

# X. Investigación

Ana Flisser-Steinbruch\*

La investigación que se realiza en el hospital se integró como una Dirección de Área en 1994 y estuvo a cargo de la doctora Dolores Saavedra hasta el 2001, año en que se jubiló, después de realizar proyectos de investigación importantes para el hospital en el campo de la genética relacionada con problemas de malformaciones craneofaciales y en el área de control de tabaquismo. En esa época se crearon las comisiones de Ética y de Investigación y se inició la asesoría a residentes para la elaboración de sus tesis de especialidad. Actualmente (2002), el hospital cuenta con ocho investigadores reconocidos por el Sistema Nacional de Investigadores del CONACYT y 35 por el Sistema Institucional de Investigadores de la Secretaría de Salud, los que están distribuidos en 19 áreas clínicas del hospital y 30% de ellos están adscritos a la Dirección de Investigación. En este año el hospital publicó 45 artículos en revistas indizadas, 30 dentro del grupo I, 2 en el grupo II y 13 en el grupo III; 40% proviene de casos clínicos, 33% de protocolos de investigación y 27% restante corresponde a publicaciones que resultaron de revisiones y de colaboraciones externas.

A partir de 2001 la Dirección de Investigación se organizó en las siguientes áreas: Investigación Clínica, Diseño y Análisis de Investigaciones, Biología Molecular e Histocompatibilidad, Epidemiología, Ecología de Agentes Patógenos, Cirugía Experimental y Bioterio, promoviendo la realización de protocolos de interés particular del personal de la Dirección de Investigación y la colaboración y el apoyo a las áreas clínicas del hospital. La Subdirección de Investigación Biomédica, a cargo del doctor Simón Kawa Karasik, supervisa el registro y seguimiento de todos los protocolos del hospital y de sus productos. En el cuadro I se muestra la distribución de los 91 protocolos de investigación que se iniciaron en 2002 según el área responsable. También apoya la realización de proyectos de investigación con la industria farmacéutica, con el propósito de asegurar la integridad tanto de los sujetos que participan en estas investigaciones, como para proteger los intereses del hospital.

Aproximadamente 15% de los protocolos se deben al interés de dicha industria y están relacionados con la evaluación de medicamentos nuevos. En el caso de estos protocolos, una vez aceptados por las Comisiones de Ética y de Investigación, se firma un convenio que ha

sido avalado por la unidad jurídica del hospital y de la compañía, estos convenios generan ingresos al hospital y al investigador responsable. El doctor Kawa, la doctora Laura Vargas Parada y el doctor Alberto Salazar Valadez iniciaron un proyecto para analizar con detalle la situación del consentimiento informado. El consentimiento informado es una herramienta para salvaguardar los derechos de los pacientes, que promueve la libertad de escoger entre diferentes opciones, incluyendo la decisión de participar o no en una investigación. Se conoce poco sobre la situación del consentimiento informado en países en desarrollo, donde diversos factores se asocian y afectan su correcta aplicación. Entre ellos el elevado nivel de analfabetismo de la población, la dependencia del paciente de la opinión del médico, la falta de acceso a información complementaria sobre su padecimiento, la complejidad del lenguaje utilizado en las cartas de consentimiento y el sentir por parte de los investigadores hacia este requisito. Se sabe que cuando la gente no comprende adecuadamente, hay mayor número de visitas y tiempo de estancia en el hospital, mayor gasto en medicamentos y un mayor uso de los recursos de los sistemas de salud. Aunado a esto se desconoce el sentimiento general de los investigadores médicos con respecto al papel que juega el consentimiento informado en la implementación del protocolo clínico.<sup>1-3</sup> Este estudio permitirá identificar los conflictos, problemas y necesidades locales, con el fin de proponer alternativas para su mejora.

**Cuadro I. Protocolos de investigación iniciados en el 2002**

Anatomía patológica	1	Infectología	1
Anestesiología	4	Reumatología	1
Cirugía cardiovascular	1	Oftalmología	5
Cirugía general	8	Ortopedia	2
Cirugía plástica reconstructiva	7	Pediatría	9
Dermatología	15	Psiquiatría	2
Enfermería	2	Radiología e imagen	3
Ginecología y obstetricia	6	Urgencias	1
Investigación	12	Urología	7
Medicina interna	4	Total	91

\*Directora de Investigación. Hospital General "Dr. Manuel Gea González". Académica Titular.

