



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO”

Trabajo de investigación para obtener el Diploma en la Especialidad de Dermatología

Estudio de las células T residentes de memoria en pacientes con vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides sistémicos.

Dra. Dalia Cruz Sotomayor

DIRECTOR CLÍNICO

Dra. María Bertha Torres Álvarez
Especialidad en Dermatología

CODIRECTOR CLÍNICO

Dra. Diana Vianey Hernández Blanco
Especialidad en Dermatología

DIRECTOR METODOLÓGICO

Dr. Juan Diego Cortés García
Doctor en ciencias

23 de febrero de 2022



Estudio de las células T residentes de memoria en pacientes con vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides sistémicos by Dalia Cruz Sotomayor is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO”
Trabajo de investigación para obtener el Diploma en la Especialidad de
Dermatología

**Estudio de las células T residentes de memoria en pacientes con
vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides sistémicos.**

Dra. Dalia Cruz Sotomayor

No. de CVU del CONACYT: 883820

Identificador de ORCID:

DIRECTOR CLÍNICO

Dra. María Bertha Torres Álvarez

Especialidad en Dermatología

No. de CVU del CONACYT: 121442

Identificador de ORCID: 0000-0002-9275-911

CODIRECTOR CLÍNICO

Dra. Diana Vianey Hernández Blanco

Especialidad en Dermatología

No. de CVU del CONACYT: 275977

Identificador de ORCID: 0000-0001-6625-4220

DIRECTOR METODOLÓGICO

Dr. Juan Diego Cortés García

Doctor en Ciencias

No. de CVU del CONACYT: 418575

Identificador de ORCID: 0000-0002-1150-3514

23 de febrero de 2022



Estudio de las células T residentes de memoria en pacientes con vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides sistémicos by Dalia Cruz Sotomayor is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

SINODALES

Dr. Juan Pablo Castanedo Cázares
Especialidad en Dermatología
Maestría en Ciencias en Investigación clínica
Presidente

Dra. Liliana Elizabeth Espinal Pérez
Especialidad en Dermatología
Sinodal

Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana
Doctorado en Ciencias
Sinodal

Dra. Esther Layseca Espinosa
Doctorado en Ciencias biomédicas básicas
Suplente

RESUMEN

El vitiligo es un trastorno de la pigmentación adquirido, multifactorial. Su prevalencia en la población mundial se estima en 0.5% a 2%, mientras que en México se ha reportado una prevalencia de hasta 4%

OBJETIVO GENERAL

Analizar la expresión de células T residentes de memoria en piel lesional de pacientes con vitiligo vulgar activo antes y después del tratamiento con micropulsos orales de 4 mg de dexametasona en dos días consecutivos a la semana durante 8 semanas

SUJETOS Y MÉTODOS. Estudio analítico prospectivo, antes y después. Se reclutaron pacientes con vitiligo vulgar activo que recibieron tratamiento con corticoesteroides sistémicos; a quienes se les tomó biopsia de piel lesional y perilesional, previo y posterior al tratamiento. En las muestras se evaluó la expresión relativa de factores de transcripción de células T residentes de memoria, Blimp1, Hobit, Runx 3 y Notch1 por RT-qPCR y los niveles de células T residentes de memoria CD69+ CD103+ por inmunofluorescencia directa.

RESULTADOS. Previo al tratamiento, en piel con vitiligo se detectó un aumento en la expresión de los factores de transcripción Notch1 ($p=0.03$), Runx3 ($p=0.02$) y Hobit ($p=0.01$) en comparación con piel sana. En contraste, la expresión del factor Blimp1 en piel con vitiligo fue menor que en piel sana ($p=0.02$). Los niveles de fluorescencia de células TRMCD69+CD103+ se encontraron aumentados en vitiligo.

Posterior al tratamiento, en piel lesional se observó una disminución de los factores Notch1, Runx3 y Hobit a valores similares a los de piel sana; mientras que la expresión del factor Blimp1 aumentó. Los niveles de fluorescencia de células T residentes de memoria CD69+CD103+ también disminuyeron en lesiones de vitiligo.

CONCLUSIONES. Los micropulsos con 8 mg de dexametasona a la semana modifican la expresión de células T residentes de memoria al disminuir la expresión de los factores de transcripción asociados y los niveles de los marcadores de células T residentes de memoria CD69+CD103+

PALABRAS CLAVE: vitiligo, células T residentes de memoria, dexametasona, Notch1, Blimp1, Runx3, Hobit, CD69, CD103

ÍNDICE

Resumen.....	1
Lista De Cuadros.....	3
Lista De Figuras	4
Lista De Abreviaturas Y Símbolos.....	5
Lista De Definiciones.....	6
Dedicatorias	7
Reconocimientos.....	8
1. Antecedentes	9
Vitiligo. Definición, Epidemiología Y Fisiopatogenia.	9
Factores De Transcripción De Las Células Trm	15
2. Justificación.....	17
3. Preguntas De Investigación.....	18
4. Hipótesis.....	19
5. Objetivos	19
6. Sujetos Y Métodos	20
Descripción Del Estudio.....	20
Criterios De Selección	23
Variables Del Estudio	24
7. Análisis Estadístico	25
8. Ética	26
9. Resultados	27
10. Discusión.....	32
11. Limitaciones y/o Nuevas Perspectivas De Investigación.....	33
12. Conclusiones.....	34
13. Bibliografía	35
14. Anexos	38
Anexo 1. Documento De Consentimiento Informado.....	38

LISTA DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Características clínicas y demográficas de la población en estudio 27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Expresión relativa de factores de transcripción de células TRM en piel sana y piel lesional antes de tratamiento, y en piel lesional después de tratamiento	28
Figura 2. Correlación en piel lesional de los factores de transcripción de células TRM con el tiempo de evolución.....	30
Figura 3. Correlación en piel lesional de los factores de transcripción de células TRM con el porcentaje de superficie corporal afectada. pre y post tratamiento	30
Figura 4 . Niveles de fluorescencia de células TRM CD69+CD103+	30
Figura 5. Inmunofluorescencia directa para CD69/CD103.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- **Blimp1**: del inglés, *B lymphocyte-induced maturation protein-1*
- **Hobit**: del inglés, *Homolog of Blimp1 in T cells*
- **Runx3**: del inglés, *Runt-related transcription factor 3*
- **ROS**: especies reactivas de oxígeno
- **TRM**: Linfocitos T de memoria residentes de tejidos
- **TCM**: T Residentes de Memoria Linfocitos T de memoria central
- **TEM**: Linfocitos T efectoras de Memoria
- **TRCM**: del inglés, *Recirculating Memory T cells*
- **PMEL**: Proteína Pre Melanosoma
- **PCR**: reacción en cadena de polimerasa
- **IFD**: inmunofluorescencia directa

LISTA DE DEFINICIONES

Vitiligo activo. Cuadro de vitiligo con aparición de nuevas lesiones, crecimiento de lesiones preexistentes en los últimos 12 meses y/o con alguno de los siguientes datos clínicos: fenómeno de Koebner (aparición de nuevas manchas acrómicas en sitios de traumatismo), lesiones con patrón tricrómico (presencia de zona hipopigmentada entre la piel acrómica y la piel aparentemente sana), lesiones de vitiligo inflamatorio (eritema y escama en el borde de las manchas acrómicas) y despigmentación en confeti (máculas acrómicas milimétricas en la periferia de lesiones de mayor tamaño).

