocitos, cataliza la transferencia de un grupo amino desde la alanina a la alfa-ceto-glutarato, reportada en la QS.	Cuantitativa Discreta	Se expresa en U/L.
Aspartato-aminotransferasa (TGO):	Enzima unilocular que se localiza en el parénquima hepático y en menor proporción en músculo esquelético, corazón, riñón, páncreas y eritrocitos, cataliza la transferencia de un grupo amino desde el aspartato a la alfa-ceto-glutarato, reportada en la QS.	Cuantitativa Discreta	Se expresa en U/L.
Fosfatasa alcalina (FA):	Proteína que se encuentra en todos los tejidos corporales y en proporciones más altas en hígado, vías biliares y hueso; elimina los grupos fosfatos de varios	Cuantitativa Discreta	Se expresa en U/L.

	tipos de moléculas (nucleótidos, proteínas y alcaloides, reportada en la QS.		
Gama-glutamil-transpeptidasa (GGT):	Enzima hepática que participa en la transferencia de aminoácidos a través de las membranas celulares con mayor concentración en hígado y vías biliares, reportada en la QS.	Cuantitativa Discreta	Se expresa en U/L.
Proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8 (IGFBP 8)	Es una proteína sintetizada en hígado, relacionada a los procesos de síntesis de matriz extracelular.	Cuantitativa Continua	Se expresa en pg/ml.
Kpa	Se define como la presión que ejerce una fuerza de 1 newton sobre una superficie de 1 metro cuadrado normal a la misma.	Cuanitativa Continua	Kpa.
Grado de fibrosis por fibroscan	Es la acumulación de tejido cicatrizal, resultado de la inflamación del hígado y muerte de células hepáticas	Cualitativa ordinal	Kpa

8.0 Análisis estadístico.

Se usó estadística descriptiva, analítica, medias, medianas, desviación estándar, rangos intercuartílicos y correlación de Pearson para la presentación y análisis de las variables.

9.0 Aspectos éticos y de bioseguridad

Los aspectos científicos, éticos, administrativos, jurídicos y financieros del presente proyecto de investigación se encuentran apegados a las leyes, reglamentos y las normas vigentes del Hospital General de México, así como a los Principios de la Declaración de Helsinki y con La ley General de Salud, Título Segundo. De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos. Capítulo I. Disposiciones Comunes. Artículo 13 y 14.

Esta investigación se consideró como riesgo mínimo de acuerdo al artículo 17 y en cumplimiento con los aspectos mencionados con el Artículo 21 de la Ley General de Salud.

Se brindó información clara y precisa de lo que implica la participación del paciente en este protocolo, de manera verbal y escrita a través de una hoja con información detallada (riesgos, complicaciones, beneficios del estudio), así como el consentimiento informado con el nombre del investigador principal y del presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución.

La participación en el estudio fue voluntaria aportando una muestra de sangre que fue utilizada para realizar medición de IGF1P 8.

La información provista en el curso de esta investigación será estrictamente confidencial y no será utilizada para ningún otro propósito fuera de los de este estudio.

Tratamiento para desecho de la sangre. La sangre fue desechada en recipientes herméticos color rojo disponibles en el Laboratorio HIPAM, en ellos se almacenó temporalmente hasta su recolección y transporte externo, tratamiento y disposición final por personal especializado de nuestra Institución, según la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Toma y recolección de muestras. La toma de muestra se hizo en la clínica de hígado del servicio de gastroenterología, se contó con adecuada iluminación y posición cómoda del paciente. Previo calce de guantes estériles, se localizó una vena adecuada en la cara anterior del codo y se colocó el torniquete en la parte media del brazo. Se desinfectó el área con un algodón humedecido con alcohol al

70% y posteriormente se introdujo la aguja con el bisel hacia arriba de una jeringa estéril de 10 mL. Al empezar a fluir la sangre se retiró el torniquete y una vez que se obtuvo la cantidad de sangre requerida (10 mL), se retiró la aguja y se colocó una torunda con alcohol sobre el sitio de punción ejerciendo presión para detener la hemorragia, posteriormente se colocó un parche adhesivo. Al retirar la aguja, se vertió la sangre en 3 tubos estériles, dejándola resbalar lentamente por la pared para evitar hemólisis. Se tapó el tubo cuidadosamente. Se rotularon cada uno de los tubos con tinta permanente, indicando el nombre completo, edad y número de expediente del paciente. Se colocaron en una bolsa con cierre hermético (contenedor secundario), y se transportaron en frío al Laboratorio HIPAM para su procesamiento.

