



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO**

**INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA “FUNDACIÓN
CONDE DE VALENCIANA”**

**EFFECTOS *IN VITRO* DEL DIPIRIDAMOL EN LA
EXPRESIÓN DE TNF- α , MMP-9 y PRDX2 EN
FIBROBLASTOS DE PTERIGION PRIMARIO**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN MEDICINA OFTALMOLOGÍA

PRESENTA:
LAURA ANDREA TORRADO COBIAN

DIRECTOR DE TESIS
DR. ENRIQUE O. GRAUE HERNANDEZ



CIUDAD DE MÉXICO

2017



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.

Índice General

Índice General	2
Presentación	5
1. Introducción	6
2. Protocolo de Investigación	
2.1 Pregunta de investigación.....	8
2.2 Justificación.....	8
2.3 Objetivos generales	8
2.4 Objetivos específicos	8
2.5 Diseño del estudio.....	8
3. Materiales y Métodos	
3.1 Metodología	8
4. Análisis estadístico	
4.1 Muestra	10
4.2 Variables del estudio.....	10
4.3 Análisis estadístico.....	10
5. Resultados	11
6. Discusión	13
7. Conclusiones	14

Apéndices

1 Cronograma de actividades	15
2 Aspectos éticos	16
3 Financiamiento de la investigación	16
4 Aspectos de Bioseguridad	17
5 Declaración de conflictos de intereses de los investigadores	18
6 Consentimiento informado	20
7 Cesión de derechos	25
8 Hoja de firmas.....	26
Bibliografía	27



Instituto de Oftalmología

"Fundación de Asistencia Privada Conde de Valenciana IAP"

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**EFFECTOS *IN VITRO* DEL DIPIRIDAMOL EN LA
EXPRESION DE TNF- α , MMP-9 y PRDX2 EN
FIBROBLASTOS DE PTERIGION PRIMARIO**

Investigador Responsable:
Dra. Laura Andrea Torrado Cobián

Asesor de tesis:
Dr. Enrique O. Graue Hernández

Investigador Asociado:
Dr. Victor M. Bautista de Lucio

Departamentos participantes:
Departamento de Córnea
Instituto de Oftalmología, "Fundación Conde de Valenciana" I.A.P

FECHA PROBABLE DE INICIO Y FINALIZACION DE LA INVESTIGACION:
DE FEBRERO 2016 A DICIEMBRE 2016

Presentación

a. Título.

Efectos in vitro del dipiridamol en la expresión de TNF-a, MMP-9 y PRDX2 en fibroblastos de pterigiión primario

b. Investigador responsable, investigadores asociados o participantes y Departamentos y/o instituciones participantes.

Investigador responsable: Dra. Laura Andrea Torrado Cobián

Asesor de tesis: Dr. Enrique O. Graue Hernández

Investigadores Asociados: Dr. Victor Manuel Bautista de Lucio

Departamentos participantes:

Departamento de Córnea,

Instituto de Oftalmología, "Fundación Conde de Valenciana". I.A.P

c. Fecha de inicio y de finalización de la investigación.

Inicio: Febrero 2016

Finalización: Diciembre 2016

INTRODUCCION

El pterigión es un proceso degenerativo límbico corneal que consiste en una lesión neoplásica benigna^(1,2). Esta lesión se puede relacionar a la exposición constante del viento, sol, arena y polvo. Afecta mas frecuentemente a hombres y es más común en personas entre los 20 y 50 años, es más frecuente en el ámbito rural que en el urbano. Predomina en áreas cercanas al ecuador o lugares de climas cálidos y/o secos⁽²⁾. Su prevalencia es de 22% en las zonas ecuatoriales y menor al 2% en las zonas cerca a los cuarenta grados de altitud^(1,2). Existe una relación firme entre la radiación UV tipo B como un factor etiológico para el pterigión y tumores localizados en el limbo⁽³⁾. Existen algunas teorías alternas para la aparición del pterigión, como la implicación del virus herpes simple o papiloma. El pterigión crece a partir del epitelio limbal, un segmento invade la córnea en forma centripeta, seguido por el epitelio conjuntival. Este crecimiento sobre la córnea es esencialmente de tejido fibrovascular que se continua con la conjuntiva, generalmente del lado nasal⁽⁴⁾. El área afectada se delimita por opacidades blanquecinas elevadas conocidas como islotes de Vogt y una línea con depósitos de hierro delimita la cabeza del pterigión en la córnea⁽¹⁾.

El pterigión se compone de colágeno subepitelial y hialinizado con degeneración elastósica. En el vértice corneal de la cabeza del pterigión existe fragmentación y destrucción de la membrana de Bowman.⁽¹⁾

Se ha obtenido nueva evidencia que comprueba la existencia de miofibroblastos en el tejido fibrovascular de pterigiones. Probablemente se originen de remanentes de fibroblastos activados por estímulos fibrogénicos como el factor de crecimiento transformante (TFG), factor de crecimiento de tejido conectivo (CGF) y factor de crecimiento plaquetario (PGF) 6⁽¹⁾. Los fibroblastos son identificados con un anticuerpo anti-vimentina, capaces de producir y secretar colágeno y fibronectina.⁽⁵⁾

Los miofibroblastos son fibroblastos especializados. El miofibroblasto posee características intermedias entre fibroblasto y célula muscular lisa. Desempeñan un papel muy importante durante la inflamación, la reparación, la cicatrización y la regeneración de los tejidos en los diferentes órganos. La morfología es similar a la del fibroblasto y además posee moléculas de actina y miosina en su citoplasma, como el miocito. Tienen haces de filamentos de actina y cuerpos densos semejantes a los de las células del músculo liso. Difieren de las células musculares lisas porque carecen de lámina externa. Son abundantes en zonas de cicatrización^(6,7,8).