- **Vitiligo estable:** vitiligo con ausencia de todos los siguientes datos: aparición de nuevas lesiones, crecimiento de lesiones preexistentes, fenómeno de Koebner, lesiones con patrón tricrómico, lesiones de vitiligo inflamatorio y despigmentación en confeti
- **VIDA (Vitiligo Disease Activity Score):** Escala de seis puntos que va de -1 a +4 y que representa de manera subjetiva la actividad de la enfermedad de acuerdo con el paciente. Puntajes bajos de VIDA indican menor actividad.

+4	Actividad en las últimas 6 semanas
+3	Actividad de 6 semanas a 3 meses
+2	Actividad desde hace 3-6 meses
+1	Actividad desde hace 6 -12 meses
0	Estable por al menos 1 año
-1	Estable por al menos 1 año con Repigmentación espontánea

DEDICATORIAS

- A mis abuelos maternos, María Concepción y Casto quienes con su cariño y afecto han inspirado mi vida y que, aún con su partida, diario me acompañan.
- A mi abuela Eleuteria que su vida ha sido ejemplo de amor, trabajo y esfuerzo. Su fe y ternura son guías en mi vida.
- A mis padres, Delfina y Efrén que sus cuidados y amor me han permitido crecer como persona y a quienes agradezco infinitamente todo su dedicación y esfuerzo a nuestra familia.
- A mi hermana Maya, que con su valentía e inteligencia enorgullece a nuestra familia.
- A mi tía Guadalupe, que es el vivo ejemplo de que la valentía, perseverancia y el trabajo son pilares en una familia.
- A Miguel, al amor de mi vida que en los momentos más difíciles ha estado presente, ha sido mi compañero en mis proyectos sueños, y con quien deseo construir una vida con nuestras familias.
- A mis amigos y sus familias que me han escuchado y apoyado desde siempre.
- A todas las personas que me apoyaron e hicieron posible el sueño de convertirme en dermatóloga: mis profesores y compañeros en la residencia, y a todo el equipo de dermatología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

RECONOCIMIENTOS

A mis profesores y mentores en dermatología:

- La Dra. María Bertha Torres Álvarez, quien su trato humano, profesionalidad y pasión a la dermatología han dejado huella en mi aprendizaje y me motivan a cada día dar atención médica digna a todos los pacientes.
- La Dra. Diana Vianey Hernández, quien cada día estuvo presente para apoyar y guiar nuestro aprendizaje y que es una fuente de inspiración para ejercer esta especialidad.
- El Dr. Juan Pablo Castanedo Cázares, quien con su inteligencia y consejos han sembrado la inquietud de ejercer la medicina siempre de forma congruente, honesta y profesional.

A todo el equipo de Dermatología del Hospital Central que me han enseñado la importancia del compañerismo, comunicación y respeto en el trabajo:

- El Dr. Juan Diego Cortés, quien sin su ayuda y enseñanza esta tesis no habría sido posible y que es fuente de inspiración para continuar aportando el conocimiento científico que necesita nuestro país
- A la Sra. Blanca Canizales Orta, que siempre cuida de los residentes y a todos los que la rodean.
- A la química Nelly quien me enseñó el valor de las herramientas de laboratorio
- A la Maestra Alicia Zavalza Stiker, quien con su amor por la micología se ha convertido en un modelo para dar lo mejor en la especialidad.
- Al equipo de Enfermería: Claudia, Tommy y Conchita quienes apoyan a que la atención a los pacientes sea cada día mejor
- A Maritza y a Doña Mary que completan el gran equipo que permite que la consulta de Dermatología sea de las mejores en el país

A mis tutores en el Hospital Ángeles del Carmen: El Dr. Eloy Medina, la Dra. Clotilde Guadalupe Barragán y el Dr. Enrique Frutos quienes permitieron que este sueño empezara a hacerse realidad. Siempre agradeceré la oportunidad de brindarme un hogar en donde pudiera iniciar mi camino hacia la especialidad.

Al Dr. Jaime Azuela quien nutrió mis sueños al brindarme la oportunidad de seguir aprendiendo dermatología en el servicio social.

A todos mis compañeros en la residencia quienes dejaron alguna enseñanza que me permitió crecer como médico.

1. ANTECEDENTES

Vitiligo. Definición, epidemiología y fisiopatogenia.

El vitiligo es una dermatosis adquirida, multifactorial, que culmina en despigmentación cutánea. La prevalencia se estima en 0.5% a 2% en la población mundial, mientras que en México se ha reportado una prevalencia de hasta 4%[1,2]. No tiene predominio de sexo, y al menos un 25% de los casos de vitiligo se presenta en niños, con una edad de inicio de los 4 a 8 años [3].

La fisiopatogenia en vitiligo es compleja, incluyendo factores ambientales, genéticos e inmunológicos. Dentro de los loci de susceptibilidad para vitiligo, destacan aquéllos asociados a proteínas inmunomoduladoras, como las del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase I y II [3]. En el aspecto inmunológico, se han identificado subtipos de células T con funciones y distribución variable en los tejidos, las cuales cobran papel importante en vitiligo[4].

Uno de los factores ambientales más importantes en la fisiopatogenia es la radiación ultravioleta, la cual produce daño oxidativo en los melanocitos. Se considera que en los pacientes con vitiligo, existe una disfunción primaria de los melanocitos que no permite su adaptación al estrés oxidativo [3].

Posterior a la estimulación con factores ambientales, empieza la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) en la mitocondria del melanocito, con daño al ADN/ARN de la célula como consecuencia. Lo anterior desencadena la liberación de sustancias conocidas como RIG-like receptors, las cuales activan vías de inflamación a través los inflamosomas [3].

Las ROS además alteran el doblaje de las proteínas en el retículo endoplásmico. Estas proteínas alteradas inician el sistema de Respuesta a Proteínas Alteradas (UPR, del inglés, *Unfolded Protein Response*) que culmina en la autofagia de los melanocitos. Al concluirse este proceso, las sustancias melanocíticas se liberan en vesículas conocidas como Patrones Asociados a Daño (del inglés, *Damage Associated Patterns*), las cuales son presentadas como antígenos a los linfocitos T por las células dendríticas[3].

Las células dendríticas plasmocitoides secretan Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-alfa), el cual promueve la producción de CXCL9 y CXCL10 en los queratinocitos, reclutando así linfocitos T CD8+ periféricos [3].

Finalmente, estas células efectoras liberan citocinas proinflamatorias como IFN gamma, TNF alfa, e IL-17 induciendo la apoptosis de los melanocitos [3].