Los guantes estériles, torundas, jeringas y material punzocartante empleado durante la toma de la muestra se desechados en los contenedores destinados para ello en nuestro centro hospitalario según lo rige la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Procesamiento y conservación de muestras.

Riesgos de la venopunción. Los riesgos y complicaciones de la extracción sanguínea se explicaron al paciente y a su responsable, previo al procedimiento durante la firma del consentimiento informado. Entre los riesgos y complicaciones, así como las medidas para su prevención, se describen a continuación:

- Formación de hematoma. Es la complicación más común de la venopunción. El hematoma se origina por el desbordamiento de la sangre en el tejido, durante o después de la punción, siendo visualizado en forma de protuberancia. El dolor es el síntoma de mayor incomodidad para el paciente, y eventualmente, puede tener lugar la compresión de algún nervio. Si la formación del hematoma se identifica durante la punción, se debe retirar inmediatamente el torniquete y la aguja, y después, realizar una

compresión local durante al menos dos minutos. El uso de compresas frías puede ayudar a atenuar el dolor local.

- Punción accidental de una arteria. La probabilidad de punzar accidentalmente una arteria es relativamente rara. Siempre que tenga lugar está asociado al intento de una punción venosa profunda. Se produce con más frecuencia, cuando se intenta punzar la vena basílica, que se encuentra muy próxima a la arteria braquial. La punción accidental de una arteria se puede identificar por el “rojo vivo” de la sangre y por el drenaje de la sangre a chorro, o por el rimo pulsátil de la sangre. Si tiene lugar una punción inadvertida de una arteria, es importante realizar una presión local, durante, al menos, 5 minutos, además de una oclusión más eficaz de la zona de la punción.
- Infección. La posibilidad de desarrollar un proceso infeccioso en la zona de la venopunción, aunque rara, no se debe descartar. La antisepsia del punto de punción debe ser bien ejecutada y la zona preparada para la punción no se debe tocar después de este proceso. Entre las medidas recomendadas para evitar infección en el sitio de punción se encuentran: el uso de algodón hidrófilo mojado en alcohol etílico comercial, alcohol yodado o antisépticos basados en yodo, disponibles comercialmente. El intervalo entre la retirada del protector de la aguja y la venopunción debe ser el mínimo posible.
- Lesión nerviosa. Para prevenir la lesión de algún nervio, se recomienda evitar la inserción muy rápida o profunda de la aguja. No se debe realizar la punción de una vena por medio de múltiples intentos de redireccionamiento de la aguja insertada de forma aleatoria. Si no se tiene éxito en el primer intento de punción, se retirará la aguja y se realizará una segunda punción, preferiblemente en otra zona. Se debe indicar al paciente que no realice movimientos bruscos durante la extracción.

- Dolor. El dolor después de la punción es de baja intensidad y soportable, aunque tranquilizar al paciente antes de la extracción ayuda sobremanera en su relajación, haciendo el procedimiento menos doloroso. La zona de punción debe estar seca, si se ha utilizado alcohol para la antisepsia, lo que disminuye la sensación dolorosa. El dolor intenso, parestesias, irradiación del dolor por el brazo, presentadas durante o después de la venopunción, indican que se ha visto afectado un nervio y requieren de medidas específicas ya mencionadas.

Recomendaciones de la Sociedad Brasileña de Medicina Laboratorial para la Extracción de Sangre Venosa. Segunda Edición. 2009. Recuperado de: <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320100928153008.pdf>

10.0 RESULTADOS

Descripción de la muestra

Se incluyeron en el estudio 30 pacientes de los cuales 29 corresponden al sexo femenino, con una edad media de 55.5 años, IMC con una media de 25.4 Kg/m², ninguno tenía alguna otra comorbilidad crónica asociada, con concentraciones séricas de IGFBP 8 media de 895 pg/ml, fosfatasa alcalina media de 239 UI/L, GGT media de 108 UI/L y plaquetas 157,000 DE?; en relación al grado de fibrosis medido en Kpa se encontró una mediana de 25.25.