La División de Investigación Clínica, a cargo del doctor Alberto Salazar Valadez, da asesoría para la elaboración de los protocolos, tanto a los residentes que realizan su especialidad, como al personal médico y biomédico, especialmente en el cálculo de muestra y selección de pruebas estadísticas a utilizar y, en ocasiones, en el análisis de datos y en la estructuración de la tesis. Para facilitar la elaboración del protocolo de investigación diseñó una guía digital, amigable y de fácil llenado, que se encuentra en la página electrónica del hospital y puede ser consultada por cualquier persona interesada (<http://www.facmed.unam.mx/gea>). Cabe señalar que 92% de los residentes de tercer año del 2002 solicitó y recibió asesoría para la elaboración de su protocolo, base de su tesis de grado. De éstas, resultó de especial interés la tesis de especialidad de un residente del área de nutrición, para la cual el químico farmacobiólogo Fernando González Domínguez, responsable del Departamento de Diseño y Análisis de Investigaciones, elaboró un programa de cómputo para determinar y calcular los requerimientos nutricionales de los pacientes con deficiencias nutricionales, con el que se espera reducir en 80% el tiempo utilizado para realizar los cálculos de dichos requerimientos, así como los errores generados al hacer dichos cálculos de manera manual, además permitirá generar una base de datos para el seguimiento exacto y oportuno de los pacientes. Este programa de cómputo está siendo evaluado actualmente en la rutina de dicha área clínica.

El Departamento de Biología Molecular e Histoquímica está realizando varios proyectos. La literatura indica que existe una asociación en la frecuencia de alelos de la posición -238 y -308 de la región promotora del gen del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) con enfermedades cuyos agentes etiológicos son intracelulares, tales como leishmaniosis, malaria y lepra.<sup>4-6</sup> Sin embargo los reportes de diferentes poblaciones muestran variaciones en las frecuencias de los alelos de estas regiones, indicando que dichas frecuencias dependen del grupo étnico en estudio. En la población mexicana no se han descrito las frecuencias de estos polimorfismos. La doctora Angélica Olivo Díaz, responsable del área, está analizando los polimorfismos de TNF $\alpha$  en una población aparentemente sana del estado de Puebla, para conocer la frecuencia de los alelos y poder tener referencia cuando se busque asociación con enfermedades. Hasta el momento, el análisis de la posición -238 indica que en la población estudiada hay una mayor frecuencia del alelo 1, similar a la encontrada en la población japonesa.<sup>7</sup> En esta misma población se va a estudiar la frecuencia de los alelos del gen NRAMP1. Este gen, que codifica para la proteína natural de resistencia en macrófagos 1 (NRAMP1), presenta varias regiones polimórficas que se traducen en cambios estructurales en la proteína, ésta se encuentra en