Cuadro clínico y diagnóstico

El diagnóstico de vitiligo es clínico, a través de la identificación por inspección de las manchas acrómicas. En lesiones poco definidas el diagnóstico puede corroborarse con el uso de la lámpara de Wood, la cual aumenta el contraste entre la piel sana y la piel acrómica [5,6].

En 2012, por consenso internacional, el vitiligo fue clasificado en dos grupos, cada uno con sus subtipos [6].

El primer grupo recibe actualmente el nombre de vitiligo y engloba los subtipos de vitiligo acrofacial, focal, de mucosas, generalizado, universal, mixto (asociado a vitiligo segmentario), y otras variantes poco comunes como el Síndrome de Vogt Koyanagi Harada. Algunos autores denominan a todo el grupo previamente descrito como vitiligo no segmentario [7].

El segundo grupo se conoce como vitiligo segmentario e incluye los subtipos de vitiligo unisegmentario y vitiligo multisegmentario[6].

La identificación del tipo de vitiligo es esencial, ya que cada subtipo difiere en cuanto a pronóstico, evolución y respuesta al tratamiento.

El vitiligo no segmentario es la variante más frecuente, correspondiendo al 80% de todos los casos. Clínicamente se presenta como una dermatosis diseminada con tendencia a la simetría. Puede afectar cualquier segmento corporal, pero es frecuente que al inicio se presente en manos y cara [7].

El vitiligo segmentario corresponde a un 10 a 15% de los casos de vitiligo. Por lo general, sólo un segmento anatómico está afectado. Clínicamente se presenta a una edad más temprana, y la despigmentación ocurre con mayor rapidez alcanzando una estabilización en pocos meses [7].

Evaluación de la actividad en vitiligo

La evaluación del grado de actividad igualmente se realiza de forma clínica, a través del interrogatorio y la exploración [6]. En la entrevista con el paciente se indaga por la aparición de nuevas lesiones y/o el crecimiento de lesiones preexistentes en los últimos 12 meses [8].

Los datos clínicos que se han descrito en relación con la actividad de vitiligo son: el fenómeno de Koebner, las lesiones con patrón tricrómico, las lesiones de vitiligo inflamatorio y la despigmentación en confeti [6].

El patrón tricrómico se caracteriza por la existencia de una zona hipopigmentada entre la piel acrómica y la piel sana. Este patrón se asocia a un cuadro rápidamente progresivo [6].

El vitiligo inflamatorio es poco frecuente y se presenta con eritema y escama en el borde de las manchas acrómicas, las cuales se acompañan de prurito [6].

Las manchas en confeti son la presencia de máculas acrómicas milimétricas en la periferia de lesiones de mayor tamaño [6].

El fenómeno de Koebner se refiere a la aparición de nuevas manchas acrómicas en sitios de traumatismo. Independientemente del tipo de vitiligo, se han reportado menores tasas de respuesta al tratamiento, así como una mayor superficie afectada en los pacientes con fenómeno de Koebner. Sin embargo, la ausencia de este dato clínico no corresponde siempre a estabilidad de la enfermedad [6,8].

En 2017, se describió el uso de la lámpara de Wood como auxiliar en la evaluación de la actividad en pacientes con vitiligo [8]. Las lesiones con bordes pobremente definidos bajo la luz de Wood histológicamente corresponden con la presencia de linfocitos T CD8+ en epidermis y dermis, y presentan una mayor expresión de E-cadherina [8]. La E-cadherina promueve la adhesión entre los melanocitos y los queratinocitos, y se ha encontrado ausente o con distribución alterada en la membrana de los melanocitos de pacientes con vitiligo, incluso antes de la aparición de las lesiones [9]. La luz de Wood además se ha utilizado para confirmar la estabilidad de la enfermedad en pacientes candidatos previo al tratamiento quirúrgico con trasplante de melanocitos autólogos de piel sana [10].

Se han propuesto escalas para la medición objetiva de la actividad en vitiligo. Entre estas escalas se encuentra el puntaje conocido como “Vitiligo European Task Force” (VETF) que integra el grado de extensión, el estadio de la enfermedad y la presencia de progresión [11].

La escala VASI (Vitiligo Area Scoring Index) informa el porcentaje de la piel afectada con vitiligo [11].

No obstante, se ha observado que ambas escalas no reproducen los resultados de forma constante y que es operador dependiente [11]. Por ello, en 2014 se propuso el

puntaje Vitiligo Extent Tensity Index (VETI) como herramienta de evaluación; este puntaje combina en una fórmula aritmética los datos clínicos de severidad y el grado de extensión del vitiligo presentes en la cabeza, el tronco, las extremidades y el área genital [11].

Linfocitos T de memoria

Los linfocitos T *naive*, posterior a entrar en contacto con antígenos presentes en los ganglios linfáticos, pasan por diferentes procesos de proliferación y diferenciación. Cada proceso tiene señales específicas que da como resultado a los linfocitos T efectores, los cuales pueden auto eliminarse posterior a la destrucción de los patógenos o convertirse en células T de memoria. Los linfocitos T de memoria son un subtipo de células inmunológicas que se alojan en tejidos linfoides y no linfoides, sin capacidad de recircular en el torrente sanguíneo [12].

Los linfocitos T de memoria se clasifican en:

Linfocitos T de memoria central (TCM): circulan por el torrente sanguíneo y los tejidos linfáticos. Ante estímulos de reactivación tienen gran capacidad proliferativa en los ganglios linfáticos [12].

Linfocitos T efectores (TE): se originan ante estímulos de mayor intensidad por parte de las células presentadoras de antígeno, y mueren posterior a su acción en los tejidos inflamados [12].

Linfocitos T de memoria residentes de tejidos (TRM): surgen de los linfocitos T efectores que reciben instrucciones específicas de algún tejido, lo cual les permite alojarse allí de forma permanente [12]. Los perfiles transcripcionales difieren según el subtipo de célula TRM y se han evaluado en diversas patologías como melanoma e infecciones virales. Entre los factores estudiados se encuentran Runx3 (del inglés, *Run-related transcription factor 3*), Hobit (del inglés, *Homolog of Blimp1 in T cells*), Blimp1 (del inglés, *B lymphocyte-induced maturation protein-1*), Notch1 (del inglés, Notch receptor 1), Bhlhe40 (del inglés, *Basic Helix-Loop-Helix Family Member E40*), AhR (del inglés, *aryl hydrocarbon receptor*) y Nur77 (del inglés, *transcription factor nuclear receptor 77*) [13].

Linfocitos T efectores de Memoria (TEM): En ausencia de señales tisulares específicas, estas células tienen capacidad de circular en el torrente sanguíneo y migrar a los tejidos cuando se requiera [12].