Tabla No 1. Características clínicas y parámetros de laboratorio de los pacientes en estudio.

Características clínicas	Total (n=30)
Sexo M:H	29:1
Edad años. Media ± DE	55.5 ± 12.8
Peso Kg. Media ± DE	59.6 ± 10.5
Talla Metros. Media ± DE	1.52 ± 0.09
IMC Kg/m ² . Media ± DE	25.4 ± 10.1
Albúmina Sérica gr/dl. Media ± DE	3.39 ± 0.69
Proteínas Totales Sérica gr/dl. Mediana (RIC)	7.3 (8.4 - 5.9)
AST Sérica UI/L. Mediana (RIC)	47 (479 - 27)
ALT Sérica UI/L. Mediana (RIC)	40 (333 - 13)
Relación AST/ALT Media ± DE	1.48 ± 0.58
GGT Sérica UI/L. Mediana (RIC)	108 (1062 - 13)
FA Sérica UI/L. Mediana (RIC)	239 (684 - 82)
BI Sérica mg/dl. Mediana (RIC)	0.78 (3.31 - 0.20)
BD Sérica mg/dl. Mediana (RIC)	0.79 (4.20 - 0.10)
BT Sérica mg/dl. Mediana (RIC)	1.25 (7.51 - 0.50)
Glucemia mg/dl. Mediana (RIC)	93 (213 - 60)
Conteo de plaquetas x 10 ³ . Media ± DE	157 ± 87
IGFBP 8 Sérico pg/ml. Mediana (RIC)	895 (2417 - 354)
Cuantificación de fibrosis Kpa. Mediana (RIC)	25.25 (78.3 - 4.6)

DE Desviación estándar, RIC Rango Interuartil, Kg Kilogramos, IMC Índice de masa corporal, AST Aspartato Transaminasa, ALT Alanina Transaminasa, GGT Gamma glutamil transpeptidasa, FA Fosfatasa Alcalina, BI Bilirrubina Indirecta, BD Bilirrubina Directa, BT Bilirrubina Total, IGFBP 8 Proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8.

De los 30 sujetos en estudio, 28 tuvieron elevación tanto de fosfatasa alcalina y de gamma glutamil transferasa, así como sobre expresión del IGFBP 8

Tabla No 2. Comportamiento bioquímico de FA, GGT e IGFBP 8

	Si (n)	No (n)
Elevación de FA	28	2
Elevación de GGT	28	2
Sobre expresión de IGFBP 8	28	2

FA: Fosfatasa alcalina, GGT: Gamma glutamil transferasa, IGFBP 8: Proteína de unión al factor de crecimiento insulinoide 8.

