



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FUNDACIÓN HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE LA LUZ, I.A.P.

DEPARTAMENTO DE ENFERMEDADES INFLAMATORIAS OCULARES

“EFECTO DE LA DOXICICLINA AL 2% EN EL PROTEOMA APOPTÓTICO DEL  
PTERIGIÓN PRIMARIO”

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE CIRUJANO OFTALMÓLOGO

PRESENTA

DRA. MARILÚ ARREDONDO FLORES

ASESOR: DRA. TERESA VALDEZ GONZÁLEZ

TUTOR: DR. VICTOR BAUTISTA DE LUCIO



MÉXICO D.F.

AGOSTO 2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Este trabajo se realizó en el departamento de enfermedades inflamatorias oculares del Hospital Oftalmológico “Nuestra Señora de la Luz” junto con el Departamento de Microbiología y Proteómica de la Unidad de Investigación del Instituto Oftalmológico “Fundación Hospital Conde de Valenciana”. Apoyado por los proyectos CONACYT-126779.

A mis padres , Maria Luisa y Humberto

Por su amor

A mis hermanos Sandra y Christian

Por su apoyo incondicional

A David

Por enseñarme la felicidad

A todas las personas involucradas en este proyecto

## ÍNDICE

Introducción	
Pterigión.....	05
Recidiva del Pterigión y tratamiento.....	06
Tetraciclinas.....	06
Apoptosis.....	07
Pterigión y apoptosis.....	08
Tetraciclinas y apoptosis.....	09
Doxiciclina y neovascularización.....	10
Planteamiento del problema.....	11
Justificación.....	11
Hipótesis.....	11
Objetivos	
Objetivo General .....	12
Objetivos específicos.....	12
Material y métodos	
Tipo de estudio.....	13
Sujeto de estudio.....	13
Grupos.....	13
Criterios de inclusión.....	13
Criterios de exclusión.....	14
Criterios de eliminación.....	14
Variables.....	14-15
Visitas programadas.....	15
Efectos secundarios.....	15
Preparación doxiciclina al 2%.....	16
Técnica quirúrgica.....	16
Manejo de tejido.....	16
Microarreglos.....	16-17
Resultados.....	18-22
Discusión.....	24-26
Conclusiones.....	27
Bibliografía.....	28-30
Consentimiento informado.....	31

## INTRODUCCIÓN

### Pterigión

El pterigión es un desorden común conjuntival que exhibe cambios degenerativos, hiperplásicos, proliferativos así como características inflamatorias aunado a una rica vasculatura. <sup>(1)</sup> El término pterigión deriva del griego pterygion que significa “ala”. Se trata de una tumoración benigna de forma triangular que se orienta de forma horizontal, con la base periférica y el vértice central sobre la córnea. <sup>(2)</sup>

La máxima incidencia del pterigión se observa entre los 20 y 40 años de edad y su curso natural varía considerablemente. Esta tumoración se sitúa en la hendidura interpalpebral, suele ser bilateral y asimétrica y es más frecuente en el sector nasal. En el vértice se observa generalmente una zona avascular grisácea y plana. Puede apreciarse una línea de hierro, denominada línea de Stocker, por delante de la cabeza del pterigión. Los pterigiones con crecimiento activo se caracterizan por tener una rica vasculatura así como un cuerpo grueso e inyectado. <sup>(2)</sup>

Se han propuesto diferentes etiologías para explicar la del pterigión en las que se ha involucrado la remodelación de la matriz extracelular, la inflamación, los mecanismos antiapoptóticos, las citoquinas, la pérdida de la homeostasis de células conjuntivales, los factores de crecimiento y

antiangiogénicos , infecciones virales y la exposición a radiaciones ultravioleta. <sup>(3)</sup>

Hallazgos histopatológicos revelan una hiperplasia epitelial con un tejido fibrovascular exuberante en el estroma del pterigión así como degeneración elastótica del tejido conjuntival subepitelial. La extensión de la proliferación fibrovascular ha sido considerado como un marcador confiable para predecir la propensión del tejido a recidivar. <sup>(4)</sup>

#### Recidiva del pterigión y tratamiento

El tratamiento del pterigión es sintomático y quirúrgico. Es conocida su alta incidencia de recidiva por lo cual han sido probadas distintas técnicas quirúrgicas tales como escisión simple, uso de autoinjertos , uso de membrana amniótica y terapias coadyuvantes como mitomicina C, radioterapia y antiangiogénicos entre otros. Dentro de las técnicas con menor incidencia de recurrencias esta el uso de autoinjerto de conjuntiva. <sup>(5)</sup>

#### Tetraciclinas

Las tetraciclinas son una familia de antibióticos de amplio espectro , fueron por primera vez aislados del Streptomyces aureofaciens en 1947 . Actúan fundamentalmente como bacteriostáticos a las dosis habituales, aunque resultan bactericidas a altas dosis, generalmente tóxicas. Actúan por varios mecanismos <sup>(6)</sup>:

-Desacoplan la fosforilación oxidativa de las bacterias.

-Inhiben la síntesis proteica al unirse a la subunidad 30 S del ribosoma.

-Alteran la membrana citoplasmática de organismos susceptibles, permitiendo la salida de componentes intracelulares.

