



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
“BERNARDO SEPÚLVEDA”

TÍTULO

**DETERMINACIÓN DE LINFOCITOS CD8 E INTERFERÓN GAMMA EN
PACIENTE TRASPLANTADO RENAL CON VERRUGAS ANTES Y A LAS
6 SEMANAS DEL TRATAMIENTO CON ISOTRETINOÍNA**

TESIS

PARA OBTENER EL DIPLOMA
EN LA ESPECIALIDAD DE DERMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. ISABEL GALINDO NORIEGA

TUTOR PRINCIPAL:

DRA. ALICIA LEMINI LÓPEZ

CO-TUTOR:

DRA. LAURA CECILIA BONIFAZ ALFONSO

CO-TUTOR:

DRA. FANY GABRIELA JUÁREZ AGUILAR



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2022.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



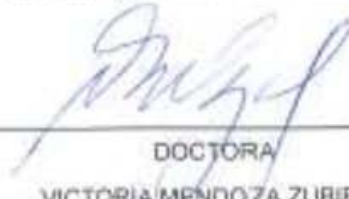
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

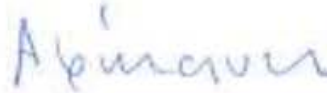
DETERMINACIÓN DE LINFOCITOS CD8 E INTERFERÓN GAMMA EN PACIENTE
TRASPLANTADO RENAL CON VERRUGAS ANTES Y A LAS 6 SEMANAS DEL
TRATAMIENTO CON IBOTRETINOÍNA



DOCTORA

VICTORIA MENDOZA ZUBIETA

JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACION EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI



DOCTORA

ADRIANA ANIDES FONSECA

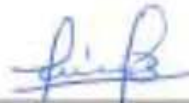
PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD DE DERMATOLOGÍA, HE CMN SIGLO XXI



DOCTORA

DRA. ALICIA LEMINI LÓPEZ

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE DERMATOLOGÍA, HE CMN SIGLO XX



DOCTORA

DRA. FANY GABRIELA JUÁREZ AGUILAR

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE PATOLOGÍA, HE CMN SIGLO XXI



DOCTORA

DRA. LAURA CECILIA BONIFAZ ALFONSO

INVESTIGADORA TITULAR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN
INMUNOHISTOQUÍMICA, HE CMN SIGLO XX

ACTA DEL COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACION CON DICTAMEN DE APROBADO

001/11/21

SIRELCIS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud 3601.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES Dr. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS 17 CI 09 015 034
Registro CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA 09 CEI 023 2017082

FECHA Martes, 26 de enero de 2021

M.C. LEMINI LOPEZ ALICIA

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Determinación de linfocitos CD8 e interferón gamma en paciente trasplantado renal con verrugas antes y a las 6 semanas del tratamiento con interferón** que someti a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**.

Número de Registro Institucional

R-2021-3601-003

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. Carlos Wedy Cuevas García
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3601


Impreso

IMSS

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por apoyarme en este largo trayecto y motivarme para cumplir mi meta.

A todos mis maestros que han aportado en mi vida conocimientos y herramientas
necesarias para realizarme como dermatóloga.

A mis compañeros, con quienes compartí 3 años de los más trascendentes en mi vida.

ÍNDICE:

RESUMEN.....	6
MARCO TEORICO.....	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
JUSTIFICACIÓN.....	17
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	18
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS	19
PACIENTES Y MÉTODOS	20
DISEÑO DEL ESTUDIO.....	23
CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL ESTUDIO	23
TAMAÑO DE LA MUESTRA Y ANALISIS ESTADÍSTICO.....	24
VARIABLES:.....	25
CONSIDERACIONES ÉTICAS:	27
RESULTADOS.....	28
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES:.....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXOS	48

RESUMEN

Título: Determinación de la densidad de células positivas a linfocitos CD8 e interferón gamma en paciente trasplantado renal con verrugas, antes y a las 6 semanas del tratamiento con isotretinoína.

Antecedentes: Las verrugas son neoformaciones benignas, producidas por el virus del papiloma humano (VPH), las cuales afectan piel y/o mucosas. La mayoría de los pacientes que presentan verrugas eventualmente desarrollan una respuesta mediada por la inmunidad humoral y celular. Por ello, esta infección es más frecuente y grave en pacientes inmunosuprimidos y más común en niños que no han desarrollado defensas inmunitarias frente a estos virus. No existe un tratamiento antiviral específico para el VPH, pero algunas de las terapias disponibles interfieren con el ciclo de vida del virus. El mecanismo mediante el cual la isotretinoína ha mostrado mejoría clínica en verrugas aún no se ha dilucidado, pero se sabe que tiene efecto sobre el crecimiento y diferenciación epidérmica; también hay evidencia que disminuye la transcripción del virus en las células afectadas.

Objetivo: Determinar la densidad de células positivas a linfocitos CD8 e interferón gamma en pacientes trasplantados renales con verrugas, antes y a las 6 semanas de tratamiento con isotretinoína.

Material y métodos: Se realizó un estudio longitudinal prospectivo y analítico; se reclutaron pacientes mayores de 18 años trasplantados renales, valorados en el servicio de dermatología con diagnóstico clínico de verrugas planas, plantares, vulgares o genitales que tuvieran más de 6 meses con la dermatosis y tratamiento previo sin mejoría o con recidiva. Se determinó la densidad de células positivas a Interferón gamma (IFN gamma) y linfocitos T CD8 mediante inmunofluorescencia, en la piel de la verruga, el día 0 y la sexta semana del tratamiento con isotretinoína a dosis de 20mg al día, vía oral.

Resultados: De 153 pacientes con trasplante renal, 43 presentaron verrugas, de los cuales 14 pacientes tuvieron un comportamiento recalcitrante, con una prevalencia de 32.56%. Sólo siete pacientes completaron el protocolo, de los cuales se encontró que la densidad de células positivas a interferón gamma presentó un aumento a la semana 6 de uso de isotretinoína 20mg/día, en 5 de 7 pacientes (71.4%). La densidad de células positivas a linfocitos CD8 presentó un aumento a la semana 6 de uso de isotretinoína 20mg/día, en 4 de 7 pacientes (57.14%). La mejoría clínica valorada a las 12 semanas del inicio de isotretinoína fue mayor al 50% en 4 de 7 pacientes (57.14%). Sin embargo no hubo diferencia significativa con respecto a la densidad de INF γ y CD8+ pre (8.1 vs 14.14; $p=0.116$) y a la semana 6 (21 vs 14; $p= 0.866$) con isotretinoína.

Conclusiones: A pesar que los resultados del estudio no fueron significativos, los pacientes con trasplante renal y verrugas presentaron tendencia al aumento de la densidad posterior al tratamiento con isotretinoína, por lo que es necesario realizar más investigaciones con mayor número de voluntarios.

Palabras claves: interferón gamma, linfocitos T CD8, trasplante renal.

1.DATOS DEL ALUMNO	
APELLIDO PATERNO	GALINDO
APELLIDO MATERNO	NORIEGA
NOMBRE	ISABEL
TELEFONO	6862216376
UNIVERSIDAD	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD O ESCUELA	Facultad de Medicina
CARRERA/ESPECIALIDAD	Dermatología
No. DE CUENTA	519233876
CORREO ELECTRÓNICO	draisabelgalindo@gmail.com
2. DATOS DE LOS TUTORES	
TUTOR PRINCIPAL:	<p>DRA. ALICIA LEMINI LOPEZ Especialista en Dermatología Médico adscrito del servicio de Dermatología y Micología Médica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Teléfono: 56276900 ext. 21539 E-mail: alemninil@yahoo.com.mx</p>
CO-TUTOR	<p>DRA. LAURA CECILIA BONIFAZ ALONSO Investigadora titular de la unidad de investigación en inmunohistoquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Teléfono 56276900 ext. 21370 E-mail: labonifaz@yahoo.com</p>
CO-TUTOR	<p>DRA. FANY GABRIELA JUÁREZ AGUILAR Especialista en Patología Médico adscrito del servicio de Patología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Teléfono: 56276900 ext. 21355 E-mail: fanygabi@hotmail.com</p>
3.DATOS DE LA TESIS	
TITULO	Determinación de linfocitos CD8 e interferón gamma en paciente trasplantado renal con verrugas , antes y a las 6 semanas del tratamiento con isotretinoína.
No. DE PAGINAS	56
AÑO	2022
NUMERO DE REGISTRO	R-2021-3601-003

Determinación de linfocitos CD8 e interferón gamma en paciente trasplantado renal con verrugas, antes y a las 6 semanas del tratamiento con isotretinoína

1.- MARCO TEORICO.

Las verrugas son neoformaciones de etiología benigna que afectan piel y mucosas causadas por la infección de papilomavirus (VPH). Estos comprenden una gran familia de ADN virus hallados en los seres humanos y muchas otras especies. Se han secuenciado más de 100 tipos de papilomavirus humano y se clasifican en tipos cutáneos, mucogenitales y los que se suelen aislar de la epidermodisplasia verruciforme [1].

La infección genital por VPH suele producirse por contacto íntimo, mientras que la infección en piel no genital se produce por contacto directo de piel a piel, o indirectamente, a través de superficies y objetos contaminados. Presentan una elevada especificidad de especie; su ciclo vital solo se completa en epitelios escamosos completamente diferenciados. La infección productiva y la inducción de hiperproliferación se inician cuando el virus penetra en las células epiteliales basales en proliferación donde por transcripción de sus genes tardíos L1 y L2 (inmunogenes más poderosos que el VPH sintetiza) le permite escaparse del reconocimiento y la vigilancia inmune del huésped. Como el VPH infecta solamente queratinocitos, no cursa con un periodo de viremia ni alcanza los órganos linfoides regionales, no es reconocido por las células de Langerhans que están a cargo de la inducción de la inmunidad dependiente de células T. La capa basal de la epidermis normalmente no es accesible para el virus, por lo que es probable que requiera una abrasión o un traumatismo en el epitelio [2].

En el ciclo de infección del VPH no hay citólisis como consecuencia de la replicación y ensamblaje del virus, por lo tanto no se produce estimulación de la inflamación, habiendo poca o nula liberación de citocinas proinflamatorias importantes para el reclutamiento, activación y migración de células presentadoras de antígeno y de células efectoras inmunes al sitio infectado. Tampoco hay fase sanguínea o virémica por lo que solo mínimas cantidades del virus son expuestas a la

defensa inmune, siendo prácticamente invisible para el hospedero por un largo periodo de tiempo[3].

La "ignorancia" del hospedero por la infección del VPH permite que este virus replique su ciclo y de paso a la persistencia del mismo. Las proteínas tempranas E6 y E7 son elementos para el proceso de transformación y causan que las células epiteliales no hagan apoptosis. También se ha demostrado que la proteína E6 inhibe la interacción de la célula epitelial con la célula dendrítica; la E6 y la E7 bloquean la producción de interferón tipo 1 en las células infectadas e inhiben la actividad de las proteínas quimiotácticas. Las proteínas tardías L1 y L2 son producidas hasta que el virus se encuentre en la mayor parte de la superficie [4]

Tras la inoculación experimental del papilomavirus suele aparecer una verruga dentro de los 2 a 9 meses. Esto implica un periodo relativamente prolongado de infección subclínica [1].

La remisión espontánea de la infección, sobre todo en niños puede ocurrir después de unos cuantos meses con una remisión completa en el 50 % de los casos al año, y con un 66 % a los 2 años. Sin embargo, las verrugas en los adultos pueden tardar mucho más en remitir, y la persistencia por 5-10 años no es rara [5]. La disminución de la frecuencia de verrugas con la edad implica que con el tiempo, se desarrolle resistencia a la infección y gran parte de esta puede ser inmunitaria. Los individuos con alteración en la inmunidad mediada por células muestran particular susceptibilidad a la infección persistente de VPH y son notoriamente resistentes al tratamiento. Las verrugas son comunes en los pacientes sometidos a trasplante renal o de otros órganos sólidos que reciben tratamiento con inmunosupresor [1].

Las formas clínicas más frecuentes son las verrugas vulgares o comunes (70%), las verrugas plantares (26%) y las verrugas planas (4%) [6].

- Las verrugas comunes son pápulas o placas cupuliformes, exofíticas e hiperqueratósicas que habitualmente se asocian a los VPH-1, 2, 4, 27 o 57. Este tipo de verrugas se localizan sobre todo en los dedos y las superficies dorsales de las manos, o en otros lugares propensos a traumatismos, como rodillas y codos, aunque pueden afectar cualquier parte de la superficie cutánea.