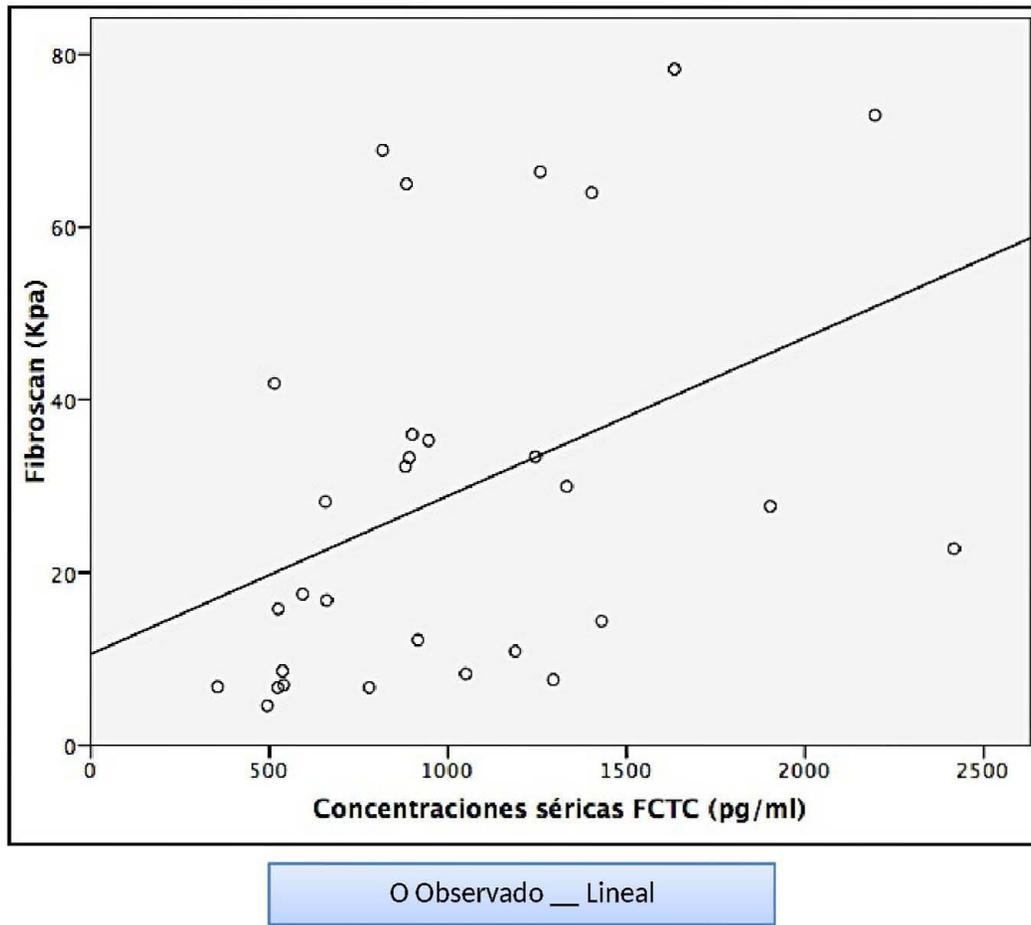
Al evaluar el grado de fibrosis medido por fibroscan, se encontró 4 sujetos con F0, 7 con F2 Y 19 con F4, no hubo sujetos con F1 o F3.

Tabla No 5. Grado de fibrosis evaluado por Fibroscan

	F0 (n)	F1 (n)	F2 (n)	F3 (n)	F4 (n)
Grado de fibrosis	4	0	7	0	19

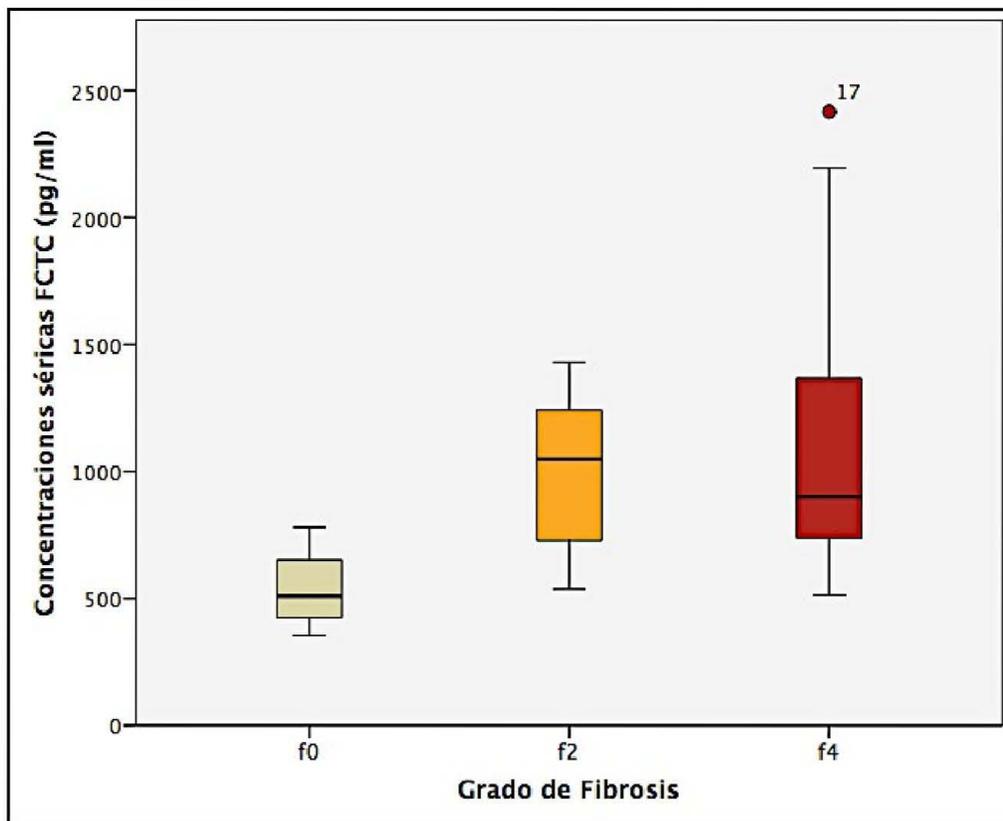
Se estableció correlación positiva entre el grado de fibrosis por fibroscan medido en Kpa y las concentraciones séricas del IGFBP 8 con significancia estadística (figura 1).