la vacuola fagolisosómica del macrófago y funciona como un transportador de membrana que está asociado a la activación del macrófago y a su actividad microbicida.<sup>8</sup> Existen ciertas evidencias de que algunos de los polimorfismos del gen NRAMP1 pueden participar en la susceptibilidad a desarrollar enfermedades por organismos intracelulares, aunque los estudios en diferentes poblaciones indican que la frecuencia de los alelos, generadores del polimorfismo, varía dependiendo del grupo étnico que se estudie.<sup>9,10</sup> Es importante conocer la frecuencia de dichos alelos en la población mexicana, para así tener una base de datos con la cual comparar cuando se lleven a cabo estudios de asociación con enfermedades, sobre todo con aquellas donde el número de casos es pequeño por su baja incidencia. Actualmente se están estandarizando las ampliaciones para cuatro de los sitios polimórficos. La doctora Olivo también está valorando si la inmunostimulación nutricional por arginina permite controlar la leishmaniosis visceral murina ya que *Leishmania* es un protozooario parásito intracelular obligado, que vive y se multiplica en el interior de la vacuola fagolisosómica del macrófago. El mecanismo por el cual el macrófago destruye al parásito es mediado por la activación de citocinas y la subsiguiente producción de óxido nítrico. Para la formación del óxido nítrico dentro de la vacuola fagolisosómica se requiere arginina.<sup>11</sup> Se ha demostrado que la administración de aminoácidos en individuos desnutridos mejora su respuesta inmunológica a las enfermedades. Los sujetos que desarrollan leishmaniosis visceral pertenecen a un estrato social bajo y probablemente su estado nutricional no sea el adecuado para desarrollar una respuesta inmunológica protectora contra el parásito. En el modelo murino se está valorando si la incorporación en la dieta de arginina en individuos nutridos y desnutridos, afecta la evolución de la enfermedad. Los ratones fueron infectados y tratados con L-arginina, y se está estudiando la evolución de las lesiones. En apoyo al área de otorrinolaringología se está estudiando si existe un fondo genético en el desarrollo de escleroma respiratorio que es una enfermedad crónica granulomatosa de la nariz y las vías aéreas altas, es endémica en varios países y su agente etiológico es *Klebsiella rhinoscleromatis*.<sup>12</sup> En México no se tienen registros exactos sobre su incidencia. Existe un estudio en el que se encontró segregación del alelo HLA-DQ3 en una familia con varios miembros afectados.<sup>13</sup> La doctora Olivo y el doctor Kawa, en colaboración con el área de otorrinolaringología analizaron si existe asociación de alguno de los alelos moleculares del HLA con el desarrollo de escleroma respiratorio. Para ello, se incluyeron nueve pacientes con diagnóstico histopatológico de escleroma respiratorio, que fueron todos los que se presentaron en el hospital durante el 2001. Se tipificaron los alelos de los genes DQA1, DQB1 y DRB1-DR4 por PCR-SSP y por PCR-RFLP. Las frecuencias alélicas obtenidas sugieren

que los genes de la región de clase II están contribuyendo al desarrollo de la enfermedad.<sup>14</sup> La doctora Elvira Fuentes Corona realizó un estudio para valorar leucoplasia en mucosa bucal en individuos fumadores y no fumadores. La leucoplasia es una lesión blanca de la mucosa bucal, cuyo riesgo de transformación maligna está frecuentemente asociado a irritación local, tabaquismo, alcoholismo y deficiencia de vitaminas A y B.<sup>15</sup> Las características citológicas de las lesiones mostraron una muy baja frecuencia de leucoplasia sin diferencias significativas entre los fumadores y no fumadores. El doctora Kawa y la M en C Mirza Romero Valdovinos, en colaboración con el área de cirugía plástica y reconstructiva, están valorando el efecto del oxígeno hiperbárico sobre la respuesta a factores de crecimiento derivados de fibroblastos de cicatrices anormales. La formación de cicatrices queloides e hipertróficas es una alteración bioquímica que se asocia al depósito excesivo de colágena. Existen varios trabajos en los cuales se reporta el papel que desempeñan factores de crecimiento como el factor tumoral de crecimiento (TGF- $\beta$ 1) y el factor de crecimiento tipo insulina (IGF), sobre la modulación de la expresión y síntesis de la colágena y por lo tanto en el desarrollo de cicatrización anormal. La estirpe celular principalmente involucrada en la producción de estos factores celulares es la de los fibroblastos.<sup>16</sup> El oxígeno hiperbárico ha demostrado ser uno de los inhibidores del crecimiento de fibroblastos y queratinocitos.<sup>17</sup> Aunque no se han descrito los mecanismos para que esto ocurra, es probable que los fibroblastos, al ser sometidos al oxígeno hiperbárico, disminuyan la producción de estos factores de crecimiento y por lo tanto disminuya la producción de colágena. Se han establecido cultivos primarios de biopsias provenientes de cicatrices hipertróficas y de piel normal, resultados preliminares sugieren que hay diferencias en el crecimiento y expresión de estos factores entre los diferentes cultivos de fibroblastos.