Todos los tipos de linfocitos T de memoria arriba mencionados presentan una interacción coordinada, siendo las células TRM la primera línea de respuesta ante un patógeno, apoyadas por células TEM, que, al tener capacidad de migración, son reclutadas rápidamente al tejido pertinente. Finalmente, las células TCM, con su gran capacidad de proliferación en los ganglios linfáticos, actúan como un agente secundario que termina por eliminar al patógeno [12].

Los linfocitos TRM suelen encontrarse en los epitelios donde su principal función es ser la primera línea de defensa ante antígenos específicos [12]. Cada población de linfocitos TRM presenta marcadores celulares diferentes según el tejido celular en el que se encuentren y el patógeno al que respondan. Las más estudiadas expresan CD 8, CD103 y CD 69. La expresión de CD 69 permite el alojamiento de estas células en la piel y precede a la expresión del marcador CD103, el cual promueve la permanencia prolongada de los linfocitos TRM en la piel [14].

Se calcula que existen 20 billones de células T de memoria en la piel alojadas principalmente en la membrana basal en donde también se encuentran los melanocitos, la principal población celular afectada en vitiligo [12,14].

Las células TRM presentan comportamientos distintos de acuerdo con la patología en la que estén involucradas, por ejemplo, en psoriasis las células no expresan CD49 y producen principalmente IL 17 [15]; mientras que en vitiligo, los linfocitos TRM además de ser CD8, CD69 y CD103 positivos, expresan el marcador celular CD49 (subunidad alfa del receptor alfa 1 beta 1 integrina). En vitiligo se ha documentado que ante la presencia de IL 15, las células TRM son capaces de inducir daño a los melanocitos. En vitiligo se ha descrito que las células TRM expresan principalmente CD8 y CD49a en su superficie, son específicas contra melanocitos y presentan un fuerte fenotipo citotóxico con liberación importante de granzima B y perforina, lo cual formaría parte de la respuesta inmunológica alterada que se ha documentado como responsable de la destrucción de los melanocitos en la piel [15,16,17].

Células TRM y vitiligo

En vitiligo, estas células adicionalmente secretan los ligandos CXCL9 y CXCL10 que se unen al receptor CXCR3 de un subtipo celular en el torrente sanguíneo conocido como TRCM (del inglés, *Recirculating Memory T cells*) lo cual permite su reclutamiento a la piel [12, 14,16]. En modelos animales, se ha observado que la expresión máxima de estas citocinas es en la epidermis, seguida de la dermis y los

ganglios linfáticos. Lo anterior sugiere que las células TRCM entran en contacto primero con los antígenos melanocíticos [17].

La alopecia areata, es otra dermatosis inflamatoria en donde se ha observado niveles elevados de marcadores inflamatorios (JAK3, IL-2, IL-15), así como citocinas de respuesta tipo Th1 (CXCL10, CXCL9, IFN gamma) y Th2 (IL-19). Utilizando corticoesteroides intra lesionales, se ha documentado la disminución discreta de IL-15, CXCL10, CXCL9 e IFN gamma [18]. En modelos murinos de vitiligo, se ha observado que la diferenciación hacia células TRM es dependiente de la interleucina 15 (IL-15) [19].

El efecto citotóxico y el reclutamiento linfocítico son esenciales para la formación y mantenimiento de las lesiones acrómicas características en vitiligo [7]. En modelos murinos, se ha observado repigmentación de lesiones ya establecidas al bloquear la entrada de las células TCM a la epidermis [17].

Uno de los antígenos melanocíticos humanos estudiados en vitiligo es la Proteína Pre Melanosoma (PMEL, del inglés *Pre-melanosome protein*). A través de ingeniería genética en ratones, se han inducido respuestas inmunológicas contra PMEL observando el alojamiento de TRM específicas en la epidermis e inducción de lesiones cutáneas de vitiligo. Esto apoya el papel de los autoantígenos melanocíticos en el desarrollo de la enfermedad [17].

Adicionalmente, se ha observado una capacidad funcional prolongada del autoantígeno PMEL y de las células TRM específicas con un pico de actividad a las 8 semanas el cual permanece hasta por 27 semanas posterior a la inducción de la enfermedad y con una reducción hasta las 62 semanas [17].

En pacientes con vitiligo y psoriasis se han observado poblaciones menores de linfocitos T efectores de memoria CD4 y CD8 CXCR3+ que en los pacientes no afectados. A pesar de esto, los linfocitos T CD8+ CXCR3+ circulantes tienen mayor capacidad de proliferación que los controles [14].

En la piel perilesional de pacientes con vitiligo activo existe una mayor cantidad de los linfocitos CXCR3+ que en pacientes con vitiligo estable o que en los controles sanos [14].

Además, esta expresión de linfocitos CXCR3+ es mayor en pacientes con vitiligo que en pacientes con psoriasis. La cantidad de linfocitos T CD8+ CXCR+ en pacientes

con vitíligo es mayor en la epidermis, mientras que los linfocitos T CD4 predominan en la dermis superficial [14].

A través del bloqueo de la subunidad CD122 de la IL-15, se ha estudiado los posibles efectos terapéuticos de la terapia dirigida contra las células T residentes de memoria en vitíligo. En los modelos murinos de vitíligo, posterior a las 8 semanas de tratamiento con anticuerpo anti-CD 122, se observó la repigmentación de lesiones ya establecidas acompañada de una depleción de células TRM CD8+. En humanos, este posible efecto es menos claro [19].

Factores de transcripción de las células TRM

Existen múltiples factores de transcripción que promueven la diferenciación de los linfocitos T CD8+ *naive* hacia células residentes de memoria en tejidos no linfoides.

Diversos estudios apoyan el papel de la IL-15 en la formación de células TRM. Esta interleucina ayuda a la expresión del factor de transcripción Hobit, el cual permite el alojamiento y permanencia de TRM en tejidos periféricos, mientras que su bloqueo induce la depleción de TRM en modelos murinos con vitíligo [13,19].

En modelos murinos, el factor Hobit se encuentra elevado en células TRM de diversos órganos, incluyendo la piel y los pulmones, y se considera específico de este tipo de células [20, 21].

Se ha observado que la transferencia de células T CD8 con deficiencia de factor Hobit reduce el número de éstas en la piel al compararse con la co-transferencia de células T CD8 activadas denominadas “salvajes” (del inglés, *wild-type*) las cuales sí persisten en piel y adquieren un fenotipo TRM. Los factores Hobit y Blimp1 tienen sobreposición en las funciones de transcripción al ser homólogos en sus dominios de unión al ADN. Más del 50% de los sitios de unión del factor Hobit se comparten con Blimp1 [20, 21].

El factor Blimp1 no es esencial en la diferenciación de las células TRM, pero trabaja de forma sinérgica con el factor Hobit creando un programa transcripcional de células TRM el cual elimina las vías de salida mediadas por CCR7 y S1PR1 impidiendo el movimiento de los linfocitos desde los tejidos periféricos hacia la sangre o vía linfática lo cual suprime la formación de células de memoria circulantes [20,21].