Fig.1 Gráfico de correlación de Pearson de las concentraciones de F IGFBP 8 (o FCTC), con el resultado del fibroscan.



Así mismo se evidenció a través de diagrama de cajas una asociación positiva entre los distintos grados de fibrosis hepática, particularmente para los sujetos con F4 y las concentraciones séricas de IGFBP 8.

Fig. 2 Diagrama de Cajas que muestra la distribución de las concentraciones IGFBP 8 (o FCTC), con el grado de fibrosis.



11.0 Análisis y discusión de resultados.

Característicamente la CBP es una enfermedad que incluso con el tratamiento adecuado puede progresar hasta estadios avanzados de cirrosis hepática; a partir de esto ha surgido el interés en buscar nuevas estrategias que permitan identificar de manera temprana a aquellos sujetos con riesgo de progresión de fibrosis y con mal pronóstico de la enfermedad, así como formas de intervención oportuna para prevenir dicha progresión e identificación de posibles blancos terapéuticos.

Tal como lo refiere la literatura la CBP afecta predominantemente al sexo femenino y se comporta como una enfermedad colestásica con mínima alteración de enzimas de daño hepatocelular incluso en estadios avanzados (1), lo cual se corresponde con los datos encontrados en este estudio, en donde el sexo predominante fue el femenino 29:1 (96.6 %) (Tabla 1).

A pesar de que la literatura nos refiere que la CBP puede estar asociada a otras enfermedades autoinmunes, en este trabajo los sujetos en estudio no tuvieron otra comorbilidad asociada (1). Por otro lado el estado metabólico de los sujetos (glucemia e IMC), no parece intervenir de manera deletérea en la progresión de la fibrosis hepática en la CBP.

Como se mencionó anteriormente el IGFBP 8 es una proteína que se sabe participa en procesos de síntesis de matriz extracelular y por ende en progresión de fibrosis, sin embargo no se cuenta con estudios sobre la misma en cirrosis hepática y específicamente en CBP; en este estudio se mostró sobre expresión de esta proteína en 28 sujetos (93.3%), lo cual confirma su participación en proceso fibrogénico hepático en la CBP (Tabla 1).

Se estableció además asociación positiva entre los niveles de fibrosis hepática en Kpa medido por fibroscan y los niveles de IGFBP 8 con significancia estadística (Figura 1), en ese mismo enfoque al comparar los distintos grados de fibrosis hepática fue evidente que los sujetos con F4 mostraron asociación con los niveles de IGFBP 8 en comparación con los sujetos con F0.

12.0 CONCLUSIONES

La proteína de unión a factor de crecimiento insulinoide 8 o Factor de crecimiento de tejido conectivo interviene de manera activa en los procesos de fibrosis hepática y tiene una asociación positiva con el grado de fibrosis en sujetos con colangitis biliar primaria.