Dentro del cuadro clínico encontramos que el pterigión es asintomático en los casos leves o de estadio inicial. Pueden desarrollar ardor, dolor, prurito o sensación de cuerpo extraño. El signo característico es la presencia de una lesión engrosada, congestiva e inflamatoria.⁽¹⁾

Las complicaciones de este padecimiento se originan a partir de la inflamación del mismo: irritación, lagrimeo, sensación de cuerpo extraño, disminución de la agudeza visual.

En los casos donde se presenta una inflamación moderada o se encuentra en estadios tempranos se pueden administrar antiinflamatorios tópicos no esteroideos o cortico esteroides en periodos cortos. Para los casos donde el pterigión es más grande o recurrente, el tratamiento es la escisión quirúrgica y además se debe prevenir la recurrencia^(4,9). Actualmente los tratamientos más utilizados para prevenir la recurrencia son el autoinjerto de conjuntiva y la mitomicina C.^(1,4,9)

El dipiridamol fue introducido en el mercado en 1959 como medicamento antianginoso encontrando posteriormente que inhibe la agregación plaquetaria debido a la inhibición de la recaptura de adenosina⁽¹⁰⁾. Con los años demostró reducir la formación de trombos, volviéndose la terapia de elección para la prevención de infartos manteniendo la permeabilidad en cirugía de coronarias y remplazo valvular, así como tratamiento previo en angioplastia coronaria⁽¹⁰⁾. Estudios recientes han demostrado que posee efectos anti-inflamatorios, atribuyendo estos efectos a la supresión de TNF-a y la expresión de MMP-9 mediada por PMA, así como su liberación mediante un mecanismo que involucra la inhibición de p38 MAPK y NF-kB⁽¹¹⁾. También se ha visto que tenga propiedades antivirales y antineoplásicas. Esto lo hace un buen prospecto para el tratamiento dirigido a la etiología del pterigión.^(11,12,13)

En la patente publicada No. EP0234954 por Gilbard, et al se sugiere que el AMPc funciona como segundo mensajero para la exocitosis en la glándula lagrimal, y actúa aumentando la secreción de lágrima⁽¹⁴⁾. El AMPc es degradado por fosfodiesterasas, por lo que se cree que suprimiendo estas fosfodiesterasas puede resultar en un aumento intracelular de los niveles de AMPc y por lo tanto mejorando la producción de lágrima. El dipiridamol se cree que actúa como un inhibidor de fosfodiesterasa, ejerciendo sus efectos cardiovasculares a través de esta vía⁽¹⁴⁾.

La experimentación en animales utilizando inyecciones intravitreas de dipiridamol ha demostrado que juega un papel en la regulación de la circulación sanguínea ocular^(15,16). En humanos, se llevo a cabo un estudio en pacientes con neuropatía óptica isquémica anterior, síndrome vasoespástico, glaucoma u oclusión de vena central de la retina utilizando dipiridamol por vía oral donde se demostró que existe un aumento en la circulación sanguínea ocular en la arteria oftálmica, arteria y vena central de la retina y arteria ciliar^(12,15). El dipiridamol también se ha estudiado en conejos para evaluar su efecto en la reducción de la presión intraocular, se aplicó el medicamento intraperitoneal demostrando la inhibición de prostaglandina E2 disminuyendo la presión intraocular y proteína del humor acuoso en cámara anterior^(15,17).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los efectos in vitro del dipiridamol en fibroblastos de pterigión primario?

JUSTIFICACION

El desarrollo de un medicamento tópico adecuado para detener el avance o que lleve a la curación del pterigión primario sería de gran ayuda para todos los pacientes con esta patología, ya que presenta una gran incidencia actualmente en jóvenes en quienes el tratamiento quirúrgico tiene un alto porcentaje de recidiva.

OBJETIVO GENERAL

Identificar los efectos in vitro del dipiridamol en fibroblastos de pterigión primario.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. La obtención de cultivo primario de células de pterigión y conjuntiva.
2. Caracterización de las células de pterigión y conjuntiva.
3. Analizar la expresión de MMP-9, TNF-a y PRDX2 en células de pterigión primario en presencia del dipiridamol a diferentes concentraciones: 21.25 mcg/ml , 42.5mcg/ml y 63.75 mcg/ml.

DISEÑO

Estudio analítico, experimental y prospectivo.