La M en C Romero, en apoyo a las áreas de ortopedia y de cirugía general, llevó a cabo la caracterización molecular de *Streptococcus pyogenes*, cuyo DNA fue aislado por el grupo de la doctora López Vidal de la Facultad de Medicina de la UNAM. Esta bacteria se aisló de una paciente a la que se le amputó una pierna por fascitis necrotizante. La caracterización molecular permitió demostrar que la cepa corresponde a la bacteria carnívora<sup>20</sup> para lo cual se estandarizó PCR para identificar las exotoxinas A, B, C y SO. Otro ejemplo del apoyo que se da a las áreas clínicas es el estudio que permitió identificar a una mujer nacida en México que nunca había salido del país y que tenía hidatidosis hepática. Se colaboró en el manejo de la paciente y se realizaron estudios epidemiológicos y de biología molecular.<sup>18</sup> La hidatidosis hepática es la parasitosis en el hígado más frecuente en países desarrollados y se considera prácticamente ausente en

México.<sup>19</sup> Es necesario tener cuidado en el futuro para identificar otros pacientes autóctonos con hidatidosis hepática con el fin de tratarlos adecuadamente y a tiempo e identificar las cepas de *Echinococcus granulosus* que infectan a los pacientes en México. En la División de Investigación Epidemiológica, la doctora Pilar Mata Miranda, responsable de la misma, está realizando un estudio epidemiológico y ultrasonográfico en la comunidad donde vive la paciente a la que se le extirpó el quiste hidatídico con el apoyo del doctor Marcos Tawil; este estudio conforma su tesis de maestría. Además, en apoyo al área de urgencias, analizó la información sobre diabetes mellitus y se demostró que 23% de las defunciones en el hospital en los últimos 11 años fue por esta patología, con un incremento de 10% hacia el final del estudio. La proporción de muertes fue mayor en mujeres y la edad al momento del diagnóstico fue ocho años menor con respecto a la década anterior, así como el promedio de la edad de la defunción. Bajo la dirección de la doctora Flisser, la asesoría de la doctora Mata y la participación del área de consulta externa, se realizó un estudio para conocer la prevalencia y detección de teniosis en la preconsulta del hospital. Para esto, entre abril y julio se estudiaron 850 personas en la preconsulta, las cuales recibieron una explicación sobre el ciclo de vida y los factores de riesgo para adquirir cisticercosis y teniosis, contestaron una encuesta para saber si pueden reconocer si tienen solitaria intestinal mediante la identificación visual de proglótidos y donaron una muestra de materia fecal. La prevalencia de teniosis por ELISA para coproantígenos fue de 0.3%, la identificación visual, que permitió saber si alguna vez en su vida habían expulsado proglótidos, fue del 4.9%, ambos datos son comparables a publicaciones previas; también se proporcionó tratamiento cestocida a los casos y se hizo ELISA a sus contactos. Este estudio conformó la tesis de un residente de epidemiología<sup>21</sup> y contó con la participación de estudiantes graduados de la Universidad A&M de Texas.

El Departamento de Ecología de Agentes Patógenos realiza investigaciones sobre *Taenia solium*, que es el céstodo responsable de dos enfermedades: teniosis y cisticercosis. La teniosis se debe al establecimiento del parásito adulto en el intestino delgado del ser humano, su único hospedero definitivo y la cisticercosis es causada por la localización de la larva o cisticerco en el sistema nervioso central, ojo y músculo esquelético del cerdo, su hospedero intermediario, y accidentalmente el ser humano.<sup>22</sup> La teniosis es una infección asintomática, por lo que es difícil identificar a los portadores de *T. solium* intestinal haciendo que la relación hospedero-parásito sea poco conocida. Esto, y la demanda de material biológico para llevar a cabo diversos ensayos de investigación, ha favorecido que se implementen varios modelos experimentales de teniosis en animales de laboratorio infectados