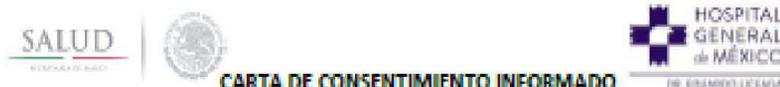
13.0 Referencias Bibliográficas

1. Hirschfield, G., Beuers, U., Corpechot, C., Invernizzi, P., Jones, D., Marziani, M. and Schramm, C. (2017). EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *Journal of Hepatology*, 67(1), pp.145-172.
2. Datta DV, Sherlock S. Cholestyramine for long term relief of the pruritus complicating intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology* 1966;50: 323–332.
3. Rojkind, M. and D. Kershenobich, *Hepatic fibrosis*. Clin Gastroenterol, 1981. **10**(3): p. 737-54.
4. Kershenobich, D. and M.C. Gutierrez-Ruiz, [*Hepatic fibrosis*]. Rev Invest Clin, 2001. **53**(4): p. 357-61.
5. Gutierrez-Reyes, G., M.C. Gutierrez-Ruiz, and D. Kershenobich, *Liver fibrosis and chronic viral hepatitis*. Arch Med Res, 2007. **38**(6): p. 644-51.
6. Poynard, T., P. Bedossa, and P. Opolon, *Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups*. Lancet, 1997. **349**(9055): p. 825-32.
7. *Diagnosis of fibrosis and cirrhosis. Liver biopsy is not always necessary*. Prescrire Int, 2010. **19**(105): p. 38-42.
8. Siddique, I., et al., *Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection*. Scand J Gastroenterol, 2003. **38**(4): p. 427-32.
9. Rousselet, M.C., et al., *Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis*. Hepatology, 2005. **41**(2): p. 257-64.
10. Becker, L., et al., *Validation of hepascore, compared with simple indices of fibrosis, in patients with chronic hepatitis C virus infection in United States*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2009. **7**(6): p. 696-701.
11. Floreani, A., et al., *Performance and utility of transient elastography and noninvasive markers of liver fibrosis in primary biliary cirrhosis*. Dig Liver Dis, 2011.
12. Malik, R., et al., *Comparison of transient elastography, serum markers and clinical signs for the diagnosis of compensated cirrhosis*. J Gastroenterol Hepatol, 2010. **25**(9): p. 1562-8.
13. Lee, M.H., et al., *Comparison of surrogate serum markers and transient elastography (Fibroscan) for assessing cirrhosis in patients with chronic viral hepatitis*. Dig Dis Sci, 2010. **55**(12): p. 3552-60.
14. Bonefeld, K. and S. Moller, *Insulin-like growth factor-I and the liver*. Liver Int, 2011. **31**(7): p. 911-9.
15. Hwa, V., Y. Oh, and R.G. Rosenfeld, *The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily*. Endocr Rev, 1999. **20**(6): p. 761-87.
16. Lee, P.D., C.A. Conover, and D.R. Powell, *Regulation and function of insulin-like growth factor-binding protein-1*. Proc Soc Exp Biol Med, 1993. **204**(1): p. 4-29.
17. Gourmelen, M., L. Perin, and Y. Le Bouc, *IGFs and their binding proteins*. Nucl Med Biol, 1994. **21**(3): p. 297-302.
18. Wu, J. and A.X. Zhu, *Targeting insulin-like growth factor axis in hepatocellular carcinoma*. J Hematol Oncol, 2011. **4**: p. 30.
19. Phillips, L.S., C.I. Pao, and B.C. Villafuerte, *Molecular regulation of insulin-like growth factor-I and its principal binding protein, IGFBP-3*. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol, 1998. **60**: p. 195-265.