METODOLOGIA

* Obtención de cultivos primarios de fibroblastos de pterigión primario y conjuntiva

Cada muestra de pterigión y conjuntiva se procesará bajo condiciones estériles en campana de flujo laminar. Los tejidos se colocarán en Colagenasa II durante 24 horas, después se centrifugarán y se resuspenderán en medio DMEM-F12 suplementado para después colocar la misma cantidad de muestra en placas de 24 pozos o se cortarán fragmentos de aproximadamente 1x1 mm (según la degradación de la muestra), se agregarán 100 µl de suero fetal bovino y se incubarán 24 h a 37 °C en un ambiente de 5% CO₂. Posteriormente se agregarán 500 µl de medio de cultivo DMEM-F12 suplementado. Se cambiará el medio cada tercer o cuarto día según el crecimiento celular observado microscópicamente, una vez teniendo crecimiento confluyente del 80% aproximadamente, se realizarán pases a botellas T25 (Luna- Baca y cols, 2007).

Para realizar los pases, se lavarán las células con PBS1X estéril dos veces, se colocarán 100 µl de tripsina al 0.35% en cada pozo, se incubará a 37 °C

observando al microscopio cada cinco minutos hasta que las células se disgreguen de la superficie; para disminuir la actividad enzimática, las células se diluirán en 200 ml de PBS1x estéril, se resuspenderán y se colocaran en un microtubo de 15 mL que se centrifugó a 150 xg durante 10 min a 10° C, se desechará el sobrenadante y se resuspenderán las células en 1000 µl de DMEM-F12 suplementado, se colocará en botellas T25 o T75 llevando a un volumen final de 5 mL y 8 mL respectivamente para obtener más población celular para posteriores experimentos.

* Caracterización de los fibroblastos de pterigión primario y conjuntiva

Se realizará la tipificación del cultivo celular de pterigión y conjuntiva por inmunofluorescencia . Se hará un pase del cultivo primario en botella T75 a microplacas de 8 pozos en portaobjeto (Lab- Tek TM Chambered Coverglass), se colocarán aproximadamente 20,000 células por pozo, las cuales, después de adherirse a la superficie, se fijarán con metanol para realizar la tinción. Una vez fijadas, se realizará un lavado con PBS 1X y se colocaran 50 ml de paraformaldehído 4% por 20 min; se lavaran con PBS 1X tres veces; se realizará la permeabilización con solución de bloqueo (PBS 1X, tween 20 0.5%, albúmina 5%, gelatina 0.5%) por una hora. Se lavaran con PBS 1X dos veces.

Se agregaran los anticuerpos a cada pozo a una dilución 1:50, se utilizaran los anticuerpos anti-ki-67 acoplado a FITC (sc-23900), anti-vimentina acoplado a FITC (sc-7558), anti-citoqueratina 12 (sc-17098) y anti-citoqueratina 19 (sc-6278), durante una hora, los pozos con anticuerpos no acoplados a FITC serán después lavados con PBS1X y se agregará el anticuerpo secundario acoplado a FITC (anti-cabra para citoqueratina 12 y anti-ratón para citoqueratina 19) por 30 min. Después de los tiempos de incubación se harán lavados con PBS1X y se desprenderán los pozos dejando los portaobjetos solos a los cuales se les colocará una gota de DAPI y un cubreobjetos. Estas preparaciones serán observadas en un microscopio de fluorescencia ApoTome (Zeiss ®, Germany)

* Citotoxicidad de dipiridamol en fibroblastos de pterigión primario y conjuntiva

El índice de citotoxicidad (IC₅₀) se determinará utilizando el ensayo de MTT. Se sembrarán 7×10^3 células en cada pozo de una placa de 96 pozos y los fármacos serán adicionados a diferentes concentraciones en cada pozo. Después de 72 horas el medio de cultivo se retirará y se agregará el MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl- tetrazolium bromide) en PBS a una concentración final de 2 mg/ml. Después de 4 horas de incubación, las células serán lavadas con PBS y los cristales serán disueltos por la adición de DMSO al 100% y se medirá la absorbancia a 540 nm utilizando un lector automatizado de placas (Labsystem Multiskan MS). Con base en las lecturas de absorbancia, se determinará el IC₅₀. La sobrevivencia de las células con fármaco será estimada como porcentaje con respecto a su control correspondiente de células sin fármaco. El IC₅₀ corresponde a una disminución del 50% en la población celular.

* Análisis de la expresión génica por PCR Tiempo Real

Las muestras obtenidas serán congeladas y mantenidas a -80°C hasta que sean procesadas. El aislamiento de RNA total de los especímenes biológicos se realizará utilizando el kit RNeasy (Qiagen, Hilden, Germany). Dos microgramos de RNA sufrirán transcripción- inversa utilizando Oligo-dT (Promega, Madison WI, USA) a 42 °C por 30 minutos y la reacción se detendrá a 95°C por 5 minutos. Del cDNA obtenido, se realizará PCR en tiempo real utilizando el gen *18s* como previamente estaba descrito (Steinau et al., 2006). Se utilizarán hasta 100 ng de RNA de inicio para la amplificación en el aparato Rotor- Gene 6000 (Corbett life Science, Sidney, Australia). Los primers para la amplificación de *18s* y *PRDX2* tendrán la misma temperatura de fusión (60°C) y serán *18s* para sentido 5'-TGATCGTCTTCTCG ATGCTCTTAGCTGAGTGTCC – 3'. *18S* antisentido 5'-TGATCGTCTTCGAACCTCCG – 3'. Se utilizarán los primers para PRXD2 sentido 5-CCAGACGCTTGTCTGAGGAT-3' y antisentido 5-'ACGTTGGGCTTAATCGTGTC-3'; TNF-alfa sentido 5'-ACGTCGTAGCAAACCACCAA – 3' y antisentido 5'-CAAGGGCTCTTGATGGCAGA – 3'. Y para MMP-9 sentido 5'-GCTCACCTTCACTCGCGTGTA – 3' y antisentido 5'- TCCGTGCTCCGCGACA – 3'. Para identificar que la reacción de amplificación no formó sub- productos falsos, el gradiente de temperatura se realizará de 72°C a 95°C y será analizada por curva de fusión. En todos los casos, solo se obtendrá una curva por cada reacción de amplificación. El incremento relativo de la amplificación se calculará utilizando la fórmula $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak y Schmittgen, 2001) y el gen *18s* se utilizará como el gen de limpieza. Cada experimento se realizará por triplicado en tres ensayos independientes.