- Las verrugas palmares y plantares se presentan como pápulas endofíticas gruesas, con una suave pendiente en los laterales y una depresión central, simulando la forma de la entrada de un hormiguero. En las plantas las lesiones son a menudo dolorosas por la presión al caminar, debido a su desarrollo en profundidad. Las verrugas plantares que confluyen en grandes placas se denominan verrugas en mosaico.
- Las verrugas planas son pápulas con la parte superior plana, del color de la piel, rosadas o pardas, de superficie relativamente lisa y algo elevadas, habitualmente localizadas en el dorso de las manos, los brazos o la cara, a menudo en disposición lineal, usualmente son provocadas por los VPH-3 o 10 y con menor frecuencia, por los VPH-28 y 29.
- Los condilomas acuminados o verrugas anogenitales, se forman en los genitales externos, periné, perianalmente o en áreas adyacentes, como el pliegue inguinal y el monte de Venus. Las lesiones pueden extenderse a la vagina, la uretra o el conducto anal. Habitualmente los condilomas son papilomas o verrugas acuminadas exofíticas de superficie lisa, sésiles y aislados, pueden ser del color piel, pardos o blanquecinos; carecen de la gruesa coraza de escamas queratinosas presentes en las verrugas cutáneas y con frecuencia, miden de uno a varios milímetros de diámetro. También se presentan como papilomas pedunculados o de base ancha, de hasta varios centímetros de diámetro o como extensas placas confluentes [2].

En un estudio Gerd Gross y colaboradores examinaron 40 verrugas concluyendo que existe una correlación limitada entre el tipo de virus y la histología de las lesiones, ya que ésta también depende de la localización anatómica y la presentación clínica. Las principales características histopatológicas encontradas en las verrugas plantares fueron: hiperqueratosis con ortoqueratosis y paraqueratosis especialmente en la parte superior de las papilas, acantosis y papilomatosis, cuerpos de inclusión similares a nucléolos eosinofílicos y esféricos que aparecen primero en el núcleo de las células basales; en paralelo se pueden observar gránulos eosinofílicos en el citoplasma de las células escamosas; se pueden encontrar gránulos de queratohialina en el citoplasma y vacuolización en la capa escamosa. En las verrugas comunes encontraron un alto grado de ortoqueratosis y paraqueratosis, acantosis y papilomatosis, hipergranulosis con

condensación de gránulos de queratohialina y vacuolización en la capa granular. En las verrugas planas encontraron principalmente hiperqueratosis en patrón de canasta, acantosis, puede haber o no papilomatosis, vacuolización en ojos de pájaro caracterizada por vacuolas perinucleares y núcleo basófilo picnótico [7].

En la actualidad no se dispone de un tratamiento antivírico específico que cure la infección por VPH. Las modalidades terapéuticas existentes se centran principalmente en la destrucción o eliminación de las lesiones visibles o la inducción de la citotoxicidad de las células infectadas [2].

Estos son algunos tratamientos utilizados:

- **Ácido salicílico:** el ácido salicílico tópico es un queratolítico y también puede estimular la inmunidad local [8]. Éste se aplica directamente sobre la verruga y no debe extenderse más allá de 12 semanas sin supervisión médica. La irritación local de la piel es un efecto secundario común [9].
- **Crioterapia:** la crioterapia con nitrógeno líquido es un tratamiento común con una tasa de curación que oscila entre el 14-90%. Se debe aplicar con precaución en los dedos para evitar dolor intenso y neuropatía [9].
- **Bleomicina intralesional:** es un agente quimioterapéutico que puede ser efectivo para las verrugas a través de sus efectos citotóxicos y antivirales [9]. Los principales efectos secundarios son el dolor de la inyección que dura de uno a dos días, seguido de necrosis tisular con formación de escara. No se recomienda su uso en niños, embarazadas o inmunosuprimidos [10].
- **Fluorouracilo:** tópico o intralesional puede ser un tratamiento útil por sus efectos antineoplásicos y antimetabólicos que inhiben la síntesis de ADN y ARN y la proliferación de las verrugas. Con tasas de curación alrededor del 50% [9].
- **Cantaridina 0.7%:** Este agente produce ampollas mediante la producción de acantolisis. Sus ventajas son la aplicación indolora y la facilidad de tratar verrugas múltiples. Se puede aplicar cada 3 semanas y si después de 4 aplicaciones no hay una respuesta evidente, es apropiado cambiar de tratamiento [8].

- Imiquimod 5% crema: es un inmunomodulador que estimula las citocinas incluyendo al interferón alfa, interleucina 1, interleucina 6, factor de necrosis tumoral alfa y factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos; se utiliza en las verrugas anogenitales, su uso en verrugas extragenitales no ha sido evaluado formalmente [11].
- Retinoides: el crecimiento y la diferenciación epidérmica se ven interrumpidos por los retinoides, por lo que se ve afectado el crecimiento de las verrugas. Además existe evidencia de que pueden regular negativamente la transcripción del VPH en las células afectadas por lo que son potentes inmunomoduladores. Estos pueden administrarse por vía tópica o sistémica [11].

Dada a la inmunodepresión de los pacientes con trasplante renal, las infecciones por el VPH son más frecuentes y persistentes, con mayor probabilidad de progresión a neoplasia [2]. Por ejemplo, el carcinoma espinocelular anogenital invasivo es 10 veces más común en estos pacientes. Dichos hallazgos están relacionados particularmente con los subtipos 16 y 18. La incidencia y persistencia de las lesiones relacionadas al VPH se relacionan con el tiempo y la gravedad de la inmunosupresión. La prevalencia de las verrugas es hasta 50 % en pacientes trasplantados renales con una sobrevivida de más de 5 años. Un estudio grande encontró que los pacientes receptores de aloinjerto renal mostraron una PCR positiva para VPH-16 con una prevalencia del 47% contra 12.4% en comparación con pacientes no inmunosuprimidos [12]. Razón por la cual estos pacientes presentan altas tasas de fracaso al tratamiento, por lo que el empleo de un medicamento sistémico podría estar indicado.

Isotretinoína y verrugas en piel y mucosas.

La isotretinoína, mejor conocido como ácido 13-cis-retinoico, es un medicamento sintético empleado en el tratamiento del acné vulgar. El mecanismo de acción se basa en la inducción de la expresión de proteínas pro-apoptóticas como factor de necrosis tumoral; además regula la proliferación celular uniéndose a los receptores nucleares del ácido retinoico. También disminuye

la síntesis de poliaminas y el proceso de queratinización, por lo cual contribuye a propiedades antiinflamatorias y antiproliferativas [13].

El uso de Isotretinoína se asocia con una amplia gama de efectos adversos mucocutáneos y extracutáneos. Los efectos secundarios mucocutáneos son los más comunes e incluyen queilitis, piel y mucosas secas, epistaxis, escamas, fotosensibilidad y prurito; éstos dependen de la dosis. También se asocia con el riesgo de anomalías oculares como sequedad, irritación y conjuntivitis, relacionadas con la disfunción de las glándulas meibomianas. Además causa abortos espontáneos y malformaciones congénitas graves que amenazan la vida [14]. Algunas publicaciones médicas han reportado que los pacientes que toman isotretinoína presentan depresión e intento de suicidio; sin embargo, no hay consenso al respecto [15].

Existen algunos estudios donde se evaluó la efectividad de la isotretinoína como tratamiento de verrugas recalcitrantes:

- En 1989 Olsen y colaboradores, realizaron un estudio comparativo entre el uso de interferón alfa e isotretinoína para el tratamiento de condiloma acuminado recalcitrante; los resultados indicaron que el interferón alfa fue más eficaz que la isotretinoína para reducir el área de la verruga a la sexta semana [16].
- En el 2004 S. Georgala y colaboradores realizaron un estudio doble ciego donde se evaluó el uso de isotretinoína 0.5mg/kg/día durante 12 semanas comparado con placebo, en pacientes con condiloma acuminado recalcitrante. De los 28 pacientes evaluados del grupo 1 (isotretinoína), nueve (32.1%) presentaron remisión total de las verrugas, 11 (39,2%) presentaron una reducción de tamaño mayor al 50%, y ocho (28.5%) una reducción de tamaño menor al 50%. De los 25 pacientes del grupo 2 (placebo), dos (8%) respondieron parcialmente y 23 (92%) no respondieron [17].
- En el 2012 Al-Hamamy y colaboradores evaluaron la eficacia de una dosis baja de isotretinoína en el tratamiento de verrugas planas; se incluyeron 31 pacientes con verrugas planas recalcitrantes, se les administró una dosis acumulada de 30mg/kg en un periodo de dos meses. Sólo 26 completaron el estudio, 19 (73.07%) pacientes mostraron

una respuesta completa, 7 pacientes (26.92%) no mostraron respuesta. La diferencia fue estadísticamente significativa. 15 pacientes (78.94%) de los 19 pacientes que tenían una respuesta completa estaban libres de verrugas al final del 4to mes de seguimiento [18].

- En el 2013 Olgún García y colaboradores realizaron un estudio doble ciego donde se evaluó el uso de isotretinoína oral comparado con placebo en pacientes con verrugas planas recalcitrantes. Al primer grupo (16 pacientes) se le administró 30mg/día de isotretinoína y al segundo grupo (15 pacientes) se le administró placebo, ambos durante 12 semanas. Al final del estudio la mediana del número de verrugas fue cero para el grupo de isotretinoína y 40 en el grupo de placebo. El 87.5% de pacientes con isotretinoína presentaron una respuesta completa, mientras que en el grupo placebo ninguno tuvo respuesta completa. [19].

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El virus del papiloma humano es una de las infecciones más frecuentes en pacientes con trasplante renal. En la consulta externa del servicio de dermatología de CMN SXXI, se han valorado 153 pacientes con trasplante renal en el periodo marzo 2016 a marzo 2020, de los cuales 43 pacientes presentaron verrugas. Si bien está descrito que las verrugas pueden remitir espontáneamente mediante la respuesta inmune efectiva mediada por células; en pacientes inmunosuprimidos la infección puede ser recalcitrante y la importancia de un tratamiento oportuno y eficaz radica en que una verruga persistente predispone el desarrollo de carcinoma epidermoide.

El ciclo de infección del VPH va en estrecha relación con la forma de diferenciación del queratinocito, disminuyendo sus vías de señalización inmune, con lo cual hay poca o nula liberación local de citocinas proinflamatorias, importantes para el reclutamiento, activación y migración de las células presentadoras de antígenos, así como el reclutamiento de células de inmunidad adaptativa.

Aun no existe un tratamiento específico para las verrugas. La mayoría están enfocados en destrucción del epitelio infectado, induciendo muerte celular y la respuesta inmune. Otras terapias interfieren en el ciclo vital del virus.

Se ha propuesto que los retinoides modifican la queratinización y pueden inhibir la replicación y ensamblaje del virus. También se ha sugerido que pueden tener efecto inmunomodulador. Existen pocos estudios que comprueben la eficacia y esclarezcan los mecanismos inmunopatológicos de la isotretinoína oral en el tratamiento de verrugas.

En el servicio de dermatología de Centro Médico Nacional Siglo XXI, existen pacientes con trasplante renal que cursan con verrugas durante un periodo prolongado, y se ha podido constatar la falta de respuesta a los tratamientos convencionales, por lo que el uso de isotretinoína podría ser una alternativa terapéutica en estos pacientes.

3.- JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, se ha incrementado en número de pacientes con trasplante renal y la infección por virus del papiloma humano es una de las dermatosis más frecuentes en estos pacientes. En base a un estudio previo de este hospital donde se realizó un reporte de casos de 3 pacientes con trasplante renal y verrugas recalcitrantes y se determinó la expresión linfocitos T CD8+ e Interferón gamma antes y después del tratamiento con isotretinoína durante 12 semanas, se evidenció un aumento en la expresión de estos marcadores inmunológicos en 2 pacientes mayor al 90%, y en 1 paciente no se evidenció un aumento significativo; sin embargo sí presentó una mejoría clínica, por lo que se concluyó que probablemente la razón por la cual no aumentó la expresión fue que el nadir de la respuesta inmunológica ya había pasado al momento de la toma de la biopsia de control a las 12 semanas. Es por eso que determinar la expresión de linfocitos CD8+ e interferón gamma en las verrugas, antes y después de 6 semanas de tratamiento de isotretinoína en los pacientes con trasplante renal, podría ser de utilidad para evaluar la mejoría en la inmunidad. El balance riesgo beneficio se inclina hacia el beneficio para el paciente que tendrá la oportunidad de recibir un tratamiento nuevo ya que los previos no han resuelto su dermatosis y la persistencia de la dermatosis podría favorecer la diseminación de la dermatosis y que presentara complicaciones como cáncer de piel asociada a virus de papiloma humano. El beneficio para la sociedad es que con la toma de biopsia se podrá conocer la respuesta inmunológica local. El riesgo de tomar la biopsia de piel se compensa con los beneficios comentados previamente. El riesgo del estudio se reduce al apegarse a los criterios de inclusión y exclusión, así como el seguimiento estricto de los pacientes.