Notch es un receptor de superficie que se une a las células presentadoras de antígenos a través de ligandos dentados y tipo Delta lo cual lleva a la translocación

de su dominio intracelular al núcleo. Esto activa una señal capaz de regular la expresión del marcador CD103 logrando que las células TRM se unan a los epitelios. Aumenta además la transcripción de citocinas proinflamatorias como IFN-gamma en las células TRM humanas [20].

Recientemente, se han descrito al factor de transcripción RUNX3, junto con galectina-3, como marcadores específicos de células humanas TRM en la piel. Alrededor del 30% de estas células expresan RUNX3 y un 50-60% expresan galectina-3.[22]

La diferenciación a células TRM en la piel y otros tejidos no linfoides requiere del factor Runx3. Se ha documentado que este factor regula la expresión de Blimp1 promoviendo además la expresión de los marcadores CD69, el cual permite el alojamiento de las células en los tejidos, y de CD103 que ayuda a su permanencia prolongada. [14, 23, 24,25]

De esta forma Runx3, junto con Blimp1 y Notch, participa en el desarrollo y permanencia de las células TRM en los tejidos periféricos. [20]

El factor de transcripción Blimp1, codificado por Pdrn1, es un supresor transcripcional que participa en la diferenciación de diversos tipos celulares, incluyendo células plasmáticas. [26]

En modelos murinos con coriomeningitis linfocítica se evaluó el factor Blimp1 a través de su gen codificador Pdrn1 por mRNA. Los niveles del gen Prdm1 fueron más altos en los linfocitos CD8 efectores citotóxicos que en las células T CD8 *naive*. Notablemente, estos niveles de Pdrn1 disminuyeron conforme ocurría la diferenciación hacia células T de memoria en los días posteriores a la infección. Por lo tanto, se considera que los valores del factor Blimp1son altos ante células con perfil citotóxico y bajos en presencia de poblaciones maduras de células T CD8+ de memoria En vitíligo, Blimp1 se considera un factor clave para la activación de células T CD8+ documentando niveles mayores de éste en piel con vitíligo que en piel perilesional aparentemente sana. [26,27]

Tratamiento inmunosupresor en vitíligo

En la literatura, se reporta la estabilización del vitíligo hasta en 91.8% de los pacientes con el uso de mini pulsos de dexametasona vía oral a dosis de 2.5 mg en dos días consecutivos a la semana [28]. De igual forma, otros inmunosupresores como metotrexato y azatioprina han demostrado detener la progresión de la actividad

[29]. La dexametasona genera células predominantemente de memoria en modelos animales [30].

Sin embargo, las tasas de recurrencias son altas, hasta en 40% de los casos, tras suspender tratamiento inmunosupresor con corticoesteroides u otros agentes como metotrexato o azatioprina [29]. Estas altas tasas de recurrencia se han asociado a la presencia de células T residentes de memoria en las epidermis específicas contra antígenos melanocíticos [18].

El bloqueo de la IL-15 en modelos murinos de vitiligo ha demostrado repigmentación de lesiones ya establecidas acompañada de la depleción de células TRM CD8+ [17] y se ha documentado además que la expresión de Hobit por las células TRM es menor en microambientes deficientes en IL-15[21].

Dada la importancia documentada de las TRM en vitiligo y la participación de sus factores de transcripción, en este trabajo de investigación se decidió evaluar la expresión de las TRM en piel de pacientes con vitiligo analizando la expresión relativa de los factores de transcripción Notch, Runx3, Hobit y Blimp1 por medio de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (RT-qPCR) y la presencia de los marcadores de superficie CD69 y CD103 por inmunofluorescencia directa (IFD).

2. JUSTIFICACIÓN

Los pacientes con vitiligo presentan recurrencia hasta en 40% de los casos tras suspender tratamiento inmunosupresor con corticoesteroides. Estas altas tasas de recurrencia se han asociado con la presencia de células T residentes de memoria (TRM) en la epidermis, específicas contra antígenos melanocíticos.

Recientemente, la depleción de células TRM CD8+ en modelos murinos de vitiligo, indujo la repigmentación de lesiones ya establecidas, apoyando el papel de las células T residentes de memoria en la fisiopatogenia de vitiligo.

Por lo tanto, es pertinente estudiar si la estabilización y la repigmentación que se obtiene con glucocorticoides sistémicos, se debe a la modificación en la expresión de las células TRM en la epidermis de pacientes con vitiligo.

3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la expresión basal de células TRM en piel de pacientes con vitígo vulgar activo?

¿Cuál es la modificación de las células TRM después de la administración sistémica de corticoesteroides?

4. HIPÓTESIS

La expresión de las células TRM se encuentra aumentada en las lesiones de vitiligo vulgar activo comparada con piel sana y disminuye posterior a la administración de glucocorticoides sistémicos

5. OBJETIVOS

GENERAL: Analizar la expresión de células T residentes de memoria en piel lesional de pacientes con vitiligo vulgar activo antes y después del tratamiento con micropulsos orales de 4 mg de dexametasona en dos días consecutivos a la semana durante 8 semanas.

ESPECÍFICOS

Evaluar la expresión de células T residentes de memoria en piel con vitiligo vulgar activo antes y después del tratamiento por IFD y RT-qPCR

Estudiar la expresión de células T residentes de memoria en piel aparentemente sana de pacientes con vitiligo vulgar activo por IFD y RT-qPCR

Comparar la expresión de células T residentes de memoria en piel con vitiligo vulgar activo y piel sana

6. SUJETOS Y MÉTODOS

LUGAR DE REALIZACIÓN

Hospital Central “Ignacio Morones Prieto”. San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

UNIVERSO DE ESTUDIO

Pacientes con diagnóstico de vitiligo que acuden al Departamento de Dermatología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

DISEÑO DEL ESTUDIO Estudio analítico prospectivo, antes y después, en pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de vitiligo vulgar activo.

TIPO DE MUESTRA. No probabilístico (Muestreo incidental)

MÉTODO DE MUESTREO

- Por conveniencia, con invitación aleatoria a pacientes con vitiligo vulgar activo
- Firma de consentimiento informado
- Evaluación clínica del paciente (ficha de identificación, historia clínica, exploración física)
- Toma de dos biopsias una de piel lesional y una en piel sana de 3 mm respectivamente bajo anestesia local con lidocaína al 2%.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

- Se invitó de forma aleatoria a pacientes con vitiligo vulgar activo provenientes de los servicios de consulta externa y del departamento de Dermatología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”. Se les explicó en qué consistía el estudio y se les entregó el formato de Consentimiento Informado (ver Anexo I). A los pacientes que otorgaron su consentimiento, se les realizó una historia clínica completa y exploración física. Finalmente, a los pacientes que otorgaron su consentimiento se les realizó dos biopsias por trocar de 4mm, una en piel lesional y otra en piel aparentemente sana.
- El procedimiento se realizó con un trocar estéril de 4 mm en condiciones de asepsia y antisepsia bajo anestesia local con lidocaína al 2% con epinefrina; se realizó hemostasia por compresión y cierre de herida con sutura no absorbible (Nylon).
- Los tejidos procesados para PCR en tiempo real, así como para inmunofluorescencia, fueron recolectados en tubos estériles con solución

salina al 0.9% y congelados a -80°C en un lapso menor a 30 minutos de haber sido obtenidos. Una vez congelados, fueron almacenados a esta misma temperatura ya que bajo estas condiciones, los factores a estudiar se mantienen estables por 2 a 3 años.