MUESTRA

Se obtendrán cultivos primarios de fibroblastos a partir de una muestra de un pterigión primario y una muestra de conjuntiva sana a las cuáles se les aplicará dipiridamol a diferentes concentraciones 21.25 mcg/ml y 42.5mcg/ml..

VARIABLES DEL ESTUDIO

La expresión relativa de los genes: TNFalfa, MMP-9 y PRDX2.

ANALISIS ESTADISTICO

Después de obtener los resultados se continuará con el análisis estadístico de los datos obtenidos, se analizarán las medias de los niveles de expresión de los tres genes en pterigión con respecto a la conjuntiva sana.

RESULTADOS.

Se obtuvo una muestra de pterigión primario de paciente tratado con cirugía, esta muestra se cultivó y proliferó hasta obtener una confluencia del 80%. Posteriormente se llevo a cabo la caracterización de los fibroblastos utilizando Anticuerpos anti-ki67 y anti-vimentina. El anti-ki67 es una proteína nuclear y marcador celular de proliferación, este se encuentra en el núcleo de la célula, en la figura 1 se puede identificar como el núcleo de las células se realza identificando a las células en proliferación activa.



Figura 1.

El anticuerpo anti-vimentina fue utilizado para identificar las células capaces de producir y secretar colágeno y fibronectina, y con esto se pudo identificar que efectivamente se habían obtenido fibroblastos de pterigión como lo muestra la figura 2.

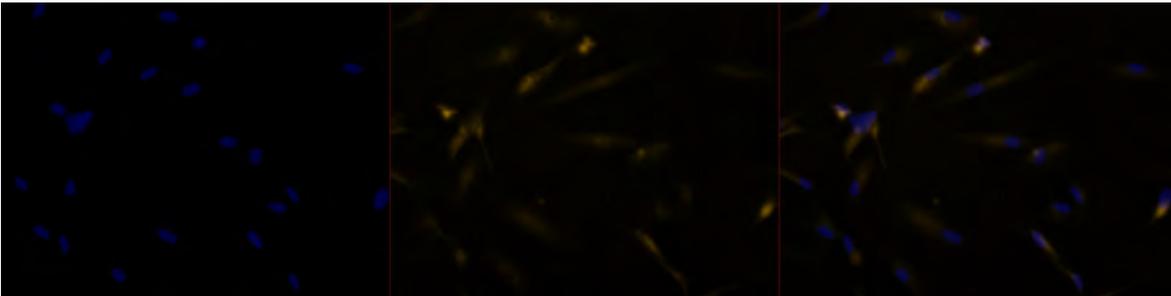


Figura 2.

Posteriormente, a los cultivos de fibroblastos en caja con 24 pozos se dividieron en 4 grupos, siendo el primero el control, el segundo grupo se le adicionó 21.25 mcg/ml del medicamento, al tercer grupo se le adicionó una concentración de 42,50 mcg/ml y al cuarto grupo 63.75 mcg/ml. Encontrando una proliferación de células cada vez menor conforme se iba aumentando la concentración del medicamento en comparación con el grupo control, haciéndose evidente la cristalización del medicamento en el cuarto grupo como se muestra en las imágenes de la figura 3.