Las resistencias bacterianas a las tetraciclinas son de aparición lenta. Se producen por tres mecanismos; eflujo activo, protección ribosomal e inactivación enzimática. <sup>(7)</sup>

Dos de las tetraciclinas semisintéticas más usadas son la doxiciclina y la minociclina que en esencia son dos productos bien tolerados y seguros. Aparte de su uso como antibióticos se les han encontrado otras propiedades como actividad antiproteasa , antimetaloproteinasa, modificadores de la apoptosis y como inhibidores de la neovascularización. <sup>(8)</sup>

### Apoptosis

El término apoptosis como forma de muerte celular, diferente de la muerte celular secundaria a necrosis, fue por primera vez descrito por Kerr y colaboradores en 1972. En contraste con la necrosis, la cuál es un fenómeno pasivo, la apoptosis celular requiere de energía y la acción de una cascada de genes. Existen tres características de la apoptosis que incluyen disminución del volumen celular, marginación de cromatina y fragmentación del DNA el cuál forma grupos 3'-hidroxilo libres considerados como marcadores de células apoptóticas. <sup>(9)</sup>

La apoptosis ocurre de manera fisiológica durante la morfogénesis, la renovación tisular y en la regulación del sistema inmunitario. Determinados hechos celulares pueden ser explicados por trastornos en la regulación de los genes responsables de la apoptosis, como es el caso de la transformación y la progresión tumorales. <sup>(10)</sup>

Se requieren señales apropiadas para activar la apoptosis las cuales pueden ser intracelulares (vía intrínseca :daño en el ADN, ciclo celular defectuoso) o extracelulares (vía extrínseca; toxinas, factores de crecimiento, óxido nítrico , citoquinas, hormonas). <sup>(10)</sup>

Tanto la vía extrínseca como intrínseca tienen un punto final común (conversión de pro caspasa a caspasa 3 ) para formar el apoptosoma. <sup>(10)</sup>

Se sabe que existe un delicado balance entre los mecanismos promotores de la apoptosis y los mecanismos inhibidores de la apoptosis que contribuyen a mantener la homeostasis de las células, la pérdida de este balance produce alteraciones que pudieran explicar la patogenia de diversas condiciones. <sup>(10)</sup>

Dentro de los inhibidores de la apoptosis se encuentran genes como bcl-2 y bcl-xl, mientras que los promotores de la apoptosis incluyen otros genes como bax, bad, bak y bcl-xs. <sup>(10)</sup>

### Pterigión y apoptosis

En el pterigión, existe una expresión anormal de genes asociados con el control de la apoptosis como p53, bax y bcl-2. El factor de transcripción

p63, miembro de la familia del gen p53, ha demostrado ser un marcador específico para células epiteliales y corneales, mismo que se ha encontrado elevado en muestras de pterigión. <sup>(3)</sup>

Bautista de Lucio y cols. han propuesto que el pterigión es el resultado de una disrupción del proceso normal de apoptosis que sucede en la conjuntiva sana, sugieren que existe un efecto anti apoptótico en el pterigión primario que promueve su perpetuación y crecimiento. <sup>(11)</sup>

#### Tetraciclinas y apoptosis

Existe fuerte evidencia de que la familia de las tetraciclinas interfieren con la cascada de la apoptosis.

Yrjanheikki et al reportaron que la minociclina y la doxiciclina en modelos neuronales reducían la expresión de caspasa-1 y la expresión de caspasa 3. <sup>(12)</sup>

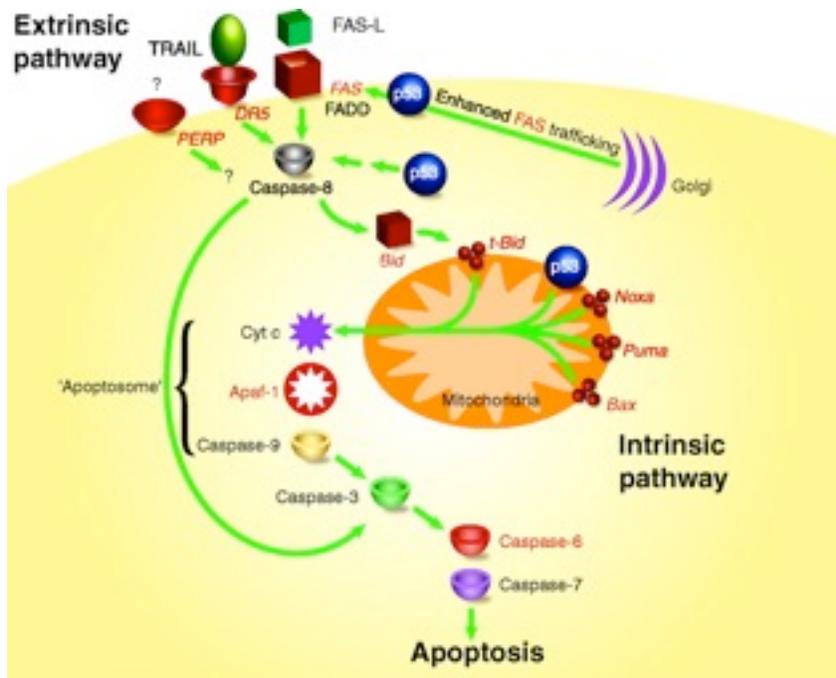
Vázquez y colaboradores demostraron que la doxiciclina en células de conjuntiva sana disminuye Bax y Bcl-x y que no produce ningún efecto en la expresión de Bcl-2. <sup>(13)</sup>

Por otro lado Zhu y colaboradores en modelos de ratón con enfermedad de Huntington demostraron que la minociclina inhibía la vía caspasa dependiente (citocromo c y Smac / DIABLO) y la vía caspasa independiente. <sup>(14)</sup>