4.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e interferón gamma, en la biopsia de piel, en paciente trasplantado renal con verrugas, antes y a las 6 semanas de tratamiento con isotretinoína?

5.- HIPÓTESIS

General

El uso de isotretinoína aumentará la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e Interferón gamma de pacientes trasplantados renales posterior a su administración.

Hipótesis de trabajo

H1.- La administración de isotretinoína a las 6 semanas de tratamiento produce una disminución de verrugas en pacientes trasplantados renales a través de un aumento en la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e interferón gamma en comparación con el inicial.

H0.- La administración de isotretinoína durante 6 semanas de tratamiento no aumentará la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e Interferón gamma en pacientes trasplantados renales.

6.- OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e interferón gamma en piel de paciente trasplantado renal con verrugas, el día cero y a la sexta semana del tratamiento con isotretinoína en el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Objetivos específicos:

- a) Describir las características sociodemográficas en pacientes trasplantados renales con verrugas.
- b) Identificar la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e interferón gamma en pacientes trasplantados renales con verrugas antes del tratamiento con isotretinoína.
- c) Identificar la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e interferón gamma en pacientes trasplantados renales con verrugas después del tratamiento con isotretinoína.
- d) Establecer las diferencias entre la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e interferón gamma, antes y a las 6 semanas del tratamiento con isotretinoína.

7.- PACIENTES Y MÉTODOS

Se invitó a participar a pacientes mayores de 18 años, trasplantados renales con diagnóstico clínico de verrugas vulgares, planas, plantares o genitales, que acudieron al servicio de Dermatología del Hospital de especialidades Siglo XXI del IMSS, en el periodo de diciembre 2020 a mayo 2021. No se incluyeron menores de edad, embarazadas ni grupos subordinados, que se explican en los criterios de selección.

Plan de trabajo: Los investigadores responsables fueron un médico residente de quinto año y un médico de base adscritos al servicio de dermatología, quienes seleccionaron a los pacientes con diagnóstico de verrugas plantares, planas, vulgares o genitales recalcitrantes que acudieron a la consulta. Cada paciente fue invitado a participar libremente, la invitación e información del estudio se dio por un médico distinto al médico tratante, y en caso de aceptar se firmó una hoja de consentimiento informado aprobado por el comité local de ética e investigación del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional siglo XXI, IMSS.

Se realizó un interrogatorio clínico relacionado con el tema de estudio, se recabó información de ficha de identificación (nombre, género, edad, lugar de origen y residencia, estado civil, y ocupación), antecedentes no patológicos (hábito tabáquico, consumo de alcohol, y consumo de drogas), y antecedentes patológicos (hipertensión, diabetes, dislipidemia, otras patologías, tiempo de evolución de la dermatosis, variedad clínica, grado de afección clínico, tratamientos previos y actuales).

Se realizó exploración física, se recabaron datos antropométricos (peso, talla e IMC), signos vitales (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y tensión arterial) y se determinó el número de verrugas, el grosor de las mismas y la superficie corporal afectada.

Se analizaron los estudios de laboratorio que incluyó biometría hemática completa, glucosa, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos, pruebas de función hepática, y en el caso de mujeres en periodo reproductivo prueba de embarazo inmunológica.

Toda la información se anotó en una hoja de captación de datos. Al contar con la información necesaria de cada paciente, se realizó el análisis de resultados de acuerdo con el cronograma de actividades.

Para la toma de biopsia en sacabocado, se consensuó al paciente para determinar el sitio a realizar. Se realizó aseo del área, se infiltró con xilocaina, con un sacabocado de 5 mm se tomó el fragmento de piel. Se suturó con nylon y se retiraron los puntos 7 días posteriores al procedimiento. Se envió la muestra al servicio de patología de HE CMN SXXI.

Para la Inmunofluorescencia:

A partir de tejidos embebidos en parafina y después de haber realizado cortes de tejido en criostato. Se realizaron cortes de 5 – 10 μm .

Se desparafinaron los tejidos durante 40 minutos en un horno a 70°C.

Se pasaron los tejidos a un tren de solventes para rehidratar los tejidos, el cual consiste en:

Xilol – 5 minutos.

Xilol – 5 minutos.

Xilol – etanol (50/50) – 5 minutos.

Etanol 100%, etanol 80%, etanol 80%, etanol 50%, agua destilada – cada uno durante 5 minutos.

Se lavó con PBS, 5 minutos.

Buffer de citratos disuelto en agua destilada ó agua miliQ. Si no se contaba con el buffer de citratos comercial, se realizó una solución de citrato de sodio 10mM. Se colocaron los tejidos en baño María (90 °C, 15 minutos).

Se enfriaron buffer de citratos.

Se lavó con PBS, 5 minutos.

Para evitar la unión inespecífica de los anticuerpos y permeabilizar, se incubó con una solución de albúmina sérica bovina 10 mg/ml, suero normal de caballo 5%, azida de sodio 0.02% y tritón

x-100 al 0.5% (solución de bloqueo y permeabilización) durante 40 minutos. En el caso de los marcadores membranales, se incubó con una solución como la anteriormente mencionada pero sin la adición de tritón x-100 (solución de lavado).

Se adicionó 30 μ L de anticuerpo primario al tejido. (TOX Rabbit polyclonal; ThermoScientific y CD4 Monoclonal mouse; DAKO) y se dejó incubar toda la noche en cámara húmeda a 4°C.

Al día siguiente, se realizaron 5 lavados con la solución de lavado, 5 minutos por cada lavado.

Se incubó con el anticuerpo secundario (Anti-Rabbit – AF488 y anti-mouse – AF594) durante 2 horas.

Se realizaron 5 lavados con PBS, 5 minutos por cada lavado.

Se adicionó Hoescht 33285 a una dilución 1:2000 durante 10 minutos.

Se realizaron 2 lavados con PBS, 5 minutos por cada lavado.

Se montaron con el medio Vectashield y almacenar a 4°C.

Datos del microscopio:

Las imágenes se adquirieron en un microscopio invertido Nikon Ti Eclipse, equipado con un sistema de adquisición de imágenes A1, ambos controlados desde el software NIS Elements v.4.5.0. Las imágenes se tomaron utilizando un objetivo de 20x (sin inmersión, NA 0.8) o 60x (inmersión de aceite, NA 1.4). Los colorantes fueron excitados en modo secuencial utilizando los láseres proveídos por el fabricante: 403 nm (Hoechst), 488 nm (colorante verde) y 563 (colorante rojo). Las emisiones correspondientes serán registradas en los siguientes rangos: 425-475 nm (Hoechst), 500-550 nm (verde) y 570-620 nm (rojo) utilizando los filtros y espejos dicróicos del fabricante. Las imágenes fueron obtenidas y analizadas utilizando el software NIS Elements v.4.5.0 e ImageJ v.

8.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Por su temporalidad, longitudinal prospectivo. De acuerdo a su objetivo analítico.

9.- CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL ESTUDIO

a) Criterios de inclusión:

- 1) Ambos géneros
- 2) Pacientes mayores de 18 años
- 3) Trasplante renal
- 4) Diagnóstico clínico de verrugas vulgares, planas, palmo-plantares, y/o genitales, que tengan por lo menos 6 meses de evolución y hayan cursado con al menos un tratamiento previo.
- 5) Pacientes candidatos a isotretinoína vía oral.
- 6) Aceptar participar de manera voluntaria y firmen consentimiento informado.

b) Criterios de exclusión:

- a) Pacientes con niveles de las enzimas hepáticas, más de tres veces del nivel normal.
- b) Pacientes con niveles de triglicéridos mayor de 200 mg/dL
- c) Pacientes con antecedentes de enfermedades psiquiátricas
- d) Pacientes mujeres con prueba de embarazo positiva
- e) Pacientes con hipersensibilidad conocida a isotretinoína

c) Criterios de eliminación:

- a) Pacientes que desarrollen efectos adversos graves como hipersensibilidad al fármaco.
- b) Pacientes que presenten valores por encima del doble del valor basal de enzimas hepáticas durante el tratamiento con isotretinoína.
- c) Pacientes que presenten valores por encima del doble del valor basa de triglicéridos o colesterol durante el tratamiento con isotretinoína.

10.- TAMAÑO DE LA MUESTRA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó un tamaño de muestra de 39 pacientes, con base a un estudio previo de este hospital donde de 153 pacientes con trasplante renal, 43 presentaron verrugas. Sin embargo por cuestiones de pandemia COVID-19, el hospital disminuyó el número de consultas otorgadas en el periodo comprendido de marzo 2020 hasta mayo 2021. Participaron 14 pacientes de los cuales 4 fueron excluidos porque el diagnóstico histológico no fue de verruga viral, 1 paciente fue excluido por no completar el protocolo y 2 pacientes excluidos porque la inmunofluorescencia no fue concluyente. Se analizó un total de 7 pacientes.

Muestreo: se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia de casos prevalentes. Se incluyeron todos los pacientes trasplantados renales que acudan a consulta externa del servicio de dermatología del Hospital de especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS que cursen con diagnóstico de verrugas, confirmado por estudio histopatológico, y que acepten participar en el estudio, en el periodo de diciembre 2020 a mayo 2021.

Análisis estadístico: Para el análisis de información se realizó estadística descriptiva con frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas y medianas con rangos intercuartiles de acuerdo a la distribución de las variables realizando la prueba de normalidad de Shapiro Wilks para menos de 50 pacientes.

Para el análisis de estadística inferencial, se realizó comparación de medianas de las dos mediciones en el tiempo 0 y a las 6 semanas con la prueba de Wilcoxon.

Se consideró un $p < 0.05$ como significativa.

Se diseñó una base de datos en Excel para captura de información y se utilizó el programa SPSS versión 26 para el análisis estadístico.

11.-VARIABLES:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Indicador	Clasificación causa-efecto
Isotretinoína	Retinoide inductor de la expresión de proteínas pro-apoptóticas como factor de necrosis tumoral	Medicamento sistémico regulador de la proliferación celular y de la queratinización epidérmica. Dosis 20mg al día.	Cualitativa nominal	Sí =1 No =2	Variable independiente
Densidad de células positivas a linfocitos CD8+	Subpoblación de linfocitos T encargados de las funciones efectoras de la inmunidad celular.	Número de células positivas a anticuerpos inmuno fluorescentes dirigidos contra linfocitos T CD8 por milímetro cuadrado	Cuantitativa continua	Células/mm ²	Variable dependiente
Densidad de células positivas a interferón gamma	Proteínas secretadas por las células hospederas como respuesta a la presencia de diversos patógenos, tales como virus, bacterias, parásitos y células tumorales.	Número de células positivas a anticuerpos inmuno fluorescentes dirigidos contra interferón gamma por milímetro cuadrado	Cuantitativa continua	Células/mm ²	Variable dependiente
Mejoría clínica	Mejoría que un profesional médico puede medir.	Mejoría medida por el médico tratante, posterior a utilizar isotretinoína.	Cualitativa ordinal	1. 0-25% 2. 26- 50% 3. 51-75% 76- 100%	Variable control
Sexo	Expresión fenotípica del cromosoma XY o XX para designar hombre y mujer respectivamente.	Sexo consignado en los registros de los expedientes y en su identificación oficial INE de los pacientes con verrugas	Cualitativa nominal	Femenino= 0 Masculino= 1	Variable de control
Peso	Fuerza con la que la tierra atrae un cuerpo.	Cuantificación en kilogramos medida en la báscula mecánica calibrada en el consultorio de dermatología durante la evaluación en consulta para recabar datos clínicos.	Cuantitativa continua	Kilogramos	Variable de control
Talla	Longitud de una persona medida de los pies a la cabeza.	Altura medida con el mismo estadímetro integrado en la	Cuantitativa continua	Metros	Variable de control

		báscula mecánica del consultorio durante la evaluación en consulta			
IMC	Medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo.	Relación del peso en Kg con la talla en metros cuadrados el cual se determina durante la consulta	Cuantitativa continua	Kilogramos/metro cuadrado	Variable de control
Comorbilidad	La presencia de uno o más enfermedades además de la patología primaria.	Enfermedades presentes en los pacientes aparte de verrugas vulgares	Cualitativa nominal	Sí =1 No =2	Variable de control
Duración de dermatosis	Tiempo que transcurre entre el principio y resolución de una patología.	Tiempo desde que el paciente evidenció la dermatosis hasta el tiempo de la valoración inicial	Cualitativa ordinal	Años: 0.5-1.5 = 1 1.6- 2.9= 2 ≥3 años=3	Variable de control
Tratamientos previos	Tratamientos utilizados antes de una fecha dada en el tiempo.	Tratamientos utilizados antes del primer día de valoración como terapéutica para verrugas	Cualitativa nominal	Sí =1 No =2	Variable de control