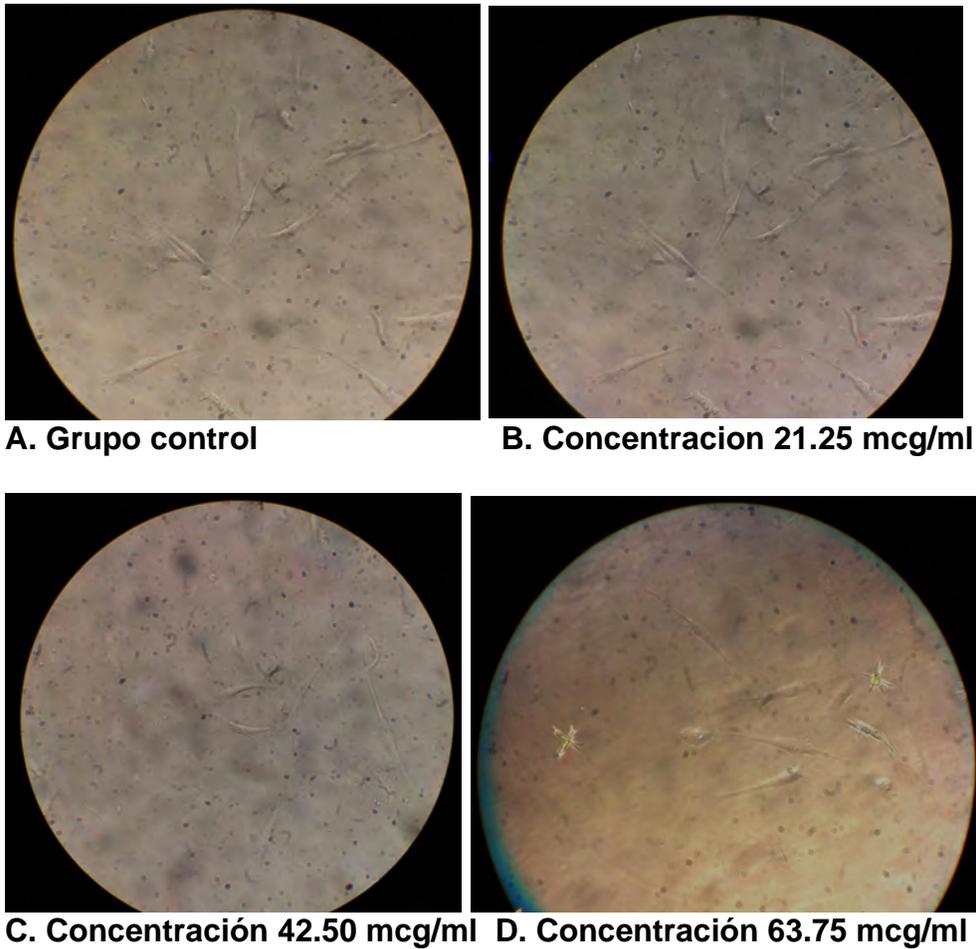


Figura 3.

Las células de pterigión se colocaron en columnas donde se dividieron en 5 grupos, teniendo un grupo control, un grupo de activación el cuál se activo con Poli C, un grupo con concentración a 21.25 mcg/ml, un grupo con concentración 42.50 mcg/ml y por último un grupo con concentración a 63.75 mcg/ml del dipyridamol. Se realizó la extracción del RNA y se corrió por western blot adicionando un primer de beta 2 microglobulina para la identificación de los fibroblastos de pterigión primario. Encontrando una expresión positiva en el control de activación y en el grupo control y la expresión se encontró inhibida en su totalidad en los 3 grupos a los cuales se les adicionó el medicamento a diferentes concentraciones como lo podemos ver en la figura 4.

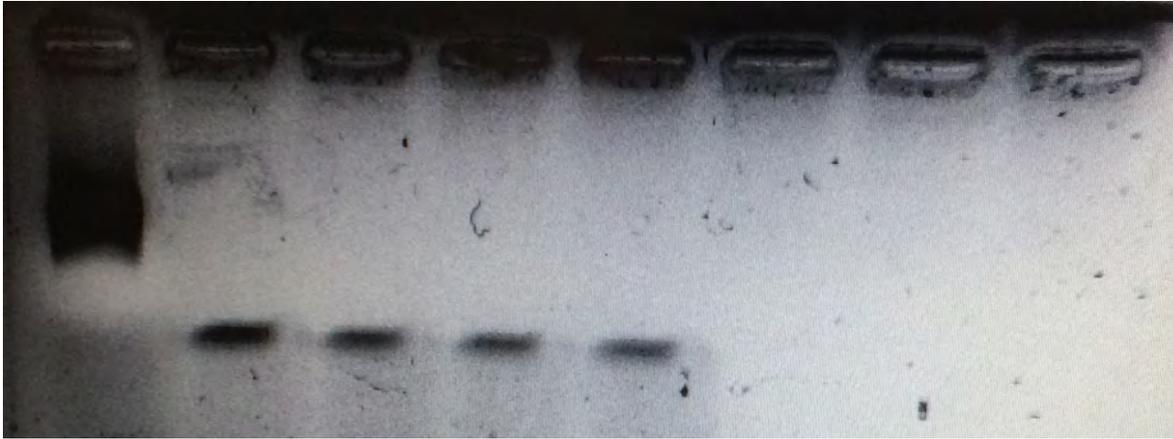


Figura 4.

Se analizó la expresión de las enzimas por PCR tiempo real y verificando los resultados por Western Blot, encontrándose una expresión relativa en unidades del PRDX2 en el pterigión de 1 y ésta expresión se encontró disminuida a más de la mitad al agregar el dipiridamol a 21.25 mcg/ml, 42,50 mcg/ml y 63.75 mcg/ml siendo de 0.4, 0.3 y 0.1 respectivamente.

Al analizar la expresión del TNF-a por el mismo método, se encontró una expresión relativa en unidades en el pterigión de 3, encontrando una disminución significativa al adicionar el medicamento siendo ésta en las concentraciones de 21.25 mcg/ml, 42,50 mcg/ml y 63.75 mcg/ml de 1, 0.6 y 0.4 respectivamente.

Para finalizar, al analizar la expresión de la MMP-9, se encontró una expresión relativa en unidades en el pterigión de 1.50 y y ésta expresión disminuyó a la mitad al agregar el medicamento a las tres concentraciones descritas, siendo la expresión de 0.75, 0.50 y 0.25 respectivamente.

DISCUSION

Este es el primer trabajo que se realiza para identificar los efectos de algún medicamento en la expresión del pterigión, y de igual manera es el primer trabajo que se hace para identificar los efectos del dipiridamol en los fibroblastos de pterigión primario.