## Doxiciclina y neovascularización

Estudios han demostrado que la administración tópica de doxiciclina al 2 % muestra efectos antiangiogénicos al reducir la neovascularización corneal por quemaduras químicas corneales producidas a ratas.<sup>(15)</sup>

Cox y cols han sugerido el posible uso de doxiciclina como terapia coadyuvante en pterigión tras demostrar la habilidad de ésta para reducir su crecimiento en un modelo en ratón de células epiteliales de pterigión. Los mismos autores proponen que la doxiciclina podría disminuir el índice de las recidivas tras cirugía dadas sus habilidades para inhibir la neovascularización y el crecimiento fibrovascular.<sup>(16)</sup>



Esquema 1. APOPTOSIS, vía extrínseca e intrínseca.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se sabe que dentro de las propiedades de la doxiciclina están el ser un regulador de mecanismos apoptóticos sin embargo no se conoce si su uso podría tener efecto sobre el proteoma apoptótico del pterigión regulándolo hacia la apoptosis.

## JUSTIFICACIÓN

El pterigión es una de las condiciones más frecuentes en la consulta oftalmológica, los resultados de su tratamiento quirúrgico frecuentemente no son muy satisfactorios , sobre todo por la alta recidiva de éste, por lo cual decidimos estudiar el efecto de la doxiciclina siendo nuestro blanco terapéutico la apoptosis cuyo desbalance ha sido propuesto como etiología del pterigión primario .

## HIPÓTESIS

Existen cambios en la cascada de la apoptosis en el pterigión tratado con doxiciclina al 2% con respecto a los no tratados .

## OBJETIVOS.

### Objetivo General.

Evaluar el efecto de la doxiciclina en el proteoma apoptótico del pterigiión primario.

### Objetivos Específicos.

1. Determinar la expresión de proteínas apoptóticas en células tratadas y no tratadas con doxiciclina 2%
2. Determinar las reacciones adversas al uso de doxiciclina al 2%
3. Comparar recidiva del pterigiión entre ambos grupos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### \*Tipo de estudio

- Ensayo clínico controlado y experimental

### \*Sujeto de estudio

- Selección de pacientes de la consulta externa del Hospital Oftalmológico Nuestra Señora de la Luz reclutados durante diez semanas con diagnóstico de pterigión primario a los que se les propuso cirugía.

### \*Grupos:

Grupo de estudio: Conformado por ocho pacientes a quienes previo consentimiento informado se les indicó administración tópica de doxiciclina al 2% cada cuatro horas, quince días previos a la cirugía de pterigión.

Grupo control: Conformado por ocho pacientes que sólo fueron tratados con cirugía

### \*Criterios inclusión.

- Cualquier sexo
- Mayores de 40 años
- Pterigión primario

\*Criterios exclusión.

- Aquellos con signos de inflamación o infección ocular activa .
- Comorbilidad ocular

\*Criterios de eliminación

- Desapego al tratamiento
- No regresó a consultas subsecuentes

\*Variables.

Tipos de variable

-Demográficas

Edad : en número.

Sexo: Masculino / Femenino.

-Oftalmológicas

Pterigión. Tamaño medido en mm con ayuda de programa de computadora (Adobe Photoshop CS5.5)

-Efectos secundarios:

Signos:

Queratopatía punteada superficial,

Hiperemia conjuntival,

Otros

Síntomas

Prurito

Sensación de cuerpo extraño

Otros

\*Visitas programadas (Pacientes tratados o no tratados):

Día 0: Firma de consentimiento informado, revisión en lámpara de hendidura, se tomaron fotografías e inicia aplicación tópica de doxiciclina al 2% el grupo de estudio.

Día 15: Previo a escisión de pterigión, toma de fotografías en ambos grupos.

Día 16 : Primer día post quirúrgico, revisión en lámpara de hendidura y toma de fotografías en ambos grupos.

Días 90, 180: revisión en lámpara de hendidura y toma de fotografías, se valoró la incidencia de recidiva, su tamaño y su vascularización, tanto en grupo tratado como en grupo control.

\*Efectos secundarios

En las visitas se valoró que no existieran efectos secundarios atribuibles al medicamento.

Se consideraron como efectos secundarios aquellos que pudieran tener una relación directa con la aplicación del medicamento tanto signos como síntomas tales como queratopatía punteada superficial, hiperemia conjuntival, prurito y escozor.

#### \*Preparación doxiciclina al 2%

Se pesan 2.4 gramos de doxiciclina con báscula digital los cuales se diluyen en 120 mililitros de solución salina al 0.9%, en campana de flujo laminar se esteriliza por filtración y se colocan 5 ml en goteros estériles. Se mantiene en congelación. Se siguen los lineamientos dictados por la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos para la elaboración de gotas oftálmicas.

#### \*Técnica quirúrgica

- Autoinjerto de conjuntiva

#### \*Manejo de tejido

Posterior a la resección de pterigión éste fue preservado en solución salina y transportado en medio frío al departamento de microbiología y Proteómica, de la Unidad de Investigación del Instituto Oftalmológico “Fundación Hospital Conde de Valenciana” donde fueron congelados a -80°C.

#### \*Microarreglos:

Las 16 muestras , 8 tratados y 8 controles, se homogenizaron en un buffer de lisis (1% NP-40, 20mM Tris-HCl pH 8, 137 mM NaCl, 10% glicerol, 2mM ácido etilendiaminotetracético, 1 mM ortovanadato, 10 µ g/mL aprotinina, 10 µ g leupeptina) en agua por 3 horas , en movimiento a 2°C .