20. Jogie-Brahim, S., D. Feldman, and Y. Oh, *Unraveling insulin-like growth factor binding protein-3 actions in human disease*. *Endocr Rev*, 2009. **30**(5): p. 417-37.
21. Yasuoka, H., et al., *The fibrotic phenotype induced by IGFBP-5 is regulated by MAPK activation and egr-1-dependent and -independent mechanisms*. *Am J Pathol*, 2009. **175**(2): p. 605-15.
22. Yasuoka, H., Y. Yamaguchi, and C.A. Feghali-Bostwick, *The pro-fibrotic factor IGFBP-5 induces lung fibroblast and mononuclear cell migration*. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009. **41**(2): p. 179-88.
23. Sureshbabu, A., et al., *IGFBP-5 induces epithelial and fibroblast responses consistent with the fibrotic response*. *Biochem Soc Trans*, 2009. **37**(Pt 4): p. 882-5.
24. Yasuoka, H., et al., *Human skin culture as an ex vivo model for assessing the fibrotic effects of insulin-like growth factor binding proteins*. *Open Rheumatol J*, 2008. **2**: p. 17-22.
25. Yasuoka, H., et al., *Insulin-like growth factor binding protein 5 induces skin fibrosis: A novel murine model for dermal fibrosis*. *Arthritis Rheum*, 2006. **54**(9): p. 3001-10.
26. Wathes, D.C., et al., *Influence of energy balance on the somatotrophic axis and matrix metalloproteinase expression in the endometrium of the postpartum dairy cow*. *Reproduction*, 2011. **141**(2): p. 269-81.
27. Olesen, J.L., et al., *Expression of insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, and collagen mRNA in mechanically loaded plantaris tendon*. *J Appl Physiol*, 2006. **101**(1): p. 183-8.
28. Guzman, C., et al., *Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 1 Levels in Chronic Hepatitis C Patients*. *Hepatology*, 2010. **52**(4): p. 1232a-1232a.
29. Boers, W., et al., *Transcriptional profiling reveals novel markers of liver fibrogenesis: gremlin and insulin-like growth factor-binding proteins*. *J Biol Chem*, 2006. **281**(24): p. 16289-95.
30. Lee, P.D., et al., *Insulin-like growth factor binding protein-1: recent findings and new directions*. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1997. **216**(3): p. 319-57.
31. Leu, J.I. and D.L. George, *Hepatic IGFBP1 is a prosurvival factor that binds to BAK, protects the liver from apoptosis, and antagonizes the proapoptotic actions of p53 at mitochondria*. *Genes Dev*, 2007. **21**(23): p. 3095-109.
32. Sabin, M.A., et al., *IGFBP-2 at the interface of growth and metabolism--implications for childhood obesity*. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2011. **8**(4): p. 382-93.
33. Li, Z. and F. Picard, *Modulation of IGFBP2 mRNA expression in white adipose tissue upon aging and obesity*. *Horm Metab Res*, 2010. **42**(11): p. 787-91.
34. Colak, Y., et al., *Serum concentrations of human insulin-like growth factor-1 and levels of insulin-like growth factor-binding protein-5 in patients with nonalcoholic fatty liver disease: association with liver histology*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2011.
35. Chen, D., et al., *Insulin-like growth factor-binding protein-7 functions as a potential tumor suppressor in hepatocellular carcinoma*. *Clin Cancer Res*, 2011. **17**(21): p. 6693-701.

14.0 Anexos

1. Carta de consentimiento informado.



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

RELACIÓN ENTRE LA PROGRESIÓN DEL PROCESO FIBROGÉNICO HEPÁTICO Y LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LAS PROTEÍNAS DE UNIÓN AL FACTOR DE CRECIMIENTO INSULINOIDE

Se le está invitando a participar en este estudio que tiene como finalidad medir algunas proteínas en la sangre con el fin de mejorar el diagnóstico de la fibrosis hepática. La fibrosis hepática es una cicatriz que se produce en el hígado debido a algunas enfermedades y que en su etapa más avanzada se conoce como cirrosis y ocasiona que el hígado deje de funcionar correctamente en las personas que la padecen. Las principales causas de fibrosis hepática son la infección con el virus de Hepatitis C, el alcoholismo y la obesidad. Las enfermedades que ocasionan fibrosis hepática son de tipo crónico, es decir duran muchos años. Durante este tiempo tan largo, los pacientes requieren realizarse exámenes muchas veces para saber cómo progresa su enfermedad o si su tratamiento está siendo efectivo. La fibrosis hepática puede ser controlada e incluso revertida si se diagnostica y se trata en sus etapas tempranas. Hasta ahora, la mejor forma de realizar el diagnóstico del avance de la fibrosis es mediante la toma de un pequeño fragmento del hígado (biopsia), sin embargo este procedimiento es altamente riesgoso como para realizarse en ocasiones repetidas. Existen otros métodos para el diagnóstico de la fibrosis hepática (Fibrotest, Hepascore, Fibroscan), pero son muy caros y no están disponibles en todo nuestro país. Por esta razón nuestro grupo de investigación se ha propuesto investigar la relación que existe entre el avance de la fibrosis hepática y un grupo de proteínas, las IGFBP (proteínas de unión al factor de crecimiento insulinoide) que normalmente están presentes en la sangre y que recientemente se han asociado al progreso de la fibrosis en órganos como el pulmón y la piel. Las alteraciones en estas proteínas podrían ser indicadoras de cómo avanza la fibrosis en el hígado. Este tipo de estudio es muy relevante pues en un futuro nos podría brindar información respecto al avance de la fibrosis en el hígado mediante un estudio económico y fácil de realizar.