El dipiridamol tiene efecto sobre diversas proteínas y enzimas que son expresadas en esta patología como lo pudimos confirmar en este estudio.

Este estudio abre las puertas a otros trabajos en el futuro, ya que se requieren más estudios para identificar la concentración mínima inhibitoria del medicamento, así como la dosis indicada si es que puede llegar a ser utilizado in vivo como medicamento ocular y sus posibles efectos adversos.

CONCLUSION.

Lo que se puede concluir con este trabajo es que el dipiridamol disminuye la expresión del PRDX2, MMP-9 y TNF-a en el pterigión. Enzimas ya sabidas que son expresadas en esta patología y probablemente puedan ser el blanco para el desarrollo de un tratamiento tópico en esta patología

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	03. 16	04. 16	05. 16	06. 16	07. 16	08. 16	09. 16	10. 16	11. 16	12. 16	01. 17	02. 17
Obtención de los fibroblastos	X	X	X									
Western Blot PRX2				X								
Expresión de genes					X							
Revisión de bibliografía	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Resultados					X	X	X					
Escritura de tesis								X	X	X	X	X

ASPECTOS ÉTICOS

Carta de consentimiento informado anexo a paciente sometido a cirugía de pterigión.

FINANCIAMIENTO DE LA INVESTIGACION

Se obtendrán los cultivos de fibroblastos en el laboratorio de investigación del Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana y el dipiridamol en solución así como los reactivos necesarios serán la responsabilidad del investigador.

ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

Este protocolo de estudio se apega a la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-087-ECOL-SSA1-2002 Protección ambiental, salud ambiental, Residuos peligrosos biológico-infecciosos, Clasificación y especificaciones de manejo, además de las normas establecidas por el Comité Científico y Ético del Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana.

TIPO DE RESIDUOS	ESTADO FISICO	ENVASADO	COLOR
Suero	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
Médios de cultivo	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
Portaobjetos/pozos	Sólido	Recipientes rígidos polipropileno	Rojo
Membranas de nitrocelulosa	Sólido	Bolsas de polietileno	Rojo
Residuos de reactivos	Sólido	Recipientes CRETIB	

DECLARACION DE CONFLICTO DE INTERESES DE LOS INVESTIGADORES

Formulario de declaración de conflictos de intereses

- – Nombre y apellidos:
- – Institución en la que trabaja:
- – Institución que le vincula a la GPC. Ej: sociedades científicas, fundaciones, etc. (contestar sólo si es diferente a la anterior):
- – Teléfono de contacto:

Participación en la guía como:

- 1-Autor/a
- 2-Colaborador/a experto/a
- 3-Revisor/a externo/a

Tras haber leído y comprendido la información remitida sobre la declaración de conflictos para el presente proyecto de elaboración de GPC, formulo la siguiente declaración:

A- Intereses personales

-NO -SI

En caso afirmativo especificar:

	Actividad	Institución	Fecha
Financiación para reuniones y congresos, asistencia a cursos (inscripciones, bolsas de viajes, alojamiento...)			
Honorarios como ponente (conferencias, cursos...)			
Financiación de programas educativos o cursos (contratación de personal, alquiler de instalaciones...)			
Financiación por participar en una investigación			
Consultoría para una compañía farmacéutica/otras tecnologías			
Accionista o con intereses comerciales en una compañía (patentes...)			
Intereses económicos en una empresa privada relacionada con la salud (como propietario, empleado, accionista, consulta privada...), que puede ser significativo en relación a la autoría de la guía			
Conflictos de intereses de índole no económico que pueden ser significativos en relación a la autoría en la guía			

B- Intereses no personales

-NO -SI

	Actividad	Institución	Fecha
Financiación o ayudas económicas para la creación de la unidad o servicio			
Dotación significativa de material a la unidad o servicio			
Contratación o ayudas económicas para contratar personal en la unidad o servicio			
Ayuda económica para la financiación de una investigación			
Financiación de programas educativos o cursos para la unidad			

C-Otros posibles conflictos de intereses no señalados en los apartados anteriores (especificar)

Firma

Fecha

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA CIRUGÍA DEL PTERIGION

1. Constancia de recepción del formulario

En el día de la fecha he recibido de mi oftalmólogo, el

Dr., el presente formulario conteniendo información de mi enfermedad ocular, la cirugía que me ha propuesto, sus riesgos y qué otras posibilidades de tratamiento tengo. Luego de leer en mi casa detenidamente con mis familiares esta información, he sido citado el día para que mi oftalmólogo me aclare todas mis dudas.

2. ¿Qué es el PTERIGION?

El pterigion es un tejido fibroso con vasos sanguíneos que crece como una tela sobre la córnea desde la parte blanca del ojo (esclera). Recordemos que la córnea es la parte anterior de la pared del ojo y que es normalmente transparente (sin vasos sanguíneos). Sobre ella colocan sus lentes los usuarios de lentes de contacto. El pterigion puede permanecer estable durante años provocando, además del trastorno estético (un área localizada de ojo rojo permanente), síntomas de irritación ocular. En algunos pacientes invade más agresivamente a la córnea acercándose a su centro. Esto provoca trastornos en la visión al generar una irregularidad en la córnea (astigmatismo). Como el pterigion está localizado generalmente en la parte interna de la superficie anterior del ojo, en un área permanentemente expuesta a los agentes ambientales (luz ultravioleta del sol, viento, partículas) clásicamente se lo consideró un trastorno degenerativo provocado por elementos ambientales. Últimamente han surgido evidencias de que se trata de una alteración en la multiplicación de las células determinada por un gen.