Tras mezclar las muestras, se separaron los sobrenadantes por centrifugación (14000 rpm) 30 minutos a 4 °C, posteriormente se almacenaron a -80°C y se cuantificaron las proteínas por el método de Bradford modificado siguiendo las instrucciones del kit para determinación de proteínas del proveedor (Bio-Rad).

Se utilizó el Kit de arreglo de perfil proteico para Apoptosis Humana (R&D systems), el cual contiene 4 membranas de metilcelulosa cada una con 35 anticuerpos por duplicado. Se realizó un “pool” de las muestras de cada grupo y se colocaron 200µg sobre cada membrana se siguieron los pasos descritos en el inserto del producto. Se reveló por quimioluminiscencia (GE Healthcare UK), siendo los patrones capturados por medio del fotodocumentador (Diversity system) y analizados con el software Gene tools (Syngene UK) . La densimetria del patrón fue normalizada con respecto al control interno.

Se normalizaron los datos y se midió cada proteína por cambio de expresión, así los resultados debajo de uno representaron expresión disminuida, mayor a uno sobreexpresión e igual a uno sin cambios. Consideramos como biológicamente significativos a la sobreexpresión  $>2$ , y la infraexpresión  $< 1$ .

## RESULTADOS

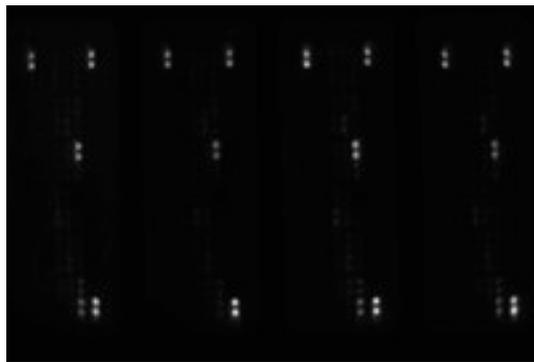
En total se incluyeron 16 pacientes 8 tratados y 8 controles, con edades que oscilaban entre 52 a 78 años con un promedio de 64 años.

10 pacientes pertenecieron al sexo femenino y 6 al masculino.

Las medidas del pterigión en la visita del día cero oscilaron entre 5.05 mm a 8.61 mm (medido cabeza y cuerpo) con un promedio de 6.79 mm, no se obtuvieron cambios en las mediciones en ninguno de los dos grupos en la visita del día 15.

Dentro de los efectos adversos asociados posiblemente al uso de doxicilina al 2% sólo se reportó en 2 pacientes prurito y en uno sensación de cuerpo extraño.

Se analizó la expresión de 35 proteínas apoptóticas ( se usaron 2 membranas para control y 2 para tratados)



Fotografía.- Microarreglos, primeras 2 membranas pterigión grupo control, la 2 últimas pterigión tratado con doxiciclina 2%.

Se normalizaron los datos y se midió la expresión de cada proteína por fold change, así los resultados debajo de uno representaron expresión disminuida, mayor a uno sobreexpresión e igual a uno sin cambios en el pterigión tratado con doxiciclina al 2% respecto a los controles.

Se obtuvieron así 9 Proteínas sobreexpresadas: (SAMC/Diablo, HTRA2 / Omi, HSP 70, HSP 60, HO-2/HMOX2, Fas/TNFSF-6, Citocromo c, Catalasa, Caspasa 3), 2 proteínas con expresión sin cambios: (XIAP, Pro caspasa 3) y 24 proteínas con expresión disminuida: (TNFR1, survivina, Phospho rad 17, Phospho p53 S392, Phospho p53 S46, Phospho p53 S15, p 27 Kip 1, p21/CIP1/CDNK 1A, PON2 , Livin, HSP27, HO-1/HMOX1/HSP32, HIF-1a, FADD, Trail R2 DR5, Trail R1 DR4, clusterina, claspina, cIAP-1, cIAP-2, bcl x, bcl-2, bax, bad). (Tabla 1)

En total 3 pterigiones recidivaron 2 del grupo control y uno del grupo tratado, sin diferencia estadísticamente significativa ( $X^2$  corrección Yates: 1.64). En la visita del día 90 los 2 pacientes del grupo control que presentaron recidiva esta ya se encontraba. La recidiva en el grupo tratado se presentó hasta la visita del día 180. Las medidas de las recidivas de pterigión variaron, la recidiva No. 1 del grupo control 5,45 mm, la recidiva No. 2 del grupo control 7.25 mm, la recidiva del grupo tratado 4.75 mm. También se tomaron las medidas de la extensión de la vascularización del pterigión desde el limbo hacia la cornea en la recidiva 1 del grupo control