experimentalmente con cisticercos de *T. solium*, los que demostraron que la *Chinchilla laniger* produce proglótidos grávidos y huevos infectivos.<sup>23</sup> Sin embargo aún se desconocen múltiples factores que afectan el desarrollo del gusano adulto, por ello, recientemente se han llevado a cabo estudios para valorar la viabilidad de los huevos de *T. solium* obtenidos del modelo experimental de *Chinchilla laniger* mediante métodos *in vitro* y su correlación con infecciones experimentales en cerdos. El grupo de los doctores Flisser y Pablo Maravilla Campillo infectó chinchillas con cisticercos de *T. solium* recuperando proglótidos grávidos mediante tamizados de heces y gusanos completos a la necropsia de los roedores. Los proglótidos se maceraron y se obtuvieron todos los huevos. Un grupo de huevos se utilizó para infectar cinco cerdos y los huevos restantes se eclosionaron y se dividieron en cinco grupos: uno se utilizó para activar y registrar la movilidad de las oncosferas en un microscopio invertido y en los grupos restantes se usaron los colorantes azul tripano, rojo neutro, yoduro de propidio y MTT. La viabilidad obtenida para los diferentes métodos fue de 7 a 60%. Debido a las variables técnicas que se presentaron en los métodos de viabilidad se sugiere que el yoduro de propidio y el azul de tripano son los colorantes más útiles para cuantificar la viabilidad de los huevos de *T. solium*.<sup>24</sup> El seguimiento de la infección de cerdos se realizó por inmunoelectrotransferencia y se confirmó el diagnóstico por tomografía computada. La necropsia de los cerdos se realizó a los cuatro y seis meses post infección. El porcentaje de establecimiento y desarrollo de cisticercos en los cerdos fue del 0.2% que está dentro del rango de valores reportados en infecciones experimentales empleando huevos de tenias obtenidas de seres humanos.<sup>25</sup>

En la División de Cirugía Experimental uno de los temas de mayor interés es la corrección quirúrgica intrauterina de la gastrosquisis. Esto se debe a que a pesar de que la incidencia de la gastrosquisis es relativamente baja, su mortalidad puede llegar hasta 50%.<sup>26</sup> En la actualidad, el pronóstico de los neonatos con gastrosquisis ha mejorado gracias al manejo en unidades de cuidados intensivos, el uso de ventiladores volumétricos y la nutrición parenteral. A pesar de su tratamiento quirúrgico, los defectos abdominales mayores presentan grandes dificultades en su manejo. Los principales problemas consisten en la pérdida de calor y líquido a través de los órganos eviscerados y la distensión e inflamación de las asas intestinales.<sup>27</sup> Un factor determinante en el pronóstico del recién nacido con gastrosquisis es el estado del intestino delgado al nacimiento. La mayoría de los neonatos presenta un engrosamiento moderado del intestino y su evolución posterior a la reparación quirúrgica es satisfactoria. Sin embargo, un menor grupo de neonatos presenta un daño intestinal más grave,<sup>28</sup> después de la reparación quirúrgica, estos niños sufren hipoperistalsis grave con una pobre