Si usted acepta participar en este estudio se le pedirá una pequeña muestra de su sangre, aproximadamente 15 ml (1-2 cucharadas), la cual será obtenida mediante punción de su vena. Normalmente, la toma de esta muestra no causa ninguna molestia, sin embargo usted podría presentar sangrado, formación de un moretón en el área de punción o en casos raros infección o desmayo. En caso de ocurrir cualquiera de estos eventos se le brindará el tratamiento adecuado sin que esto represente un gasto extra para usted. Adicionalmente se le solicitará conteste



RELACIÓN ENTRE LA PROGRESIÓN DEL PROCESO FIBROGÉNICO
HEPÁTICO Y LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LAS PROTEÍNAS DE
UNIÓN AL FACTOR DE CRECIMIENTO INSULINOIDE

Yo, (NOMBRE COMPLETO) he leído, o me han leído y explicado ampliamente la presente Carta de Consentimiento Informado y he decidido libremente participar en el estudio.

Nombre y Firma del paciente Dirección Fecha y Hora

Nombre y Firma del Testigo 1 Dirección Fecha y Hora

Parentesco con el participante

Nombre y Firma del Testigo 2 Dirección Fecha y Hora

Parentesco con el participante

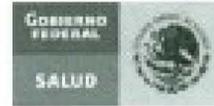
2. Hoja de recolección de datos

Hoja de recolección de datos			CTGF-CBP	
Datos Generales				
ID. Paciente (Nombre):			No. expediente:	
Sexo: M / H		Edad:	Peso:	Talla:
Dx:				
Consumo de medicamentos o suplementos alimenticios:				
Ayuno (horas):				
Elastografía (con fecha)	kPa	F	CAP	Otro método de medición de fibrosis:
Datos bioquímicos (con fecha)				
	Albúmina	Proteína total		
	AST	Fosfatasa alcalina		
	ALT	Bilirrubina directa		
	GGT	Bilirrubina indirecta		
	Glucosa	Bilirrubina total		
	Triglicéridos	HDL		
	Colesterol	LDL		
	Plaquetas	Insulina		
		HOMA		

3. Carta de autorización comité de ética Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"



HOSPITAL
GENERAL
de MÉXICO



DI/03/012/0007

México, D. F., a 17 de abril de 2012

DR.A CAROLINA GUZMANARRIGA
Unidad de Medicina Experimental
Presente.

Por este conducto hago de su conocimiento que la última versión del protocolo titulado "RELACION ENTRE LA PROGRESION DEL PROCESO FIBROGÉNICO HEPÁTICO Y LAS CONCENTRACIONES SERICAS DE LAS PROTEÍNAS DE UNIÓN AL FACTOR DE CRECIMIENTO INSULINOIDE", con clave de registro DI/12/UME/05/021, fue presentado a las Comisiones de Ética e Investigación quienes dictaminaron su **A P R O B A C I O N**. Por lo tanto, puede dar inicio a su investigación

"A la Vanguardia en el Cuidado de la Vida"

Atentamente
Director de Investigación


DR. JUAN CARLOS LOPEZ ALVARENGA

Nota: Este proyecto será apoyado por el CONACyT.

c.c.p.- Unidad Contable de Proyectos.

JCLA/YRT/evc*

**DIRECCIÓN DE
INVESTIGACIÓN**
www.igea.salud.gob.mx

Dr. Balmis 148
Colonia Doctores
Delegación Cuauhtémoc
México, DF 06726

T +52 (55) 5004 3842
Cex +52 (55) 2789 2000
Ea T64



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.