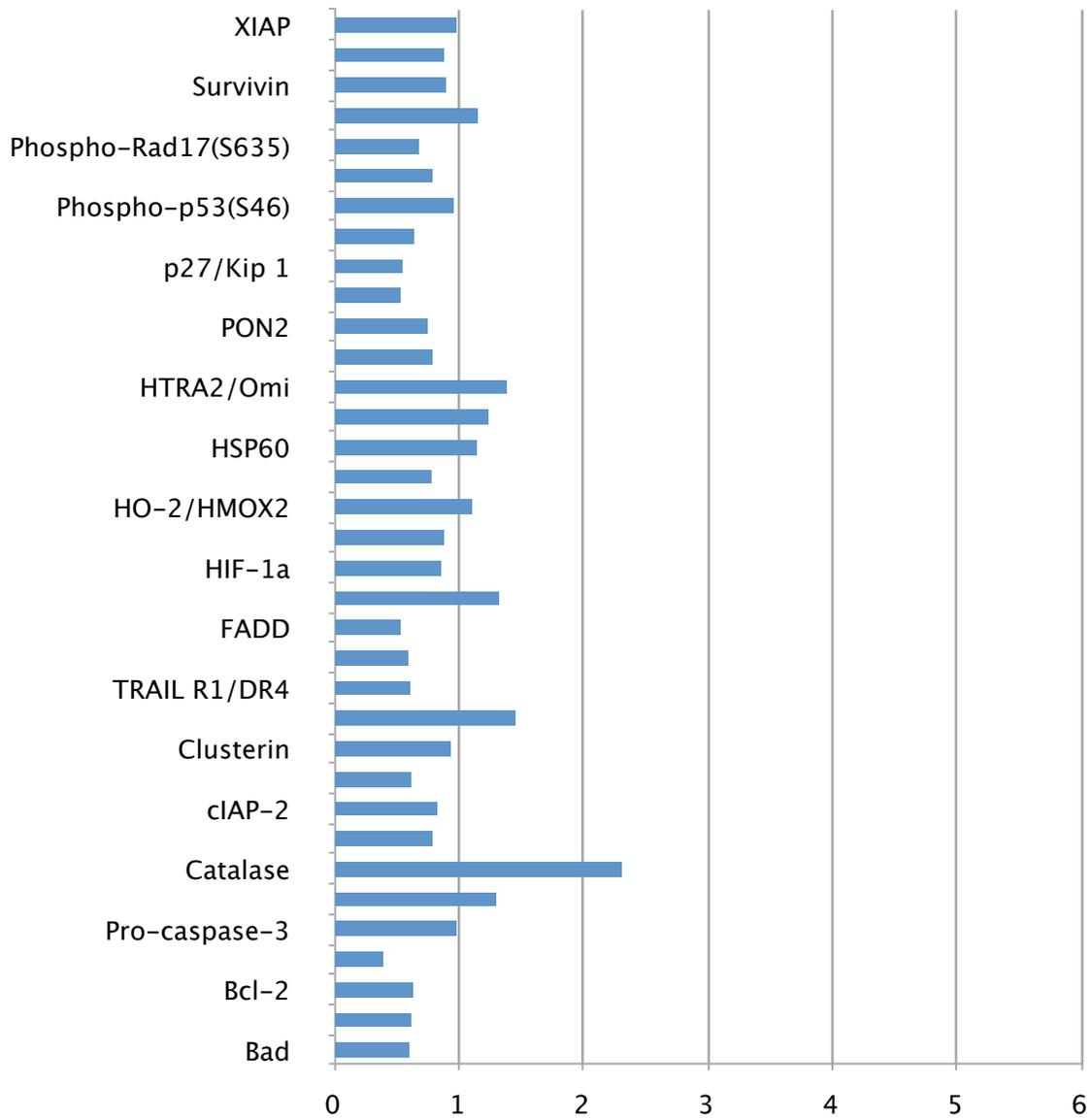
fué de 2.45 mm, en la recidiva 2 del grupo control 5.25 mm y en la recidiva del grupo tratado con doxiciclina de 1.75 mm. (Tabla 2)

9 Proteínas sobreexpresadas	SAMC/Diablo, HTRA2 / Omi, HSP 70, HSP 60, HO-2/HMOX2, Fas/TNFSF-6, Citocromo c, Catalasa*, Caspasa 3
2 proteínas con expresión sin cambios	XIAP*, Pro caspasa 3*
24 proteínas con expresión disminuida	TNFR1*, survivina*, Phospho rad 17*, Phospho p53 S392*, Phospho p53 S46*, Phospho p53 S15*, p 27 Kip 1*, p21/CIP1/CDNK 1A*, PON2* , Livin*, HSP27*, HO-1/HMOX1/HSP32*, HIF-1a*, FADD*, Trail R2 DR5*, Trail R1 DR4*, clusterina*, claspina*, cIAP-1*, cIAP-2*, bcl x*, bcl-2*, bax*, bad*

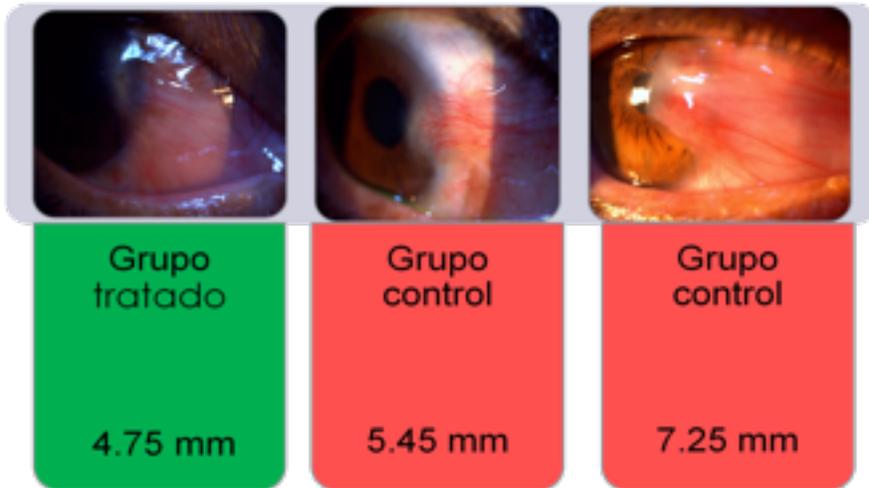
Tabla 1. Relación de proteínas sobreexpresadas, con expresión sin cambios y con expresión disminuida en el pterigión tratado con doxiciclina al 2% , comparada con el pterigión sin tratamiento.\* Con valores biológicamente significativos