capacidad de absorción, por lo que requieren de periodos prolongados de nutrición parenteral.<sup>29</sup> En general, se acepta que el daño intestinal en la gastrosquisis es causado por la exposición al líquido amniótico, aunque se desconoce el mecanismo exacto de este fenómeno. Es probable que exista un efecto tóxico sobre las células del músculo liso o los nervios mientéricos, o un efecto inhibitorio sobre los receptores para péptidos intestinales o neurotransmisores de acción local. Se piensa que este daño está directamente relacionado con la duración de la exposición del intestino al líquido amniótico.<sup>30</sup> La realización de una intervención quirúrgica intrauterina probablemente sea la mejor solución para algunos problemas fetales, sin embargo, por el riesgo materno-fetal que implica, debe limitarse a aquellas malformaciones que interfieran con el desarrollo normal de los órganos fetales y que pongan en peligro la vida del producto. Harrison y Adzick<sup>31</sup> mencionan que la cirugía fetal se justifica si la historia natural y fisiopatología de la enfermedad están claramente descritas, el diagnóstico prenatal es exacto y puede excluir otras anomalías, si la corrección intrauterina ha demostrado ser eficaz en modelos animales y si el riesgo materno es aceptablemente bajo. El modelo desarrollado por el doctor Eduardo Cárdenas Lailson, responsable del área, en fetos de conejo permite evaluar la factibilidad de la corrección quirúrgica intrauterina de la gastrosquisis. El experimento se realizó en fetos de conejos Nueva Zelanda, los cuales fueron asignados a un grupo experimental (creación quirúrgica de la gastrosquisis y corrección con malla de silicona) o a un grupo control (creación de la gastrosquisis sin reparación intrauterina). Los resultados mostraron que es factible la corrección quirúrgica intrauterina de la gastrosquisis, aunque no se observaron diferencias entre los grupos en los hallazgos histológicos en el intestino delgado. Es probable que el tiempo de permanencia de la malla de silicona no fue suficiente para que se resolvieran los cambios en el intestino fetal, que intervengan otros factores en el daño intestinal o que haya existido filtración de líquido amniótico entre las suturas. Por otro lado, siguiendo la línea de cirugía reconstructiva craneofacial del doctor Ortiz Monasterio y su grupo, quienes adaptaron la tecnología de distracción ósea para resolver problemas de malformaciones craneofaciales que involucran las estructuras óseas del cráneo y la cara,<sup>32</sup> el doctor Antonio Fuente del Campo llevó a cabo un proyecto para valorar la inducción de osteogénesis, para esto se colocaron 16 distractores óseos en ocho perros y se realizaron radiografías y biopsias. Resultados preliminares sugieren que en el periodo de distracción existe una reacción inflamatoria aguda y no hay evidencia de neoformación ósea, mientras que en el de consolidación sí hubo neoformación ósea.

Las principales instancias de apoyo a las actividades de investigación del hospital son tres: el bioterio, las Comisiones de Ética y de Investigación (CEI) y el Comité

Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL). El bioterio, bajo la responsabilidad del MVZ Ramón García Cortés proporcionó animales para cursos y para protocolos, los cuales fueron adquiridos por donación o compra o fueron producidos en el mismo bioterio (Cuadro II). De los 1126 animales producidos o adquiridos, 77% fue utilizados en protocolos y cursos (Cuadro III). El bioterio además mantiene, cuida y prepara a los animales para ser utilizados en los diversos cursos y protocolos. Las CEI realizaron 23 sesiones durante el 2002 en las cuales se dictaminaron 117 protocolos, se aprobaron 91 protocolos, de éstos 62% se aprobó la primera vez que se presentó, 35% en la segunda vez, 1% se aprobó en la tercera vez y 2% sólo hasta la cuarta vez que se presentó a las CEI. Las CEI están constituidas por los siguientes investigadores: doctora Ana Flisser Steinbruch, doctor Simón Kawa Karasik, doctor Alberto Salazar Valadez, doctora Ma. de la Paz Águilar Saavedra, doctor Eduardo Aranda Patrón, doctor Eduardo Cárdenas Lailson, doctor Jacobo Felemovicius Hermangus, doctor Rafael Figueroa Moreno, doctor Miguel Ángel García García, licenciada Gloria Hernández García, doctor Abelardo Meneses García, doctora Sara Parraguirre Martínez, doctor Jorge Peña Ortega, doctor Héctor Reyes Vázquez, doctor Francisco Reynoso Arizmendi, trabajadora social Marisela Sánchez,

doctora Elisa Vega Memije, doctor Rodolfo Vick Fragoso, doctor Samuel Weingerz Mehl y doctor Rogelio Zacarías Castillo.