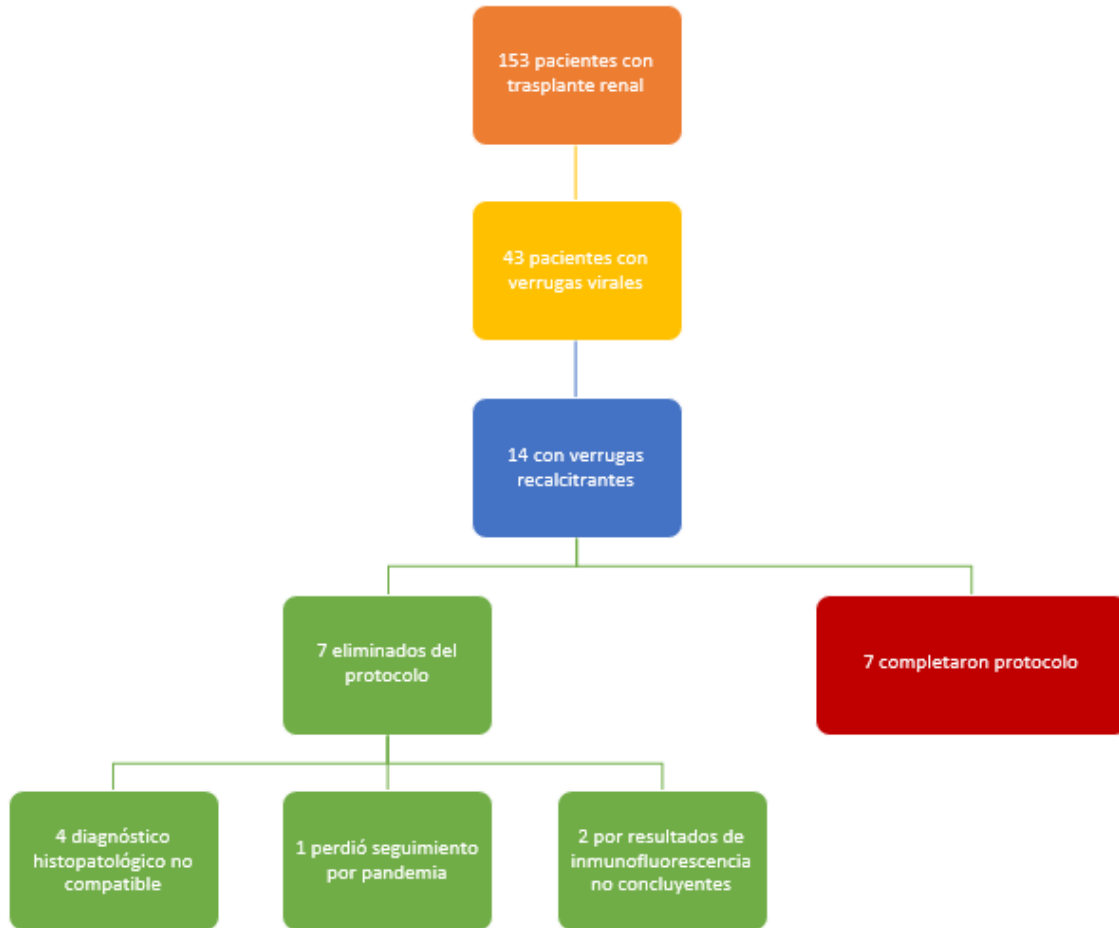
12.- CONSIDERACIONES ÉTICAS:

Para la realización de este estudio se obtuvo la aprobación de los Comités de Investigación y de Ética en Investigación en Salud del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Se incluyeron únicamente pacientes con trasplante renal, mayores de edad y en caso de ser mujeres con prueba negativa de embarazo. Dado que el paciente sentirse vulnerable frente al médico tratante, la invitación e información del estudio se dio por un médico distinto a éste y no se afectó la calidad de atención en caso de no aceptar participar. El voluntario no recibió ninguna gratificación económica ni material.

Los procedimientos realizados durante el estudio clínico, el manejo de información y la confidencialidad del paciente fueron de acuerdo con lo establecido según el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título Segundo; De los Aspectos Éticos de la Investigación de Seres Humanos, artículos 13, 14, 15, 16 y 17. Así como la declaración de Helsinki de 2013 para estudios biomédicos. De acuerdo con la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, se trató de un estudio de investigación con riesgo mayor al mínimo: procedimiento quirúrgico menor (biopsia de piel en sacabocado). Se tomó una biopsia de piel con sacabocado de 5mm en la verruga, el día cero de isotretinoína y una segunda biopsia de piel a la sexta semana de isotretinoína. Los posibles riesgos de la toma de biopsia de piel fueron dolor, hematoma, dehiscencia de herida, infección de herida o cicatriz hipertrófica o queloides; de presentarlos se otorgó de inmediato la valoración por el investigador principal y proporcionado el tratamiento y seguimiento necesario.

En todos los casos se solicitó la autorización por escrito para participar en este proyecto mediante la firma del consentimiento informado. La solicitud de firma del consentimiento informado, para recabar la información necesaria mediante la revisión del expediente clínico, la exploración física con la toma de medidas antropométricas, toma de imágenes, toma de muestras sanguíneas y de biopsias de piel; se realizó en la consulta por un médico distinto al médico tratante para que no interfiriera con la relación médico paciente o se sintiera presionado a participar en el estudio. (Anexo 1).

13. RESULTADOS



Se valoró un total de 14 pacientes, de los cuales 4 (28.5%) pacientes fueron eliminados del estudio al recabar reporte histopatológico no compatible con verrugas virales (Enfermedad de Bowen, Epidermodisplasia verruciforme, Carcinoma espinocelular, Dermatitis psoriasiforme).

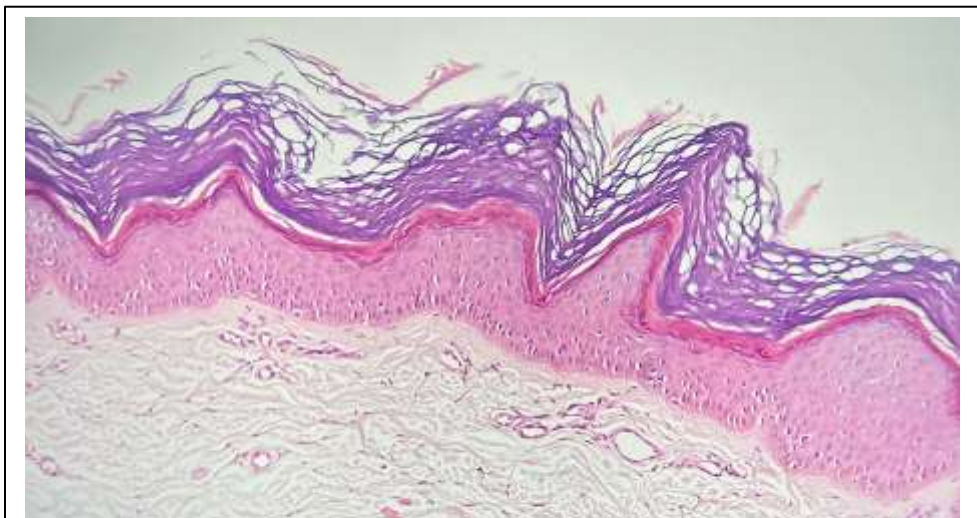
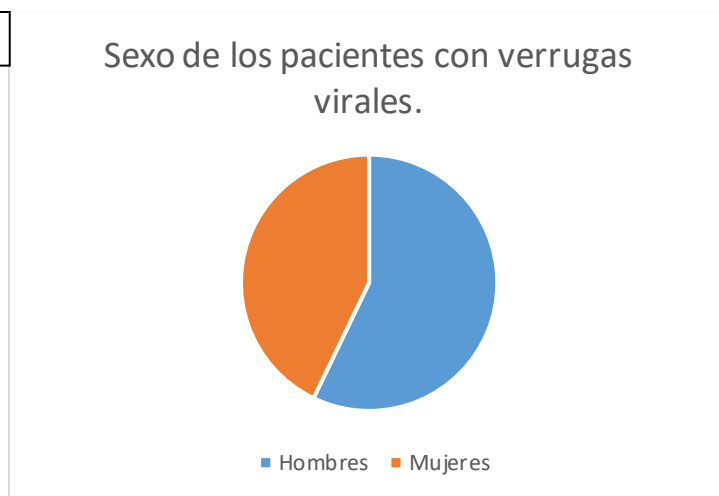


Imagen 1: Histopatología de verruga (hiperqueratosis, hipergranulosis, coilocitos).

De los 10 pacientes con diagnóstico histopatológico de verrugas virales (Imagen 1), se eliminaron 3 pacientes (1 paciente no acudió a seguimiento por pandemia COVID 19, 2 pacientes con resultados de inmunofluorescencia no concluyentes). Por lo cual solo 7 pacientes (70%) completaron el protocolo.

De los 7 pacientes, predominó el sexo masculino en el 57.1% (gráfica 1), una mediana de edad de 29 años (RIC:QI-Q3, 22-74 años) y una mediana de Índice de Masa Corporal de 24.13 kg/m²; la comorbilidad más frecuente fue Hipertensión arterial sistémica en el 57.1%. En cuanto al tiempo de evolución de las verrugas, el 57.13% (4 pacientes) presentaron un periodo igual o mayor a 1.6 años (gráfica 2); fueron tratados previamente con crioterapia como monoterapia el 57.1%, con queratolítico como monoterapia el 14.3%, con terapia combinada (crioterapia, queratolítico e Imiquimod) el 28.6% (tabla 1).

Grafica 1



Grafica 2

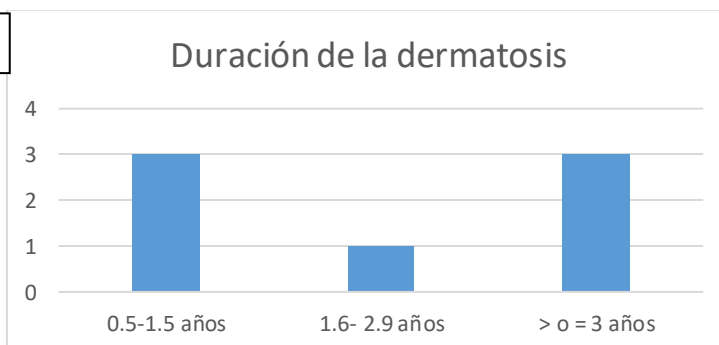


Tabla 1. Características sociodemográficas de los pacientes con diagnóstico clínico-histológico de verrugas virales.

Población	7 pacientes
Sexo	
Hombres	4 (57.1%)
Mujeres	3 (42.9%)
Edad (años)	29 (22-74)
IMC (kg/m²)	24.13 (19.3-29.75)
Comorbilidad	
HAS	4 (57.1%)
NAC	1 (14.3)
Ninguna	2 (28.6%)
Evolución la dermatosis	
0.5-1.5 años	3 (42.9%)
1.6-2.9 años	1 (14.3%)
≥ 3 años	3 (42.9%)
Tratamiento previo para las verrugas	
Crioterapia	4 (57.1%)
Queratolítico	1 (14.3%)
Crioterapia + Queratolítico	1 (14.3%)
Crioterapia + Imiquimod	1 (14.3%)

HAS: Hipertensión arterial sistémica, NAC: Necrosis avascular de cadera. Los resultados se muestran en frecuencias y porcentajes, medianas con rangos intercuartiles q1-q3.

Posterior al tratamiento con isotretinoína a dosis de 20mg vía oral cada 24 horas por 12 semanas, se valoró la mejoría clínica en porcentaje, clasificando a los pacientes en 4 grupos; el primer grupo de 0-25% con un paciente; el segundo grupo de 26- 50% con cuatro pacientes; el tercer grupo de 51-75% con cero pacientes; el cuarto grupo de 76-100% con dos pacientes. (Gráfica 3). (Figura 1, 2, 3 y 4, imagen del paciente antes y a la sexta semana de tratamiento).