3. ¿En qué consiste la cirugía del pterigion?

La cirugía del pterigion consiste en su extirpación intentando dejar a la córnea lo más transparente posible y con una superficie regular. Frecuentemente se utilizan injertos de la conjuntiva del mismo ojo para cubrir el área de la superficie interna del ojo en la que se ha extirpado la base del pterigion. En casos especiales el área expuesta que queda luego de la extirpación del pterigion se cubre con un injerto de membrana amniótica. Esta membrana se obtiene de la placenta que envuelve al feto durante el embarazo y se conserva estéril en medios especiales. Tiene propiedades anti-inflamatorias. En los casos de pterigion muy agresivo o cuando reaparece luego de la cirugía (recidivas) se pueden emplear sustancias (mitomicina C, por ejemplo) que inhiben la multiplicación celular (como las empleadas en el cáncer). Es importante destacar que el pterigion es una enfermedad benigna. La cirugía del pterigion requiere de gran precisión por lo que es imprescindible efectuarla bajo microscopio quirúrgico

en quirófano.
La anestesia es local, inyectada en los tejidos de la superficie del ojo.

4. Beneficio que se espera conseguir con la cirugía del pterigion

El beneficio que se espera conseguir es, además de mejorar el aspecto estético y atenuar los síntomas de irritación ocular, en los casos en los que el pterigion ha deformado la córnea (provocando astigmatismo), intentar mejorar la visión del ojo.

No siempre se consiguen estos objetivos como para satisfacer totalmente al paciente dado que muchas veces el pterigion tiende a reaparecer (recidivas), obligando a nuevas cirugías.

5. Riesgos y complicaciones de la cirugía del pterigion

Un concepto importante: no existe ninguna cirugía ocular sin riesgos.

En ciertos casos se producen complicaciones que pueden ser leves, moderadas o graves. Pueden ocurrir en tratamientos perfectamente realizados por los oftalmólogos más expertos. Nadie puede garantizarle un tratamiento exitoso. Para informarlo en forma clara y que usted pueda tomar una decisión con el conocimiento necesario le brindamos un LISTADO PARCIAL pero con las complicaciones más graves y/o las más frecuentes:

1. a) Inflamación ocular persistente
2. b) Reparación del pterigion (recidiva)
3. c) Pérdida de la transparencia de la córnea
4. d) Disminución de la agudeza visual
5. e) Hemorragias
6. f) Infección
7. g) Visión doble (diplopía)
8. h) Molestias provocadas por la luz (fotofobia)
9. i) Inflamación ocular interna (iridociclitis)
10. j) Aumento de la presión ocular (glaucoma)
11. k) Catarata
12. l) Perforación ocular

Algunas de estas complicaciones pueden requerir nuevas cirugías. La reaparición del pterigion (recidiva) es una posibilidad relativamente frecuente y obliga a una nueva cirugía. En los casos complicados se emplea la sustancia mitomicina C (originariamente desarrollada para combatir el cáncer). Su uso aumenta las posibilidades de mejor resultado en los casos más agresivos pero también puede generar complicaciones como las descritas en los últimos puntos enumerados.

6. ¿Existe otra posibilidad de tratamiento? (tratamientos alternativos)

Cuando el pterigion tiene una evolución agresiva invadiendo progresivamente a la córnea, la única alternativa es su extirpación quirúrgica. Es importante destacar que una mayoría de los casos de pterigion permanece estable durante años y no es necesario operarlo. Se utilizan en estos casos lubricantes de la superficie ocular (lágrimas artificiales) y esporádicamente colirios (gotas) antiinflamatorios.

7. ¿Qué ocurre si no se realiza la cirugía del pterigion cuando está indicada efectuarla?

En los casos en los que no hay dudas en la indicación de cirugía (pterigion de crecimiento muy agresivo con gran inflamación y trastornos visuales), estos síntomas permanecerán o se agravarán con el pasar del tiempo. Si el pterigion llega en su crecimiento al área central de la córnea (área de la pupila), la alteración de la visión será muy importante y las posibilidades de una cirugía que deje una córnea ópticamente aceptable serán menores.

8. Características particulares que presenta su caso:

.....
.....
.....
.....
.....
.....

9. Espacio para anotar dudas o preguntas

.....
.....
.....
.....
.....

10. Autorización (consentimiento)

Habiendo recibido este formulario con tiempo suficiente para su estudio y aclarado satisfactoriamente todas mis dudas, mi firma al pie certifica que doy voluntariamente mi autorización (consentimiento) para que se efectúe una cirugía de pterigion en mi ojo y que se utilice este tejido para trabajos de laboratorio cuyos fines son encontrar tratamientos alternativos para esta patología que puedan ayudar en un futuro a otros pacientes, siendo el médico oftalmólogo a cargo del procedimiento el Dr.....

.....