	<b>Medida</b>	<b>Extensión de la vascularización desde el limbo hacia la córnea.</b>
Recidiva 1 grupo control	5.45 mm	2.45 mm
Recidiva 2 grupo control	7.25 mm	5.25 mm
Recidiva grupo tratado con doxiciclina al 2%	4.75 mm	1.75 mm

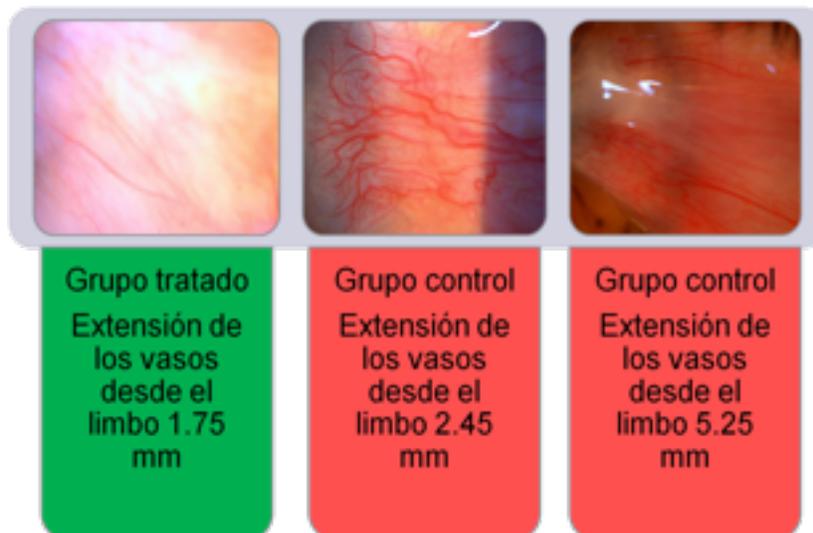
Tabla 2. Muestra el tamaño de las recidivas de pterigi3n en los dos grupos y la extensi3n de los vasos desde el limbo hacia la c3rnea en estas.



Gráfica 1. Expresión de 35 proteínas apoptóticas en pterigión tratado con doxiciclina al 2%. 9 proteínas se encontraron sobreexpresadas, 24 con expresión baja y 2 sin modificaciones en el pterigión tratado con doxiciclina 2% en comparación con el no tratado.



Fotografía 1. Medidas de las recidivas de pterigión.



Fotografía 2. Extensión de los vasos desde el limbo en las recidivas.

## DISCUSIÓN

En el pterigión se ha encontrado que existe la pérdida de una apropiada apoptosis como ocurre con algunos crecimientos neoplásicos <sup>(18)</sup> .

Se sabe que el inhibidor de apoptosis bcl-2 forma heterodimeros con genes promotores de la apoptosis y en particular se cree que la proporción bcl-2 / bax determina el destino de la célula. La generación ó la inhibición de la apoptosis dependerá del predominio de proteínas de la familia Bcl-2 pro-apoptóticas (Bad, Bax) versus anti-apoptóticas (Bcl-2, Bcl-XL). Cuando las proteínas anti apoptóticas Bcl-2 y Bcl-XL se encuentran en concentración suficiente en la superficie membranosa, heterodimerizan con Bad y Bax impidiendo su acción manteniendo la integridad de las membranas evitando la apoptosis <sup>(19,20)</sup>.

Tanto bax como bcl-2 son dos genes controlados por el gen de supresión tumoral p 53, el cual inhibe la expresión de bcl-2 y promueve la expresión de bax. <sup>(21,22)</sup>

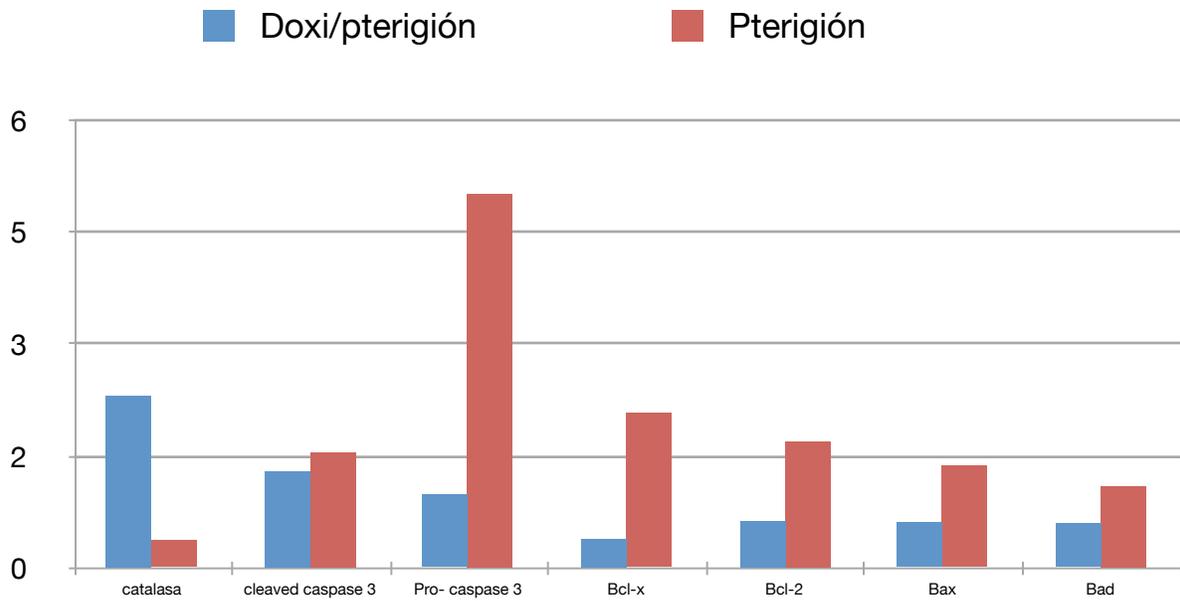
En nuestro trabajo encontramos que en el pterigión tratado con doxiciclina al 2 % tanto bad y bax (pro apoptosis) como bcl2 y bcl-x (anti apoptosis) estaban infraexpresadas pero bcl-x de forma más notable sugiriendo así que la doxiciclina regula a las células del pterigión hacia la apoptosis.