- Respecto a la Inmunofluorescencia directa (IFD), de los tejidos congelados se realizaron cortes de $4\ \mu\text{m}$ los cuales se fijaron con paraformaldehído al 4% el cual se lavó con buffer de fosfatos (PBS) por 5 minutos. Después se bloquearon con γ -globulina (eBiosciences-Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) por 15 minutos y se lavaron con PBS. Posteriormente se tiñeron con anticuerpos anti-CD69-PE (eBiosciences) y anti-CD103-FITC (eBiosciences) por 1 hora a temperatura ambiente en la oscuridad, se utilizaron laminillas sin teñir o sin anti-CD69 o anti-CD103 para descartar la fluorescencia inespecífica y quitar la fluorescencia basal al momento de tomar las imágenes. Después, los cortes se lavaron con PBS y se contratiñeron con DAPI (4mg/mL) (ThermoScientific) y finalmente se fijaron con medio de montaje PBS-Glicerol (1:9). Las laminillas fueron evaluadas en un microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse (Nikon Instruments Inc; Melville, NY, USA). Para el procesamiento de las imágenes se utilizó el software Infinity Analyze versión 6.5.2 (Teledyne Lumenera; Ottawa, Ontario, Canada) para generar una imagen que contenga los marcadores de TRM CD69 y CD103 en el mismo campo visual (merge) que permitiera cuantificar la intensidad de la fluorescencia de las células CD69+CD103+, lo cual es proporcional a cuantificar las células TRM CD69+CD103+. Finalmente, la cuantificación de la fluorescencia se realizó con el software ImageJ v1.44 (National Institutes of Health, Bethesda, MD) contabilizando la fluorescencia en los campos seleccionados con células dobles positivas en unidades de fluorescencia.
- En cuanto a la técnica de RT-qPCR, las biopsias de piel fueron lisadas mecánicamente con nitrógeno líquido para extraer el ácido ribonucleico total (ARN) de cada muestra, con el método de trizol-cloroformo. Después el ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) fue sintetizado a partir de 500 ng de ARN total en un volumen de $10\ \mu\text{L}$ utilizando el High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de ADNc fue ajustada a $100\ \text{ng}/\mu\text{L}$ en todas

las muestras. La PCR en tiempo real se realizó en el equipo MiniOpticon™ real-time PCR (Bio-Rad S.A., Hercules, CA). Se usaron reacciones de 10 µL que contenían 1 µL de ADNc, 5 µL de iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad), 0.2 µL de cada primer 20 µM (T4Oligo; Irapuato, Gto., México) y 3.6 µL de agua DEPC. Las secuencias de los primers fueron las siguientes: *Blimp-1*, forward 5'-gtgtcagaacgggatgaaca-3' y reverse 5'-gctcgggtgcttagactgc-3', *Hobit*, forward 5'-catatgtggcaagagctttgg-3' y reverse 5'-ggcaagttgagtgaagctct-3', *Runx3*, forward 5'-gagtttcaccctgacctact-3' y reverse 5'-tgtgctcgggtgcacccgcat-3', y *Notch1*, forward 5'-cacgctgacggagtacaagt-3' y reverse 5'-ggcacgattccctgacca-3'. Como control endógeno se usó el gen *18s*, forward 5'-cggctaccacatccaaggaa-3' and reverse 5'-gctggaattaccgaggct-3'. Los resultados de expresión se obtuvieron al normalizar la expresión de cada gen respecto del control endógeno: Expresión normalizada = gen problema/18s. Las condiciones de PCR fueron: desnaturalización inicial a 95°C por 3 minutos, 40 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 segundos y alineación y elongación a 60°C por 30 segundos.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Pacientes con diagnóstico de vitiligo activo tipo no segmentario (vitiligo vulgar) entre 18 y 60 años

Pacientes sin tratamiento tópico o sistémico en los últimos 3 meses. Pacientes con lesiones de cualquier tiempo de evolución.

Aceptación y firma del consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Pacientes con otra comorbilidad de la piel. Pacientes con cicatrización tipo queloide.

Pacientes con enfermedades inflamatorias o autoinmunes.

Pacientes con Diabetes Mellitus, Hipertensión y Síndrome Metabólico. Pacientes embarazadas o en lactancia.

Pacientes con enfermedades mentales.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Pacientes que abandonen el seguimiento antes de concluir el estudio. Pacientes de sexo femenino que inicien un embarazo.

Pacientes que sean sometidos a hospitalización o algún tipo de cirugía mayor.

VARIABLES DEL ESTUDIO

Dependiente				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Factores de transcripción de células TRM	Expresión relativa de factores	0-infinito	N/A	Numérica Continua
Expresión de CD 69 y CD103	Unidades de inmunofluorescencia	0-infinito	Unidades arbitrarias de inmunofluorescencia	Numérica continua
Independiente				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Corticoesteroide sistémico	Dexametasona 4 mg dos veces por semana	1. Antes 2. Después	N/A	Categórica dicotómica
Variables de Control (confusoras)				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Edad	Edad en años cumplida	18-60	Años	Numérica Continua
Tiempo evolución	Años de evolución con vitiligo	0-100	Años	Numérica Continua
Topografía	Localización de las lesiones	1. Cabeza y cuello 2. Extremidades (excepto manos y pies) 3. Tronco 4. Manos y pies	N/A	Categórica

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tamaño de la muestra. En 2018, Richmond y colaboradores demostraron una diferencia mayor al 60% en el número de células TRM CD8+ posterior al tratamiento dirigido contra IL-15, la cual es esencial para la diferenciación de las células TRM [19].

A través de la siguiente fórmula $n = \frac{2 (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 S^2}{d^2}$, indicada para la comparación de dos medias pareadas en un solo grupo (antes y después), y calculando una diferencia en la expresión del porcentaje de células TRM en la epidermis de al menos 30% después de tratamiento, con una desviación estándar del 10%, un alfa 0.05 a dos colas y un poder del 95%, se requiere una muestra de 15 pacientes con un total de 45 biopsias [31].

- Antes de tratamiento: 15 biopsias de piel perilesional y 15 de piel lesional por duplicado.
- Después de tratamiento: 15 biopsias de piel lesional por duplicado.

Método para analizar la distribución de variables.

Se utilizó el software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) para el análisis estadístico.

- Se hizo análisis de varianza (ANOVA) como método para comparar la expresión de factores de transcripción de las células TRM en piel sana, piel con vitiligo vulgar activo antes y después del tratamiento.
- La prueba de correlación de Spearman se empleó para realizar la correlación de las células TRM con los datos clínicos de la enfermedad.