Grafica 3

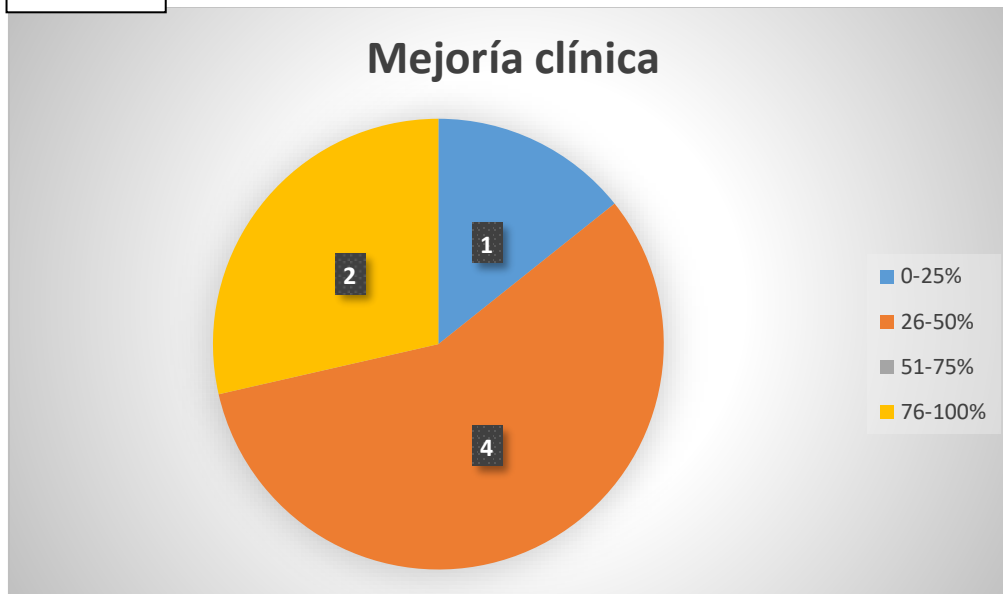


Figura 1. Comparación clínica de las verrugas en cara



Figura 2: Comparación clínica de las verrugas en dorso de manos



Figura 3: Comparación clínica de las verrugas en dorso de manos



Figura 4: Comparación clínica de verrugas en pie



Con respecto a la densidad de células positivas a interferón gamma el día 0 de tratamiento en comparación con la 6ta semana, 5 pacientes presentaron aumento, 1 presentó disminución y 1 no presentó cambios. En cuanto a la densidad de células positivas a linfocitos CD8+, 4 pacientes presentaron un aumento y 3 pacientes un descenso. En cuanto a la diferencia de densidad de células positivas a interferón gamma versus células positivas a linfocitos CD8, tanto antes como después de 6 semanas de uso de isotretinoína, se observó la tendencia de un número mayor de células positivas para linfocitos CD8+. (Tabla 2). (Figuras 5-11)

Tabla 2: Densidad de células positivas antes y a la sexta semana de tratamiento.

PACIENTE	IFN GAMMA DÍA 0	IFN GAMMA SEMANA 6	CD8 DÍA 0	CD8 SEMANA 6
1	213,1	558,5	1103	633
2	0	0	6	0
3	21,1	45,8	21	50,7
4	0	9,2	0	9
5	8,1	14,1	8,1	14
6	29,0	4,8	29	4,8
7	2,6	215,6	21,9	219