En el 2002 se instaló el CICUAL cuya función principal es promover y verificar el cuidado humanitario de los animales utilizados en la investigación biomédica, el desarrollo tecnológico y la enseñanza y verificar que las condiciones del medio ambiente en que se alojen reúnan los requerimientos que les permita vivir en buen estado de salud y confort físico. El CICUAL se reunió en cuatro ocasiones en las que revisó los protocolos que incluyen el uso de animales para su análisis y aprobación previa a la de las CEI; se presentaron 14 protocolos, de los cuales 13 fueron aprobados y uno condicionado a la modificación de las propuestas emitidas por el Comité; en estas mismas sesiones se revisaron nueve solicitudes de animales para curso, de las cuales ocho fueron aprobadas y una rechazada. Este Comité quedó integrado por: la doctora Ana Flisser Steinbruch, doctor Simón Kawa Karasik, MVZ Ramón García Cortés, MVZ Joaquín Aguilar Bobadilla, doctor Jorge Audifred, doctor Eduardo Cárdenas Lailson, doctor Alfonso Galván, doctor Pablo Maravilla Campillo, licenciada Gina Martínez Flisser, doctor Mucio Moreno Portillo, doctor Alberto Salazar Valadez, MVZ Héctor Sánchez Castillo y doctora Ma. Elena Trujillo.

**Cuadro II. Animales producidos**

Especie	Donación	Compra	Producción
Cerdos	0	134	0
Perros	89	0	0
Conejos	0	125	0
Ratas	100	0	326
Ratones	0	141	0
Gerbos	69	0	26
Hámsteres	50	0	40
Chinchillas	0	26	0
Total	308	426	392

**Cuadro III. Animales utilizados**

Especie	Curso	Protocolo	Total
Cerdos	41	90	131
Perros	64	4	68
Conejos	72	46	118
Ratas	249	0	249
Ratones	0	120	120
Gerbos	0	40	40
Hámsteres	0	120	120
Chinchillas	0	26	26
Total	426	446	872

## Agradecimientos

A todo el personal de la Dirección de Investigación por su interés en la ciencia y su esfuerzo por llevar a cabo con excelencia las actividades relacionadas con la misma. A los miembros de las Comisiones de Ética y de Investigación y del Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio por su participación entusiasta en las mismas.

## Referencias

1. **Ferguson PR.** Information giving in clinical trials: the views of medical researchers. *Bioethics* 2003;17:101-111.
2. **Alvarez-Castillo F.** Limiting factors impacting on voluntary first person informed consent in the Philippines. *Dev World Bioethics* 2002;2:21-27.
3. **Beecher HK.** Ethics and clinical research. *Bull World Health Org* 2001;79:367-372.
4. **Cabrera M, Shaw M-A, Sharples C, Williams H, Castes M, Convit J, Blackwell JM.** Polymorphism of TNF genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 1995;182:1259-1264.
5. **McGuire W, Hill AV, Allsopp CE, Greenwood BM, Kwiatkowski D.** Variation in the TNF alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994;371:508-510.
6. **Roy S, McGuire W, Mascie-Taylor CGN, Saha B, Hazra SK, Hill AVS, Kwiatkowski D.** Tumor necrosis factor promoter polymorphism and susceptibility to lepromatous leprosy. *J Infect Dis* 1997;176:530-532.
7. **Higuchi T, Seki N, Kamisono S, Yamada A, Kimura A, Kato H, Itoh K.** Polymorphism of the 5-flanking region of the human tumor necrosis factor (TNF)-alpha gene in Japanese. *Tissue Antigens* 1998;51:605-612.
8. **Govoni G, Gros P.** Macrophage NRAMP1 and its role in resistance to microbial infections. *Inflamm Res* 1998;47:277-284.
9. **Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KPWJ, Whittle HC, Hill AVS.** Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med* 1998;338:640-644.