Doy mi consentimiento para que se puedan realizar fotografías y/o grabar un video de la intervención así como su ulterior utilización con fines científicos y/o exposiciones académicas, preservando en todos los casos mi identidad.

..... FIRMA DEL PACIENTE

..... FIRMA DEL TESTIGO

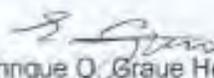
CESION DE DERECHOS

En la ciudad de México D. F., el día 17 del mes de Febrero del año 2017, el (la) que suscribe Dr. (a) Laura Andrea Torrado Cobián, alumno (a) del Programa de (Oftalmología o Alta Especialidad del Posgrado) de la Facultad de Medicina, sede académica Instituto Fundación de Asistencia Privada "Conde de Valenciana" I.A.P, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del (de la) Dr. (a) Enrique O. Graue Hernández y cede los derechos del trabajo intitulado "EFECTOS IN VITRO DEL DIPYRIDAMOL EN LA EXPRESION DE TNF- α , MMP-9 Y PRDX-2 EN FIBROBLASTOS DE PTERIGION PRIMARIO", a la Universidad Nacional Autónoma de México para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben de reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del director del trabajo bajo reserva de contravenir tácitamente a la ley Federal de derechos y protección del autor. El permiso puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección electrónica _egraueh@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y cita la fuente del mismo.



Laura Andrea Torrado Cobián
Residente 3er año de Oftalmología



Dr. Enrique O. Graue Hernández
Médico Adscrito Córnea y cirugía
Refractiva, Instituto de
Oftalmología Fundación Conde
de Valenciana



Dr Víctor M. Bautista de Lucio
Jefe del Departamento de Microbiología
Y Proteómica ocular, Instituto de Oftalmología
Fundación Conde de Valenciana

✓

Dr. Enrique Graue Wiechers.
Profesor Titular del Curso

E. Graue H

Dr. Enrique O. Graue Hernández
Director de Tesis.

J. Rodríguez Loaiza

Dr. José Luis Rodríguez Loaiza.
Jefe de Enseñanza

BIBLIOGRAFIA:

1. Treviño-Alanis MG, Escamilla-Ocañas CE, Aguirre- Cavazos V, et al. Pterigi6n. *Revista M6dica MD*. 2011; volume 3 (1): 34-37.
2. Ang M, Li X, Wong W, et al. Prevalence of and Racial differences in pterygium. A Multiethnic population study in Asians. *Ophthalmology*. 2012 August; 119 (8); 1509- 1514.
3. Saw SM, Tan D. Pterygium: prevalence, demography and risk factors. *Ophthalmic Epidemiol* 1999; 6:219-228.
4. Janson BJ, Sikder S. Surgical Management of Pterygium. *The Ocular surface*. 2014 April; 12(2): 112- 118.
5. Gil- Loyzaga PE. Cultivo de c6lulas animales y humanas. Aplicaciones en medicina regenerativa. C6tedra innovaci6n y Salud. Fundaci6n FG-UCM.
6. Aldana, Hern6n. (2005).Grupo de c6lulas contr6ctiles. *Unidad 4, Histolog6a* (Facultad de medicina, Universidad de Mor6n). 24 de noviembre de 2015.
7. Ramos, Carlos; Becerril, Carina; Cisneros, Jos6; Monta6o, Martha (2004) El Miofibroblasto, una c6lula multifuncional en la patolog6a pulmonar. *Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex.* 17 (3): 215-231.
8. Poonkhum, Raksawan; Pradidarchepp, Wisuit; Nilbu-nga, Somneuk; Chaunchaiyakul, Suwadee (2011). Distribuci6n de Miofibroblastos y Col6geno Tipo I y III en H6gado de Ratas con Cirrosis Inducida por Tioacetamida. *Int. J. Morphol.* 29 (n2): 501-508.
9. Todani A, Melki S. Pterygium current concepts in pathogenesis and treatment. *Int Ophthalmol Clin* 2009;49:21-30.
10. Fitz Gerald, GA. Dipyridamole. *N E J Med*. 1987;316: 1247-1257.
11. Massaro M, Scoditti E, Carlucio MA, et al. Dipyridamole decreases inflammatory metalloproteinase-9 expression and release by human monocytes. *Thromb Haemost.* 2009;102:538-543.

12. Hedwig JK, Stumpfig D, Flammer J. Short- term effect of dipyridamole on blood flow velocities in the extraocular vessels. *International ophthalmology*. 1996;19: 355-358.
13. Chalkia AK, Spandidos DA, Detorakis ET. Viral involvement in the pathogenesis and clinical features of ophthalmic pterygium (review). *Int J Mol Med*. 2013;32:539-543.
14. Moshe Rogosnitzky. Compositions for use in treating eye disorders using dipyridamole. Remedeye Inc. WO 2014141079 A1. Sep 18, 2014.
15. Carlock BH, Bienstock CA, Rogosnitzky M. Pterygium: Nonsurgical treatment using topical dipyridamole- A case report. *Case Rep Ophthalmol*. 2014 Jan-Apr; 5(1): 98-103.
16. Braunagel SC, Xiao JG, Chiou GC. The potential role of adenosine in regulating blood flow in the eye. *J Ocul Pharmacol Ther*. 1988;4:61–73.
17. Podos SM. Effect of dipyridamole on prostaglandin-induced ocular hypertension in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1979;18:646–648.