8. ÉTICA

Al estudiar la expresión de células T residentes de memoria en población mexicana con vitiligo, el estudio busca cumplir con la fracción I (Conocimiento de los procesos biológicos y psicológicos en los seres humanos) del artículo 3° de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Este ensayo, fue evaluado y autorizado por el Comité Académico de Dermatología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, y aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación del mismo Hospital con el registro 54-20.

Este estudio fue considerado una Investigación con riesgo mayor que el mínimo, ya que la biopsia de piel es una técnica invasiva. Sin embargo, el riesgo de complicaciones asociados a este tipo de procedimientos es bajo con un riesgo de sangrado e infección mínimos.

9. RESULTADOS

En el periodo de enero a diciembre de 2021, se evaluaron a 96 pacientes con vitiligo que acudieron a la consulta del departamento de dermatología. Se registraron 44 pacientes con vitiligo no especificado, 32 pacientes con vitiligo estable y 20 pacientes con vitiligo activo.

De los pacientes con vitiligo activo, 17 cumplieron con los criterios de inclusión y aceptaron participar en el estudio. Se perdió contacto con cuatro de los pacientes y otros tres suspendieron el tratamiento por lo que se excluyeron del estudio dejando una muestra final de 10 pacientes. El 70% (n=7) fueron pacientes de sexo femenino y 30% (n=3) de sexo masculino, con una edad promedio de 39 años.

Se observó un tiempo de evolución prolongado con un promedio de 18 años. Cuatro pacientes (40%) presentaron estabilidad al finalizar el tratamiento y seis pacientes (60%) no lograron estabilidad de la enfermedad lo cual se determinó por interrogatorio o por exploración clínica.

Las características clínicas y demográficas de la población estudiada se resumen en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características clínicas y demográficas de la población en estudio (n=10)	
Género (femenino/masculino)	7/3
Edad(años)	39 (18-57)
Tiempo de evolución (años)	18 ± 15.16
Escala VIDA	
+2	7 (70%)
+3	1 (10%)
+4	2 (20%)

Cuadro 1. Puntajes de la escala VIDA (Vitiligo Disease Activity Score): +4 (actividad en las últimas 6 semanas), +3 (actividad de 6 semanas a 3 meses), +2 (actividad desde hace 3-6 meses), +1 (actividad desde hace 6 -12 meses), 0 (estable por al menos 1 año), -1 (estable por al menos 1 año con repigmentación espontánea)

Factores de transcripción de células TRM

Previo al tratamiento, la expresión relativa de los factores de transcripción Notch1 ($p=0.03$), Runx3 ($p=0.02$) y Hobit ($p=0.01$) fue mayor en la piel con lesiones de vitiligo vulgar activo que en la piel aparentemente sana. La expresión relativa de Blimp1 en piel con vitiligo fue menor que en la piel sana ($p=0.02$), (Fig. 1).

Posterior al tratamiento de 8 semanas, en piel lesional se observó disminución en la expresión del factor Notch1 ($p=0.03$), Runx3 ($p=0.02$) y Hobit ($p=0.01$) a valores similares a los de piel aparentemente sana. Mientras que la expresión de Blimp1 aumentó ($p=0.02$), (Fig. 1).

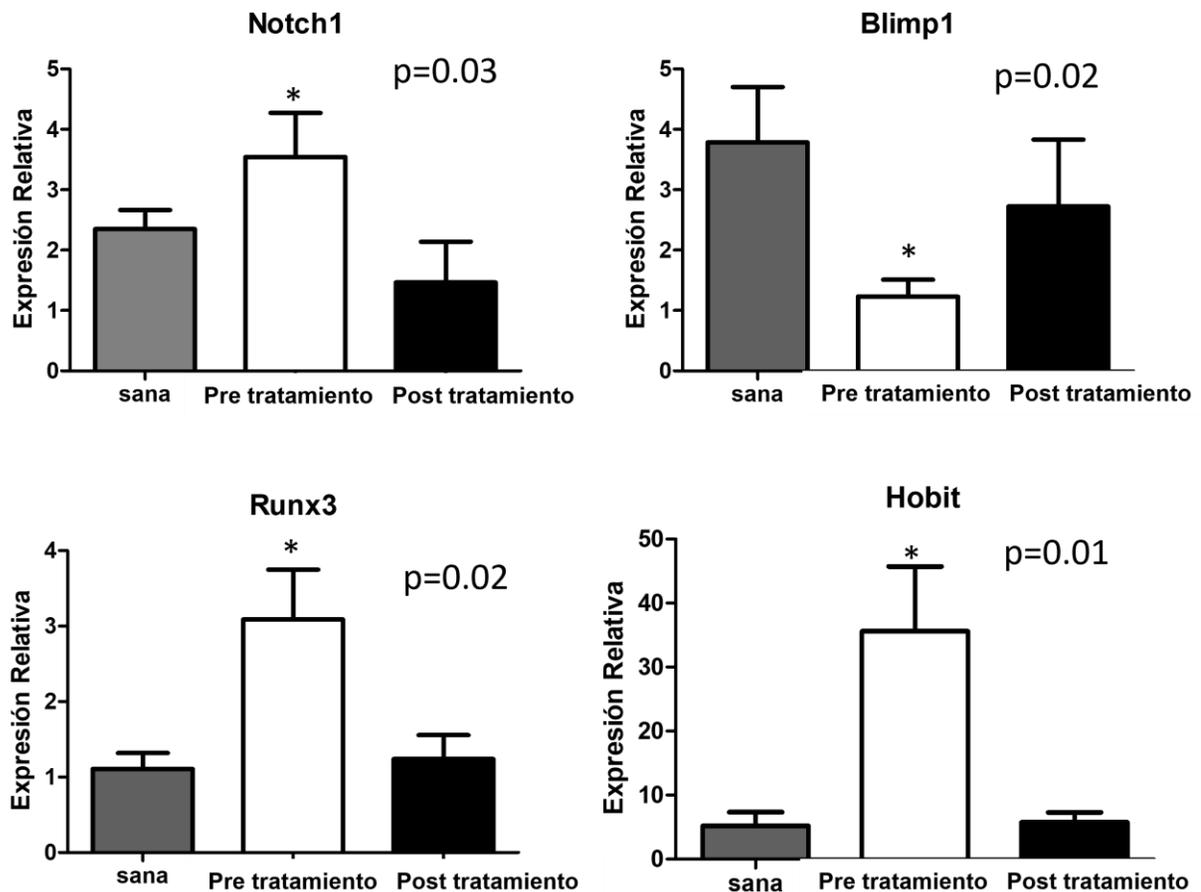


Figura 1. Expresión relativa de factores de transcripción de células TRM en piel sana y piel lesional pretratamiento, y en piel lesional post tratamiento. A) Factor Notch1, B) Factor Runx3, C) Factor Hobit, D) Factor Blimp1

Respecto a la correlación de los factores de transcripción de las células TRM con los datos clínicos no se observaron resultados estadísticamente significativos en piel lesional antes ni después de tratamiento.