10. **Alcaís A, Sánchez FO, Oberti J, Thuc NV, Hoa LV, Lap VD, Skamene E, Lagrange PH, Schurr E.** Susceptibility to leprosy is linked to the human NRAMP1 gene. *J Infect Dis* 1998;177:133-145.
11. **Green SJ, Meltzer MS, Hibbs JB, Nacy CA.** Activated macrophages destroy intracellular Leishmania major amastigotes by an L-arginine-dependent killing mechanism. *J Immunol* 1990;144:278-286.
12. **Stiernberg C, Clark W.** Rhinoscleroma. A diagnostic challenge. *Laryngoscope* 1983;93:866-870.
13. **Martín-Armendariz LG, Flores-Sandoval G, Terán-Ortiz L, Arroyo-Castelazo MA, Orea-Solano M, Camarena A.** Estudio inmunogenético de una familia con escleroma. *An ORL Mex* 1991;38:99-101.
14. **Sánchez Marín LA.** Escleroma respiratorio y su relación con el HLA en la población mexicana. Tesis de Especialidad en Otorlaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello; 2002.
15. **Frías MM, Zeichner GI, Súchil BL, Ochoa CFJ.** Epidemiología descriptiva del cáncer de cavidad bucal en el Instituto Nacional de Cancerología (1985-1992). *Rev Inst Nal Cancerol Mex* 1997;43:80-85.
16. **Yonai S, Nichter LS, Wellis T, Reinisch J, Nimni M, Tuan T.** Modulation of collagen synthesis by transforming growth factor in keloid and hypertrophic scar fibroblasts. *Ann Plastic Surg* 1994;33:148-151.
17. **Dimitrijevič SD, Paranjape S, Wilson J, Gracy R, Mills J.** Effect of hyperbaric oxygen on human skin cells in culture and in human dermal and skin equivalents. *Wound Rep* 1999;7:53-64.
18. **Palacios-Ruiz JA, Ramírez-Solís E, Moreno-Moller M, Cárdenas-Mejía A, Aguirre-Alcántara MT, Bonilla-Rodríguez C, Mata-Miranda P, Maravilla P, Flisser A.** Identificación y manejo integral de un caso autóctono de hidatidosis en México. *Rev Gastroenterol. Mex.* 2003;68:41-45.
19. **Flisser A.** Larval cestodes. In: Cox F, Kreier JP, Wakelin D, editors: *Topley and Wilson's microbiology and microbial infections*. Vol. 5. ch 28, London: Arnold; 1998. p. 539.
20. **Moses AE, Gidberg S, Korenman Z, Ravins M, Hanski E, Shapiro M.** Invasive group A streptococcal infections. *Israel Emerg Infect Dis* 2002;8:421-426.
21. **Solano M, Mata P, Martínez J, Iglesias L, Flisser A.** Prevalencia y detección de teniosis en la consulta externa del Hospital General "Dr. Manuel Gea González". XV Congreso Nacional de Parasitología. 11-14 de septiembre de 2002, Guanajuato, México.
22. **Flisser A, Madrazo I, Delgado A.** Cisticercosis humana. México: Manual Moderno; 1997. p. 176.
23. **Maravilla P, Avila G, Cabrera V, Aguilar L, Flisser A.** Comparative development of *Taenia solium* in experimental models. *J Parasitol* 1998;84:882-886.
24. **Gómez Díaz B, Maravilla P, Avila G, Flisser A.** Evaluación de la viabilidad in vitro de huevos de *T. solium* y su correlación con la infección en cerdos. XV Congreso Nacional de Parasitología, Guanajuato, Gto; México. 11-14 sept. 2002.
25. **Flisser A, Lightowers MW.** Vaccination against *Taenia solium* cysticercosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:353-356.
26. **Stringer MD, Brereton RJ, Wright VM.** Controversies in the management of gastrochisis. *Arch Dis Child* 1991;66:34-36.
27. **Schwaitzberg SD, Pokorny WJ, Mc Gill CW.** Gastrochisis and omphalocele. *Am J Surg* 1982;144:650-54.
28. **Swift RI, Singh MP, Ziderman DA.** A new regime in the management of gastrochisis. *J Paediatr Surg* 1992;27:61-63.
29. **Langer JC, Longaker MT, Crombleholme TM.** Etiology of intestinal damage in gastrochisis. I: Effects of amniotic fluid exposure and bowel constriction in a fetal lamb model. *J Paediatr Surg* 1989;24:992-97.
30. **Fitzsimmons J, Nyberg DA, Cyr DR.** Perinatal management of gastrochisis. *Obstet Gynecol* 1988;71:910-13.
31. **Harrison MR, Adzick NS.** The fetus as a patient. *Ann Surg* 1991;213:279-91.
32. **Molina F, Ortiz Monasterio F.** Mandibular elongation and remodeling by distraction: a farewell to major osteotomies. *Plast Reconstr Surg* 1995;96:825-840.