Figura 5A: Densidad de células positivas antes del tratamiento. Paciente 1

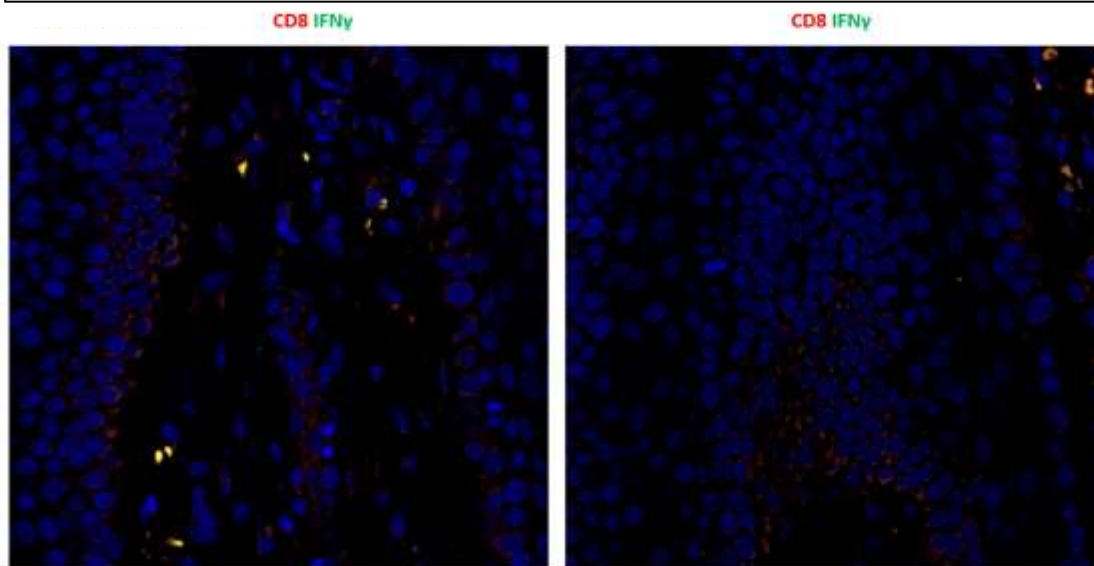


Figura 5B: Densidad de células positivas, 6ta semana del tratamiento. Paciente 1

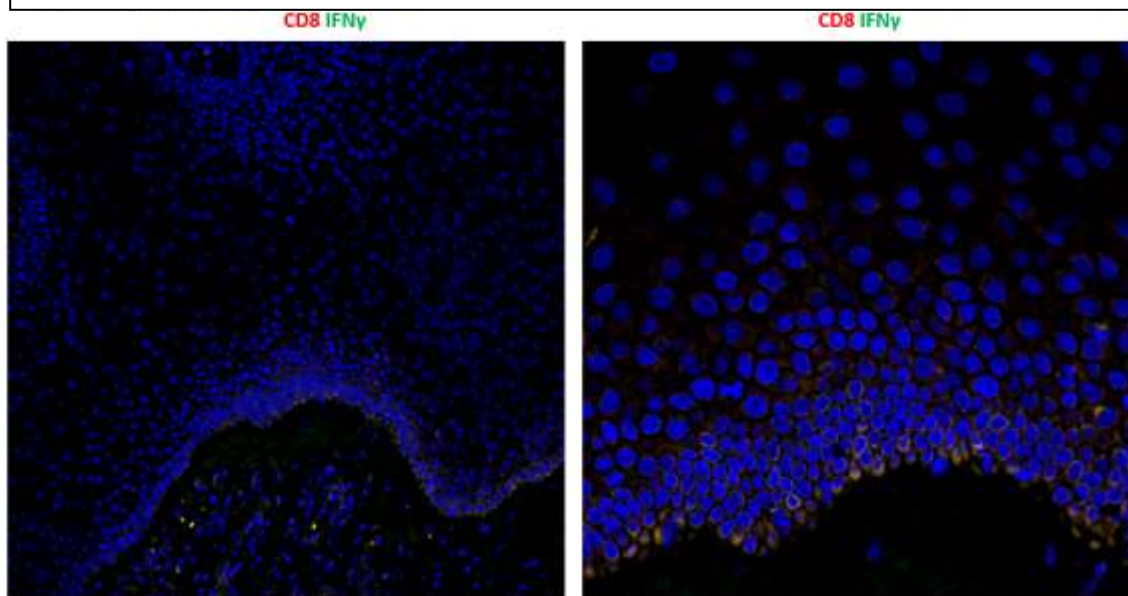


Figura 6A: Densidad de células positivas, antes del tratamiento. Paciente 2

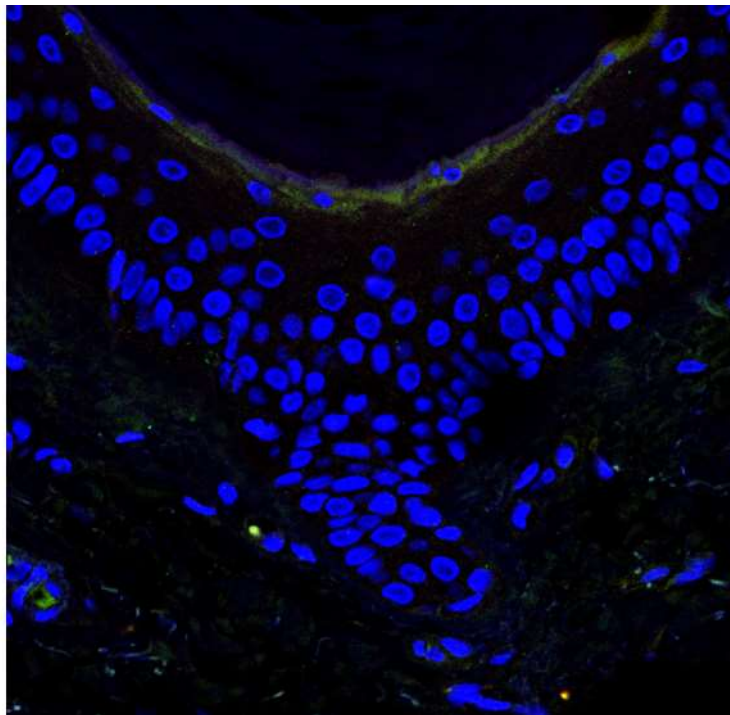


Figura 6B: Densidad de células positivas, 6ta semana del tratamiento. Paciente 2

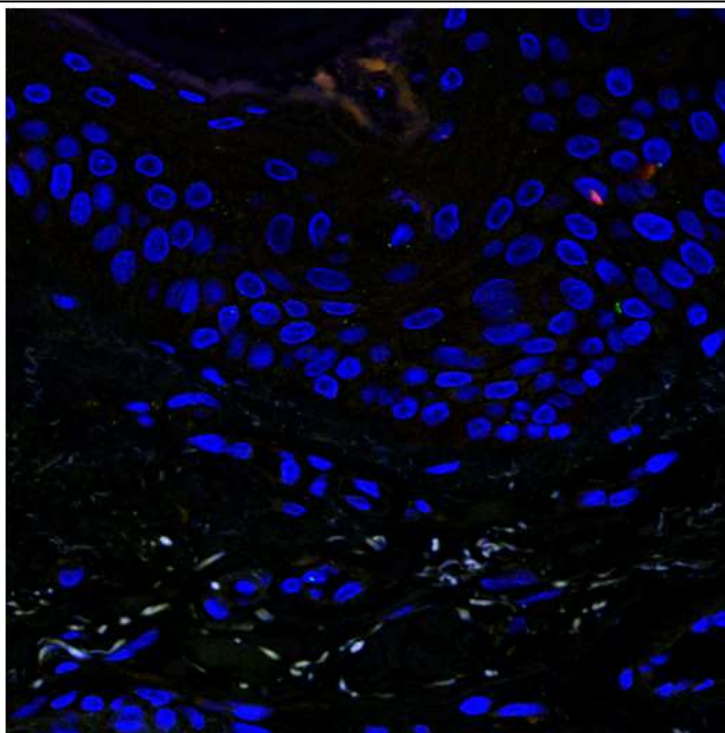


Figura 7A: Densidad de células positivas, antes del tratamiento. Paciente 3

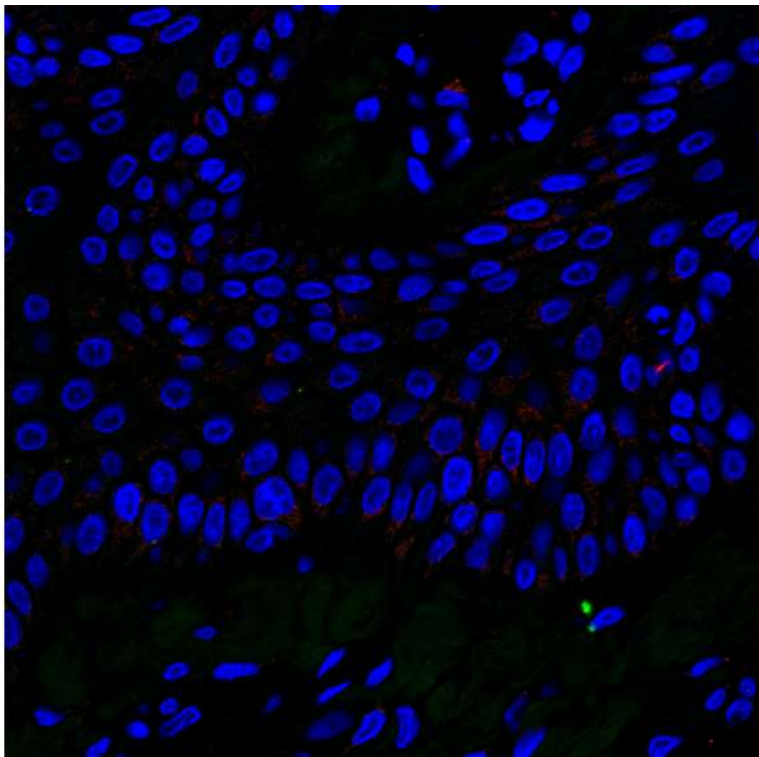


Figura 7B: Densidad de células positivas, 6ta semana tratamiento. Paciente 3

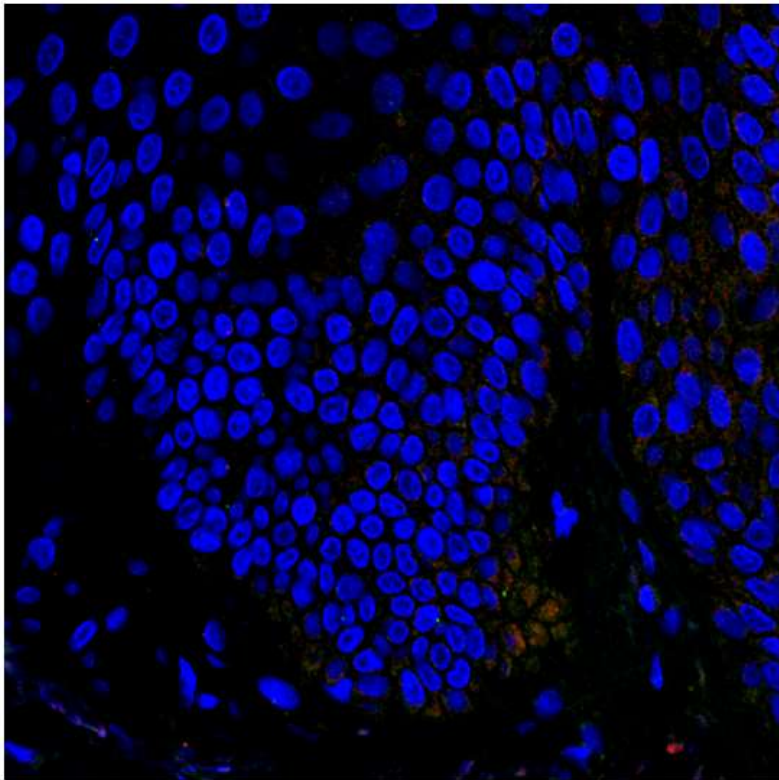


Figura 8A: Densidad de células positivas, antes del tratamiento. Paciente 4

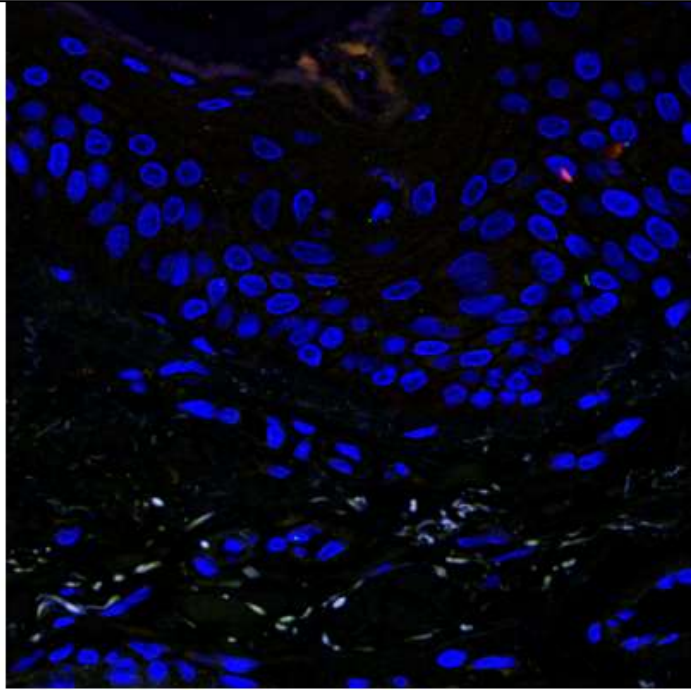


Figura 8B: Densidad de células positivas, 6ta del tratamiento. Paciente 4

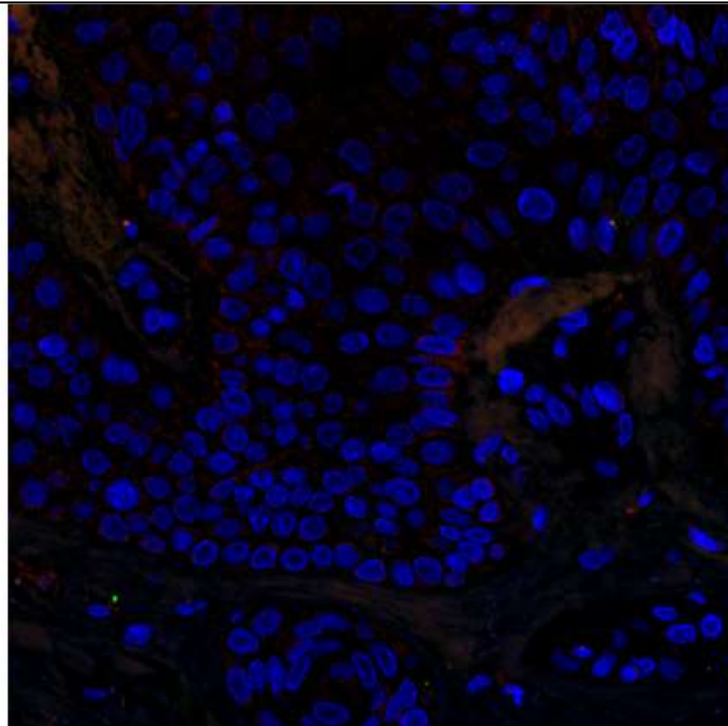


Figura 9A: Densidad de células positivas, antes del tratamiento. Paciente 5

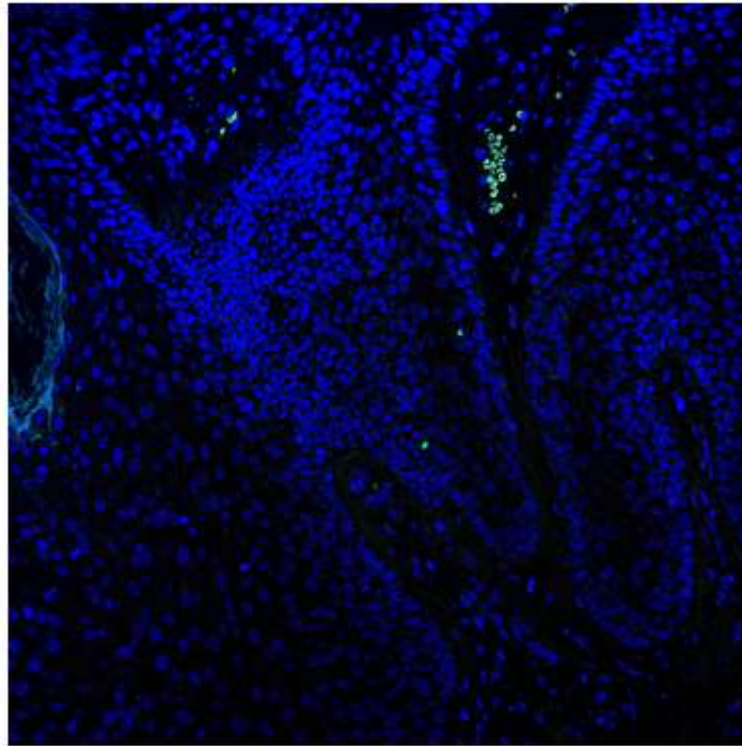


Figura 9B: Densidad de células positivas, 6ta semana del tratamiento. Paciente 5

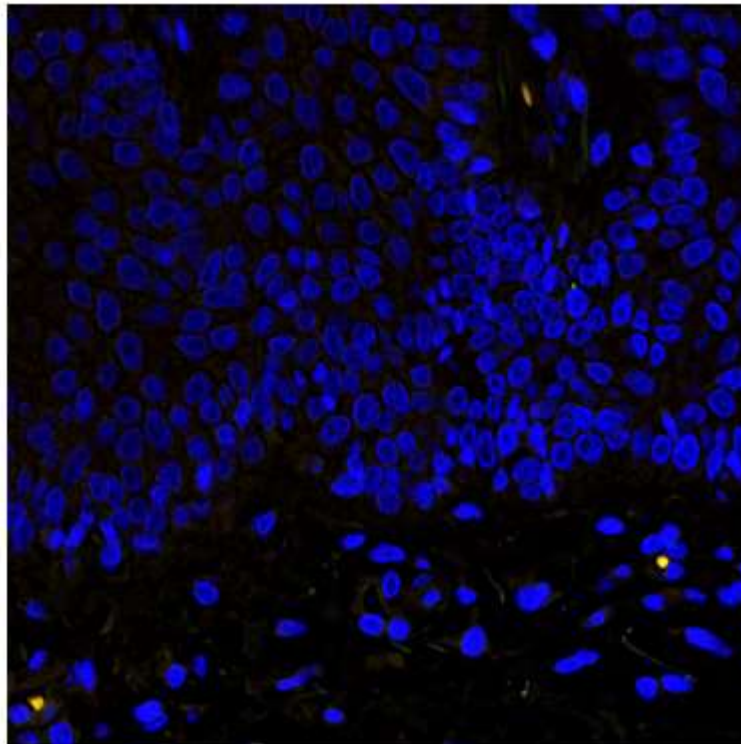


Figura 10A: Densidad de células positivas, antes del tratamiento. Paciente 6

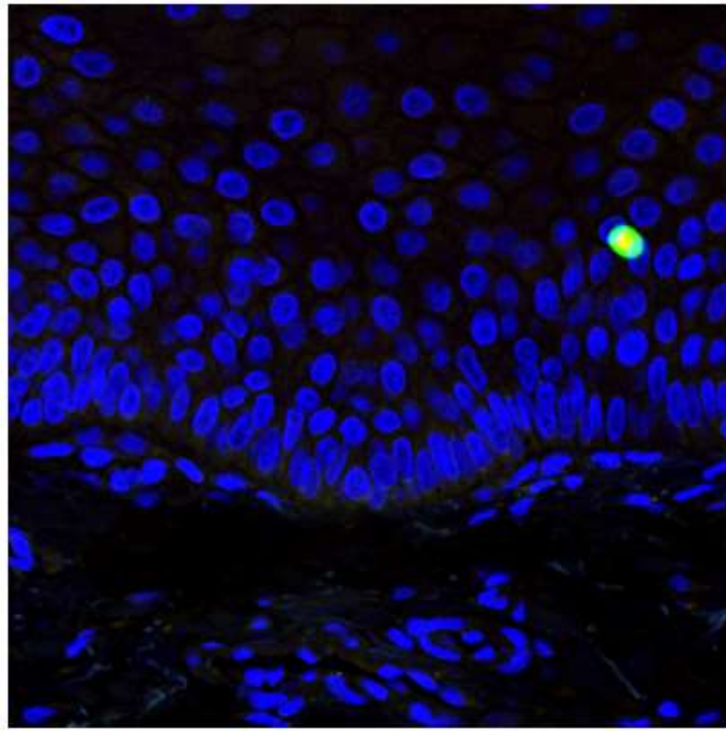


Figura 10B: Densidad de células positivas, 6ta semana del tratamiento. Paciente 6