Bautista de Lucio y colaboradores han demostrado una sobreexpresión de más del doble en pterigión comparado con conjuntiva sana de Fas/TNFRSF6, Bcl-x, clusterina, pro caspasa 3, citocromo c, SMAC/Diablo, HIF-1 y la

expresión disminuida de catalasa. <sup>(11)</sup> En los pterigiones tratados con doxiciclina al 2% encontramos lo contrario una infraexpresión de Bcl -x , clusterina , procaspasa y HIF-1, en cambio sobreexpresión de catalasa en comparación con pterigion primario.

Es conocido que si no es posible la reparación celular, p53 induce apoptosis mediante dos mecanismos el primero a través de la activación de la caspasa 8 y el segundo mediante el aumento transitorio del número de receptores Fas en la superficie celular. Bautista de Lucio y colaboradores reportaron sobreexpresión de Hsp-70 proteína antiapoptosis en el pterigión primario en comparación con conjuntiva sana, esta proteína inhibe la vía de la apoptosis entre la liberación de citocromo y la activación de la caspasa, en este mismo estudio reportaron mayor sobreexpresión de procaspasa e infraexpresión de caspasa 3 en el pterigión primario en comparación con la conjuntiva sana, suponiendo un bloqueo en la cadena de apoptosis en la conversión de procaspasa a caspasa 3 paso esencial para que esta se lleve a cabo <sup>(11)</sup> . Encontramos que en las células de pterigión tratadas con doxiciclina al 2% hay un desbloqueo en este paso de la apoptosis , pudiendo ésta llevarse a cabo.

También observamos que la recidiva en el grupo tratado se presentó de forma más tardía y con menor vascularización.



Gráfica 2. Comparación entre análisis proteoma apoptótico pterigión tratado con doxiciclina y pterigión primario sin tratamiento. En proteoma apoptótico del pterigión primario hay sobreexpresión de procaspasa 3, bcl-x y bcl-2 e infraexpresión de catalasa, bad y bax . En el pterigión primario tratado con doxiciclina se observa una sobreexpresión de catalasa y la infraexpresión de caspasa, procaspasa 3 , bcl-x, bcl-2 bax y bad. En el pterigión primario hay un bloqueo de la conversión de pro caspasa 3 a caspasa 3 el cual no se encuentra en el pterigión tratado con doxiciclina al 2%.

## CONCLUSIONES

La apoptosis es un proceso vital para mantener la homeostasis en los tejidos. Se ha propuesto dentro de la etiología del pterigión un bloqueo en la conversión de pro caspasa a caspasa 3, punto clave para que la apoptosis pueda llevarse a cabo, se sabe así que el pterigión es el resultado de una disrupción del proceso normal de apoptosis que ocurre en la conjuntiva sana. En nuestro trabajo encontramos que el uso de doxiciclina al 2% en el pterigión primario tiene como blanco terapéutico la apoptosis, promoviéndola al permitir la conversión de pro caspasa a caspasa 3.

A pesar de haber tenido cambios con significancia biológica en el proteoma apoptótico del pterigión tratado con doxiciclina al 2% , no se obtuvieron cambios macroscópicos a los 15 días de tratamiento de esta manera creemos que nuestro trabajo abre las puertas para investigar su uso a distintas concentraciones con diversas formas de administración , diferentes tiempos de uso, así como probar su utilidad en pterigiones recidivantes ya que pudimos observar menor vascularización y una aparición más tardía en la recidiva de pterigión del grupo tratado con doxiciclina al 2%.

## BIBLIOGRAFÍA.

1.Cristina Maxia, Maria Teresa Parra, Paolo Demurtas, Daniela Murtas, Franca Piras. Relationship between the expression of cyclooxygenase-2 and survivin in primary pterygium. *Molecular Vision* 2009;15:458-463.

2.Arffa Robert C.M.D. Grayson, *Enfermedades de la córnea*. Harcourt Brace, cuarta edición , 1999.

3.Sakoonwatanyoo P, Tan D , Smith DR. Expression of p63 in pterygium and normal conjunctiva. *Cornea* 2004;23:1.

4.Touhami A, Di Pascuale MA, Kawatika T, Del Valle M, Characterisation of myofibroblasts in fibrovascular tissues of primary and recurrent pterygia. *Br J Ophthalmol*. 2005 Mar;89(3):269-74.

5.Lawrence W. Hirt, MD, *Cirugía del pterigión, Focal points*, AAO, VOL XXVII, No.3.

6.Klein, Donald W.; Prescott, Lansing M.; Harley, John (1999). *Microbiology*. Boston: WCB/McGraw-Hill

7.Jara María Antonieta, *Tetraciclinas: un modelo de resistencia antimicrobiana*, *Avances en ciencias*, volumen 22, pp 49-55 , 2007.