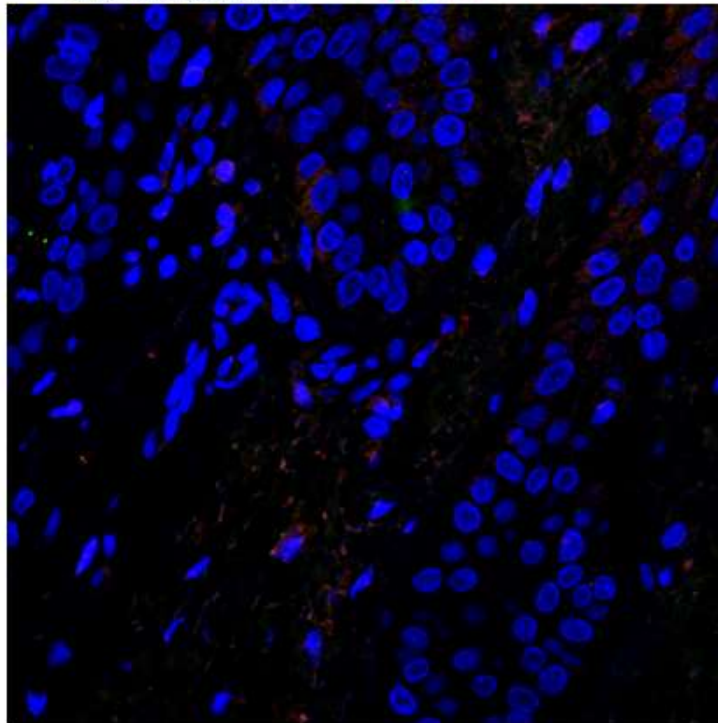


Figura 11A: Densidad de células positivas, antes del tratamiento. Paciente 7

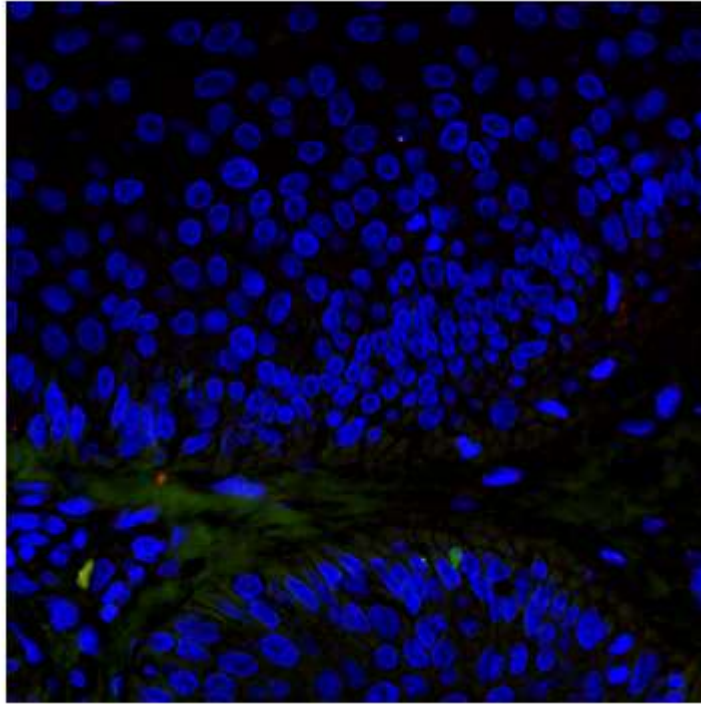
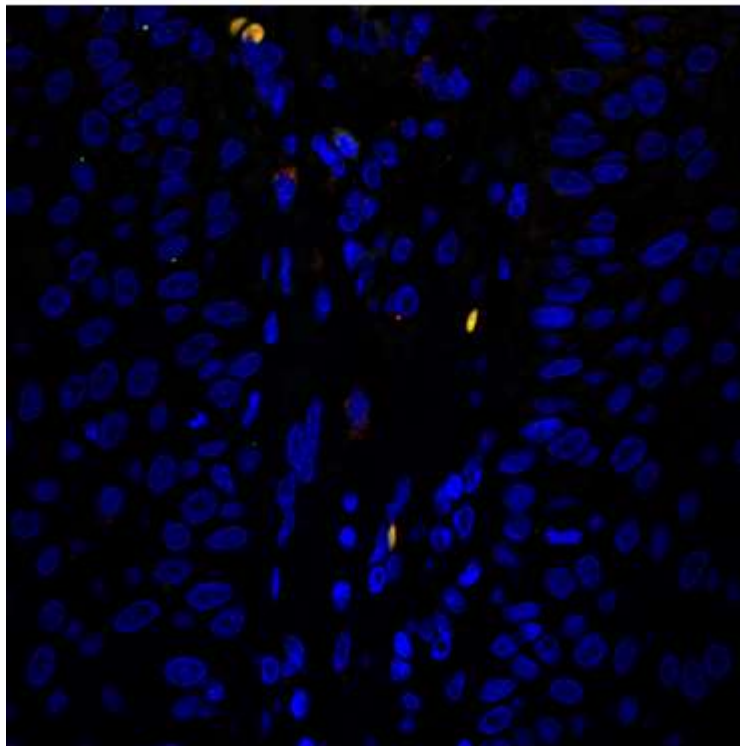


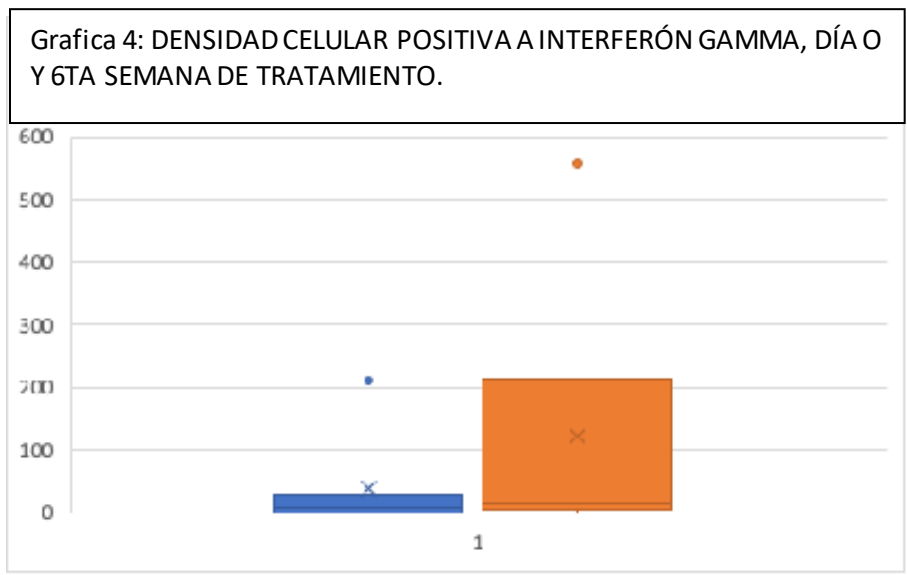
Figura 11b: Densidad de células positivas, 6ta semana tratamiento. Paciente 7



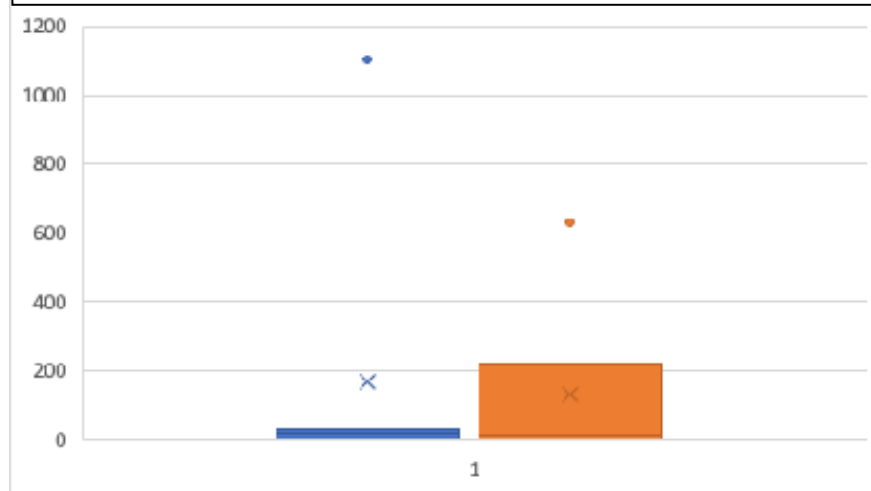
No hubo diferencia significativa con respecto a la diferencia de la densidad de INF γ y CD8+ pre (8.1 vs 14.14; $p=0.116$) y a la semana 6 (21 vs 14; $p= 0.866$) con isotretinoína con la prueba de Wilcoxon. (Tabla 3). (Gráfica 4 y 5).

Tabla 3. Diferencia de la densidad celular de INF γ y CD8+ pre y a la 6ta semana de isotretinoína			
	Pre-tratamiento	Pos-tratamiento	p
INF γ	8.1	14.14	0.116
CD8+	21	14	0.866

Los resultados se muestran en medianas. La diferencia se realizó con Prueba de Wilcoxon.



Grafica 5: DENSIDAD CELULAR POSITIVA A LINFOCITOS CD8, DÍA O Y 6TA SEMANA DE TRATAMIENTO



14. DISCUSIÓN

Las verrugas son neoformaciones que afectan piel y mucosas, causadas por la infección del virus del papiloma humano (VPH); su ciclo de infección no produce estimulación de la inflamación, habiendo poca o nula liberación de citocinas proinflamatorias importantes para el reclutamiento, activación y migración de células presentadoras de antígeno y el reclutamiento de células efectoras inmunes al sitio infectado. Tampoco hay fase virémica siendo prácticamente invisible para el hospedero por un largo periodo de tiempo.

Los individuos con alteración en la inmunidad mediada por células muestran particular susceptibilidad a la infección persistente de VPH y son notoriamente resistentes al tratamiento. Los pacientes sometidos a trasplante renal o de otros órganos sólidos que reciben tratamiento con inmunosupresor.

En la actualidad no se dispone de un tratamiento antivírico específico que cure la infección por VPH. Las modalidades terapéuticas existentes se centran principalmente en la destrucción o eliminación de las lesiones visibles o la inducción de la citotoxicidad de las células infectadas.

En el año 2004 S. Georgala y colaboradores realizaron un estudio doble ciego donde se evaluó el uso de isotretinoína 0.5mg/kg/día durante 12 semanas comparado con placebo, en pacientes con condiloma acuminado recalcitrante. De los 28 pacientes evaluados del grupo 1 (isotretinoína), nueve (32.1%) presentaron remisión total de las verrugas, 11 (39,2%) presentaron una reducción de tamaño mayor al 50%, y ocho (28.5%) una reducción de tamaño menor al 50%. De los 25 pacientes del grupo 2 (placebo), dos (8%) respondieron parcialmente y 23 (92%) no respondieron [17].

En el año 2013 Olguín García y colaboradores realizaron un estudio doble ciego donde se evaluó el uso de isotretinoína oral comparado con placebo en pacientes con verrugas planas recalcitrantes. Al primer grupo (16 pacientes) se le administró 30 mg/día de isotretinoína y al segundo grupo (15 pacientes) se le administró placebo, ambos durante 12 semanas. Al final del estudio la mediana del número de verrugas fue cero para el grupo de isotretinoína y 40 en el grupo de placebo. El 87.5% de pacientes con isotretinoína presentaron una respuesta completa, mientras que en el grupo placebo ninguno tuvo respuesta completa [19].

Por lo anterior, se ha propuesto que los retinoides como la isotretinoína se ha sugerido que puede tener efecto inmunomodulador. Existen pocos estudios que comprueben la eficacia y esclarezcan los mecanismos inmunopatológicos de la isotretinoína oral en el tratamiento de verrugas.

En el servicio de dermatología de Centro Médico Nacional Siglo XXI, existe una población de 153 pacientes con trasplante renal, de estos 43 con diagnóstico de verrugas virales y de estos 14 con un curso recalcitrante, por lo que se ha podido constatar la falta de respuesta a los tratamientos convencionales, siendo el uso de isotretinoína una alternativa terapéutica en estos pacientes [21]. Es por eso que el objetivo general de este estudio fue determinar la densidad de células positivas a linfocitos CD8+ e interferón gamma en piel de paciente trasplantado renal con verrugas, el día cero y a la sexta semana del tratamiento con isotretinoína, lo que se podría traducir en la activación del sistema inmune adaptativo.

En nuestro estudio de un total de 14 pacientes con trasplante renal y verrugas recalcitrantes, sólo 7 pacientes completaron el protocolo, siendo 5 pacientes los que presentaron aumento de la densidad de células positivas a Interferón gamma a las 6 semanas con tratamiento con isotretinoína a dosis de 20mg vía oral por día, comparado con el día 0 de tratamiento; un paciente presentó disminución en el número de densidad y un paciente no mostró cambio. En cuanto a la densidad de células positivas a linfocitos CD8+, 4 pacientes presentaron un aumento y 3 pacientes un descenso. En cuanto a la diferencia de densidad de células positivas a interferón gamma versus células positivas a linfocitos T CD8, tanto antes como después de 6 semanas de uso de isotretinoína, se observó la tendencia de un mayor o igual número de células positivas para linfocitos CD8+. Sin embargo no hubo diferencia significativa con respecto a la diferencia de la densidad de INF γ y CD8+ pre (8.1 vs 14.14; $p=0.116$) y a la semana 6 (21 vs 14; $p= 0.866$) con isotretinoína.

En nuestro estudio se valoró la mejoría clínica en porcentaje a las 12 semanas de isotretinoína, clasificando a los pacientes en 4 grupos; el primer grupo de 0-25% con un paciente; el segundo grupo de 26- 50% con cuatro pacientes; el tercer grupo de 51-75% con cero pacientes; el cuarto grupo de 76-100% con dos pacientes, lo que demuestra que es menor la mejoría comparada con el estudio de S. Georgala, sin embargo dicho estudio no incluye pacientes inmunodeprimidos, por lo que habrá que considerarse prolongar el tiempo de tratamiento en este tipo de pacientes, ya que incluso se observaron nuevas verrugas al suspender el fármaco.

Una de las limitaciones del estudio fue el tamaño de muestra, el cual consideramos que determinaron los resultados, por lo que es necesario realizar más investigaciones con mayor número de voluntarios.

15. CONCLUSIONES:

La prevalencia de las verrugas en pacientes con trasplante renal del servicio de dermatología de HE CMN SXXI durante el periodo de diciembre 2020 a mayo 2021 es del 28.18% y de estos pacientes el 32.56% se presentan con comportamiento recalcitrantes.

La inmunodepresión de los pacientes con trasplante renal favorece la infección y persistencia del VPH y una mayor probabilidad de progresión a neoplasia.

La densidad de células positivas a interferón gamma presentó un aumento a la semana 6 de uso de isotretinoína 20mg/día, en 5 de 7 pacientes (71.4%).

La densidad de células positivas a linfocitos CD8 presentó un aumento a la semana 6 de uso de isotretinoína 20mg/día, en 4 de 7 pacientes (57.14%).

La mejoría clínica valorada a las 12 semanas de inicio de isotretinoína fue mayor al 50% en 4 de 7 pacientes (57.14%).

Son pocos los estudios que esclarecen los mecanismos inmunopatológicos de la isotretinoína oral en el tratamiento de verrugas.

Hasta el momento no se cuenta con tratamiento específico antiviral que cure la infección, la modalidad terapéutica se basa en la destrucción o eliminación de verrugas visibles o la inducción de citotoxicidad de las células infectadas.

La estadística de este estudio no fue significativa, por lo que se requieren más estudios, con una muestra mayor.

16. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Fitzpatrick T, Wolff K. Dermatología en medicina general. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
2. Bolognia J, Jorizzo J, Callen J, Rapini R, Schaffer J, Oliveira R. Dermatología. Elsevier; 2004.
3. Stanley M. Immunology of HPV Infection. Current Obstetrics and Gynecology Reports. 2015;4(4):195-200.
4. Alfaro A, Fournier M. Virus del papiloma humano. Revista médica de Costa Rica y Centro América. 2013;(LXX):211-217.
5. Bacelieri R, Johnson SM. Cutaneous warts: an evidence-based approach to therapy. Am Fam Physician. 2005 Aug 15;72(4):647-52. PMID: 16127954.
6. Diagnóstico y Tratamiento de las Verrugas Vulgares. México: Secretaría de Salud, 2010.
7. Gross G, Pfister H, Hagedorn M, Gissmann L. Correlation between Human Papillomavirus (HPV) Type and Histology of Warts. Journal of Investigative Dermatology. 1982;78(2):160-164.
8. Sterling J, Gibbs S, Haque Hussain S. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of cutaneous warts 2014. British Journal of Dermatology. 2014;171(4):696-712.
9. Kwok C, Gibbs S, Bennett C. Topical treatments for cutaneous warts. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2012.
10. Herschthal J, McLeod M, Zaiac M. Management of unguis warts. Dermatologic Therapy. 2012;25(6):545-550.
11. Lipke M. An Armamentarium of Wart Treatments. Clinical Medicine & Research. 2006;4(4):273-293.
12. Ilyas M, Maganty N, Sharma A. Cutaneous infections from viral sources in solid organ transplant recipients. Journal of Clinical Virology. 2017;97:33-37.

13. Forbat E, Ali F, Al-Niaimi F. Dermatological indications for the use of isotretinoin beyond acne. *Journal of Dermatological Treatment*. 2018;29(7):698-705.
14. Vallerand I, Lewinson R, Farris M. Efficacy and adverse events of oral isotretinoin for acne: a systematic review. *British Journal of Dermatology*. 2017;178(1):76-85.
15. Saúl A. Lecciones de dermatología (16a. ed.). Mexico City: McGraw-Hill Interamericana; 2015.
16. Olsen E, Kelly F. Comparative study of systemic interferon alfa-n1 and isotretinoin in the treatment of resistant condylomata acuminata. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1989;20(6):1023-1030.
17. Georgala S. Oral isotretinoin in the treatment of recalcitrant condylomata acuminata of the cervix: a randomised placebo controlled trial. *Sexually Transmitted Infections*. 2004;80(3):216-218.
18. Al-Hamamy HR, Salman HA, Abdulsattar NA. Treatment of plane warts with a low-dose oral isotretinoin. *ISRN Dermatol*. 2012;2012:163929.
19. Olguin M, Jurado F, Peralta ML. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of oral isotretinoin in the treatment of recalcitrant facial flat warts. *J Dermatolog Treat*. 2015;26(1):78-82.
20. Ramirez G, Lemini A. Perfil inmunológico de pacientes postrasplantados renales con verrugas, antes y después del tratamiento con isotretinoína. Universidad Nacional Autónoma de México; 2020.
21. Tapia G, Lemini A. Dermatosis más frecuentes en pacientes con trasplante renal en la consulta externa de dermatología del Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS en el periodo marzo 2016 a marzo 2020. Universidad Nacional Autónoma de México; 2020.

ANEXOS



Anexo 1.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ADULTOS

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI.

TITULO DEL ESTUDIO:

“Determinación de linfocitos CD8 e interferón gamma en paciente trasplantado renal con verrugas antes y a las 6 semanas del tratamiento con isotretinoína”

No. De registro del protocolo: _____

Nombre: _____

Ciudad de México, a

Usted está siendo invitado a participar en un estudio de investigación, haga tantas preguntas como sean necesarias antes de decidir si quiere participar en el estudio. Si es necesario, pida al médico o al personal del estudio que le expliquen cualquier palabra o hecho que no entienda.

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Las verrugas son tumores benignos producidos por el virus del papiloma humano (VPH), las cuales afectan piel y/o mucosas. En éste estudio se pretende determinar en qué grado y de qué forma la isotretinoína produce la remisión de estos tumores.

PARTICIPACIÓN

Para este estudio se revisará la información de su expediente clínico relacionado con el inicio de su enfermedad, si padece alguna otra enfermedad y además se le realizará una inspección de su piel buscando verrugas. Durante su primera evaluación se tomará una biopsia de piel con lesión de verruga. El término biopsia se refiere a la toma de una parte de tejido u órgano, en este caso será un fragmento de su piel afectada por la verruga. El sitio de la biopsia será definido entre usted y el médico, ya que al ser un procedimiento dejará cicatriz, usted podrá preferir que se realice en zonas

no visibles. Para la toma de biopsia, se hace un aseo del área, se pone un punto de anestesia con xilocaína simple (si usted no es alérgico a la anestesia) con un sacabocado de 5 mm se tomará el fragmento de piel (semejante a uña de dedo pequeño de la mano). Para cerrar la herida se colocará un punto de sutura con material no absorbible por lo que deberá acudir a retiro de puntos en 7 días. Es un procedimiento seguro que tomará de 15 a 20 minutos. Adicionalmente a este procedimiento se le pedirá que responda algunas preguntas, por ejemplo: su edad, sexo, peso, talla el tiempo que lleva enfermo(a), etcétera. Éste cuestionario tomará aproximadamente de 10 a 15 minutos. Además, se le tomará una muestra de sangre de 5 ml, de una vena de su antebrazo utilizando una jeringa con aguja estéril para realizar y revisar estudios de laboratorio que incluyen biometría hemática, las pruebas de función del hígado, los niveles de colesterol y triglicéridos, así como el resultado de una prueba inmunológica de embarazo en caso de ser mujer en edad fértil.

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo su atención médica en el IMSS como hasta ahora. Del mismo modo, si en un principio usted acepta participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS. El médico que le explique y recolecte el consentimiento será diferente del médico investigador para evitar que esto pudiera influir en su decisión.

POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS

Los posibles riesgos y molestias incluyen que se le comentará la necesidad de una muestra de piel. Los probables síntomas relacionados con la toma de muestra de piel son ardor o dolor durante la aplicación de anestesia en el sitio de dónde se tomará la muestra y probablemente sensación de picazón durante el procedimiento. El sitio de la biopsia puede presentar dolor o incomodidad después de que haya pasado el efecto de la anestesia, así como moretones alrededor de la herida. Deberá seguir las indicaciones del médico del estudio en cuanto al cuidado de la herida para evitar cualquier complicación posterior como pudiera ser ruptura de puntos, sangrado o infección de herida. Quedará una cicatriz permanente en el sitio. Que puede ser plana o elevada dependiendo del tipo de cicatrización de cada paciente.

Los posibles efectos de la toma de laboratorios son mínimas, pero puede ocasionar un poco de dolor y es posible la presencia de un moretón en el sitio de la punción.

En caso de presentarlos se otorgará de manera inmediata la valoración por el investigador principal y se proporcionará el tratamiento y seguimiento necesario.

¿QUIÉN UTILIZARÁ Y COMPARTIRÁ INFORMACIÓN SOBRE MI PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?

Su nombre no será dado a conocer como participante de esta investigación en foros ni en publicaciones, para cuidar su confidencialidad le asignaremos un número de folio con el que lo vamos a identificar. La información que proporcione se almacenará en nuestra base de datos que será resguardada en la computadora personal del investigador.

En caso de colección de material biológico, coloque una X:

SI autorizo que se tome la muestra solo para este estudio

No autorizo que se tome la muestra

PERSONAL DE CONTACTO PARA DUDAS SOBRE SUS DERECHOS COMO PARTICIPANTE EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Usted tiene derecho de ser informado de los resultados de esta investigación aún sin que lo solicite.

Si usted tiene preguntas o dudas relacionada con el estudio contacte por favor a la Dra. Alicia Lemini López (médico de base participante) o Dra. Isabel Galindo Noriega (médico residente de dermatología) al Teléfono: **56276900 extensiones 22563 o 21553.**

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

BENEFICIOS ESPERADOS:

El beneficio indirecto de este estudio es que con la toma de biopsia se podrá observar la expresión de linfocitos CD8 e interferón gamma, antes y después de 6 semanas con isotretinoína, y esto pudiera sugerir un efecto inmunomodulador favorable para la eliminación de virus del VPH.

El beneficio directo que usted podrá obtener de este estudio es una posible mejoría de sus verrugas bajo el tratamiento con isotretinoína.

Una vez que haya tenido todas sus preguntas contestadas y que se sienta seguro con su participación en este estudio, firme por favor aquí abajo.

Nombre de el/la participante o representante legal en letra de molde

Firma del participante

Fecha y hora

Firma del médico que explica el consentimiento

Fecha y hora

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma

INSTITUTO MEXICANO DEL SERGURO SOCIAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICA

PACIENTE TRASPLANTADO RENAL CON VERRUGAS

Fecha de captura _____ No. Progresivo _____

Nombre _____

NSS _____ SEXO H M

Edad _____

Fecha de Nacimiento _____ Teléfono _____

Alérgicos _____

AHF Diabetes NO SI _____ HAS NO SI _____

Nefropatía NO SI _____

Dermatosis previas NO SI _____

Peso _____ Talla _____ TA _____ FC _____ FR _____

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

Diabetes NO SI Evolución _____ Tratamiento _____

HAS NO SI Evolución _____ Tratamiento _____

Otra COMORBILIDAD NO SI

Dermatosis previas NO SI

NEFROPATÍA: Fecha de diagnóstico _____

Etiología _____

Tratamiento previo Médico _____

Dialisis peritoneal NO SI Fecha de inicio _____ Fecha de término _____

Hemodialisis NO SI Fecha de inicio _____ Fecha de término _____

Trasplante previo NO SI Fecha _____ Tipo de donador _____

	Medicamento	Dosis
Tratamiento inmunosupresor de inicio	Timoglobulina <input type="checkbox"/>	_____
	Basiliximab <input type="checkbox"/>	_____
Tratamiento inmunosupresor de mantenimiento	Tacrolimus <input type="checkbox"/>	_____

	Micofenolato	<input type="checkbox"/>	_____
	Sirolimus	<input type="checkbox"/>	_____
	Prednisona	<input type="checkbox"/>	_____
	Azatioprina	<input type="checkbox"/>	_____
	Otros	<input type="checkbox"/>	_____

DERMATOSIS: Verrugas Planas_____, Comunes_____, Plantares_____,
 Condilomas_____

TIEMPO DE EVOLUCIÓN_ _____

TRATAMIENTO PREVIO NO SI

TOPOGRAFÍA_____

BIOPSIA PRE-TRATAMIENTO: _____

BIOPSIA POSTRATAMIENTO_____

PERIODO DE ISOTRETINOINA

1ER MES _____ evolución: _____

2DO MES _____ evolución: _____

3ER MES _____ evolución: _____

LABORATORIOS:

PRE-TRATAMIENTO: GLU____, CREAT____, UREA____, BUN____, AST____,
ALT____, BT____, BD____, BI____, FA____, GGT____, COL____, TRIG
____ DC_____.

POSTRATAMIENTO:

FECHA: _____: GLU____, CREAT____, UREA____, BUN____, AST____,
ALT____, BT____, BD____, BI____, FA____, GGT____, COL____, TRIG
____ DC_____.

FECHA: _____: GLU____, CREAT____, UREA____, BUN____, AST____,
ALT____, BT____, BD____, BI____, FA____, GGT____, COL____, TRIG
____ DC_____.

FECHA: _____: GLU____, CREAT____, UREA____, BUN____, AST____,
ALT____ BT____, BD____, BI____, FA____, GGT____, COL____, TRIG
____ DC_____