8.Arango Prado, Llanes Fernández, *La apoptosis: sus características y su papel en la transformación maligna de la célula*, *Rev Cubana Oncológica* 1997;13(2):126-134.

9.Michael O. Griffin,<sup>1</sup> Eduardo Fricovsky,<sup>2</sup> Guillermo Ceballos,<sup>2,3</sup> and Francisco Villarreal<sup>2</sup> Tetracyclines: a pleiotropic family of compounds with promising therapeutic properties. *Review of the literature Am J Physiol Cell Physiol* 299: C539-C548, 2010.

10.Tan D, Tnng WY, Liu YP, Goh HS, Smith D. Apoptosis and apoptosis related gene expression in normal conjunctiva and pterygium. *Br J Ophthalmol* 2000;84:212-316.

11.Tesis para obtener título de especialidad en oftalmología“Expresión diferencial de proteínas apoptóticas en pterigión primario en comparación con conjuntiva normal” Miriam Edith López-Salas , Victor Bautista , 2011.

12.Yrjänheikki J, Keinänen R, Pellikka M, Hökfelt T, Koistinaho J. Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 15769-15774, 1998 Erdinc Aydin, MD,\* Muhamet Kivilcim, MD,\* † Gholam A. Peyman, MD,\* †

13. Tesis para obtener el título de médico cirujano oftalmólogo “Efecto de la Doxyciclina en el Perfil de Citocinas y en la expresión de proteínas Pro/Anti-apoptóticas en Células Derivadas de Pterigión”. Miguel Angel Vazquez Membrillo, Victor Bautista de Lucio
14. Zhu S, Stavrovskaya IG, Drozda M, Kim BYS, Ona V, Li M, Sarang S, Liu AS, Hartley DM, Wu DC, Gullans S, Ferrante RJ, Przedborski S, Kristal BS, Friedlander RM. Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature* 417: 74–78, 2002.
15. Mohammad Riazi Esfahani, MD,\* Abdul Ahad Kazi, MD,\* and Donald R. Sanders, MD, PhD‡ Inhibition of Experimental Angiogenesis of Cornea by Various Doses of Doxycycline and Combination of Triamcinolone Acetonide With Low-molecular-weight Heparin and Doxycycline, (*Cornea* 2008;27:446–453)
16. Constance A. Cox, MD,<sup>1</sup> Juan Amaral, MD,<sup>1</sup> Rita Salloum, MD,<sup>2</sup> Liliana Guedez, PhD,<sup>2</sup> Ted W. Reid, PhD,<sup>3</sup> Cindy Jaworski, PhD,<sup>1</sup> Moly John-Aryankalayil, PhD,<sup>2</sup> Ken A. Freedman, MD,<sup>3</sup> Mercedes M. Campos, MD,<sup>1</sup> Alfredo Martinez, PhD,<sup>2</sup> Susan P. Becerra, PhD,<sup>1</sup> Deborah A. Carper, PhD. Doxycycline’s Effect on Ocular Angiogenesis: An In Vivo Analysis, *Ophthalmology* 2010;117:1782–1791
17. Smith V A, Cook S A. Doxycycline a role in ocular surface repair. *Br J Ophthalmol* 2004;88:619-625.[doi:10.1136/bjo.2003.025551]
18. Eric D. Donnenfeld, MD,<sup>1,2,3</sup> Henry D. Perry, MD,<sup>1,3,4</sup> Susan Fromer, MD,<sup>2</sup> Sima Doshi, MD,<sup>1,2</sup>, René Solomon, MD,<sup>3</sup> Seth Biser, MD,<sup>1,3</sup> Subconjunctival Mitomycin C as Adjunctive Therapy before Pterygium Excision, *Ophthalmology* 2003;110:1012
19. Eastman A. Survival factors, intracellular signal transduction, and the activation of endonucleases in apoptosis. *Sem Cancer Biol* 1995;6:45–52
20. Oltvai ZN, Millman CL, Korsmayer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993;74:609–19.
21. Yang E, Zha J, Jockel J, et al. Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death. *Cell* 1995;80:285–91.
22. Miyashita T, Harigai M, Hanada M, et al. Identification of a p53-dependent negative response element in the bcl-2 gene. *Cancer Res* 1994;54:3131–5.

23. Miyashita T, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell* 1995; 8:293-9.

CONSENTIMIENTO INFORMADO REVISADO Y AUTORIZADO POR LOS COMITÉS DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA.

\*Acorde a los lineamientos emitidos en el Reglamento a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

México Df, a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 2011

Por medio de la presente yo: \_\_\_\_\_ hago constar que de sido informado ampliamente acerca del estudio que se está realizando en el departamento de Enfermedades Inflamatorias Oculares sobre el uso de doxiciclina al 2% como terapia coadyuvante previa a la escisión de pterigión.

Sé que es un medicamento tradicionalmente usado como antimicrobiano , al que se le han descubierto propiedades antiinflamatorias y antiangiogénicas a una concentración al 2%.

Sé que hay presentaciones oftálmicas en ungüento de tetraciclina (TERRAMICINA) pero no para aplicación en gotas por lo cual autorizo sea utilizado un preparado al 2% de doxiciclina como complemento al tratamiento de mi pterigión.

También he sido informado que la visión de mi ojo no está comprometida, ya que sólo actuará en la porción superficial de mi ojo. Estoy enterado que entre los riesgos de la cirugía de pterigión se encuentra principalmente la recidiva.

Me comprometo a informar cualquier molestia derivada del uso de estas gotas así como externar cualquier duda que tenga

Nombre y Firma.

Testigo 1

Testigo 2