En piel lesional antes de tratamiento la correlación con el tiempo de evolución mostró un valor de $p=0.2125$ para Notch, 0.3586 para Blimp1, 0.3363 para Runx3 y 0.6615 para Hobit. En piel lesional después de tratamiento los valores de p fueron de 0.8100 para Notch, 0.7435 para Blimp1, 0.9816 para Runx3 y 0.2912 para Hobit (Fig. 2).

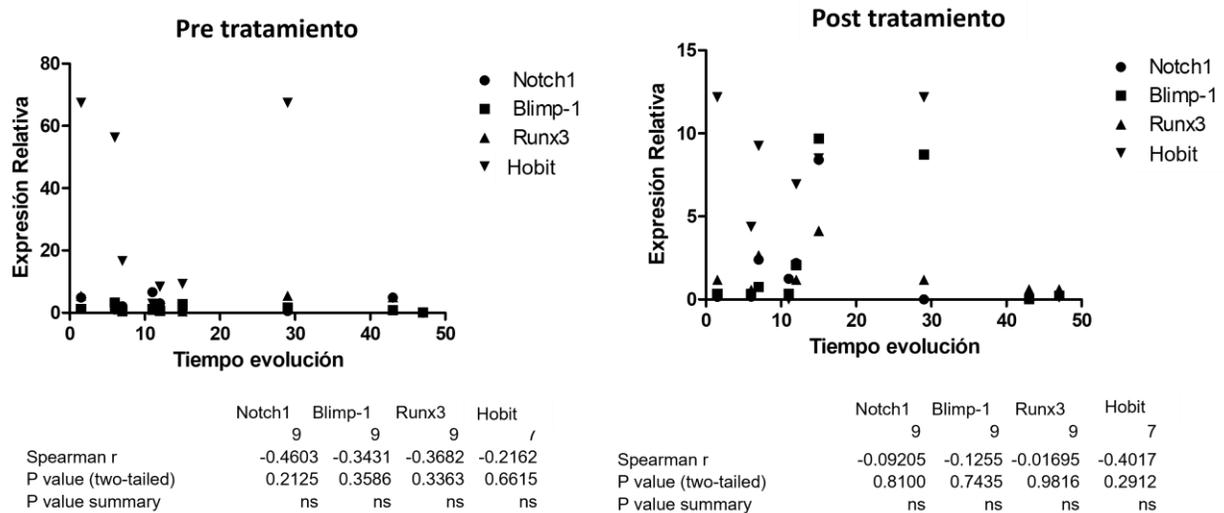


Figura 2. Correlación en piel lesional de los factores de transcripción de células TRM con el tiempo de evolución. Pre y post tratamiento

La correlación con el porcentaje de superficie corporal afectada en piel lesional antes de tratamiento mostró los siguientes valores de $p=0.7850$ para Notch1, 0.5135 para Blimp1, 0.6567 para Runx3 y 0.4729 para Hobit. Después del tratamiento los valores de p fueron de 0.3129 para Notch1, 0.2632 para Blimp1 0.0963 para Runx3 y 0.2632 para Hobit (Fig.3).

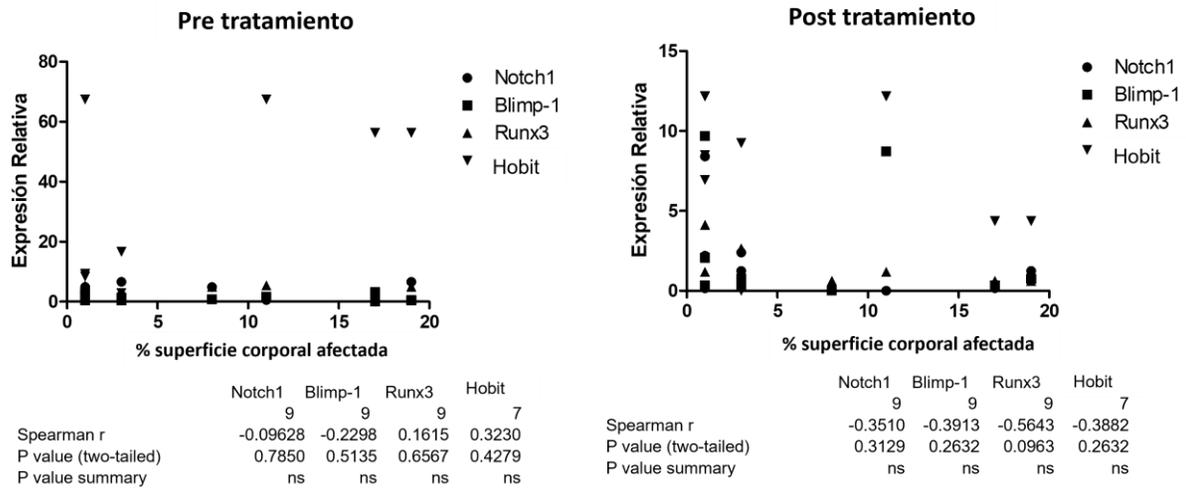


Figura 3. Correlación en piel lesional de los factores de transcripción de células TRM con el porcentaje de superficie corporal afectada. Pre y post tratamiento Inmunofluorescencia directa células TRM CD69+CD103+

Los niveles de fluorescencia de células TRM CD69+CD103+ fueron mayores en piel lesional antes de tratamiento comparada con piel sana. Posterior al tratamiento, estos niveles disminuyeron en piel lesional llegando a valores similares a los de piel aparentemente sana ($p=0.0098$), (Fig.4).

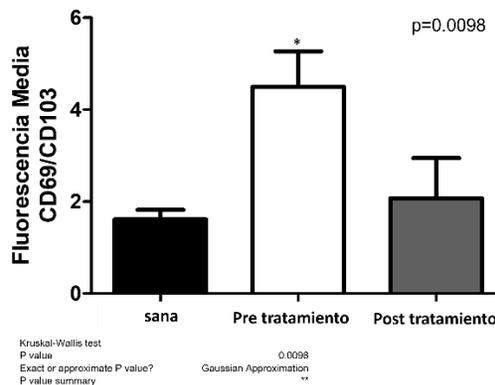


Figura 4. Niveles de fluorescencia de células TRM CD69+CD103+. Se cuantificó la intensidad de fluorescencia de las células que expresaban ambos marcadores en cada una de las muestras de piel lesional pre y postratamiento, y en piel sana. Las gráficas muestran media \pm DE de 3 muestras representativas, analizadas por duplicado. La cuantificación de la fluorescencia se realizó con el software ImageJ v1.44 (National Institutes of Health, Bethesda, MD) en unidades arbitrarias de fluorescencia contabilizando en los campos seleccionados con células dobles positiva.

Se muestran imágenes representativas de los marcadores de células TRM CD69+ y CD103+ en la Figura 5.

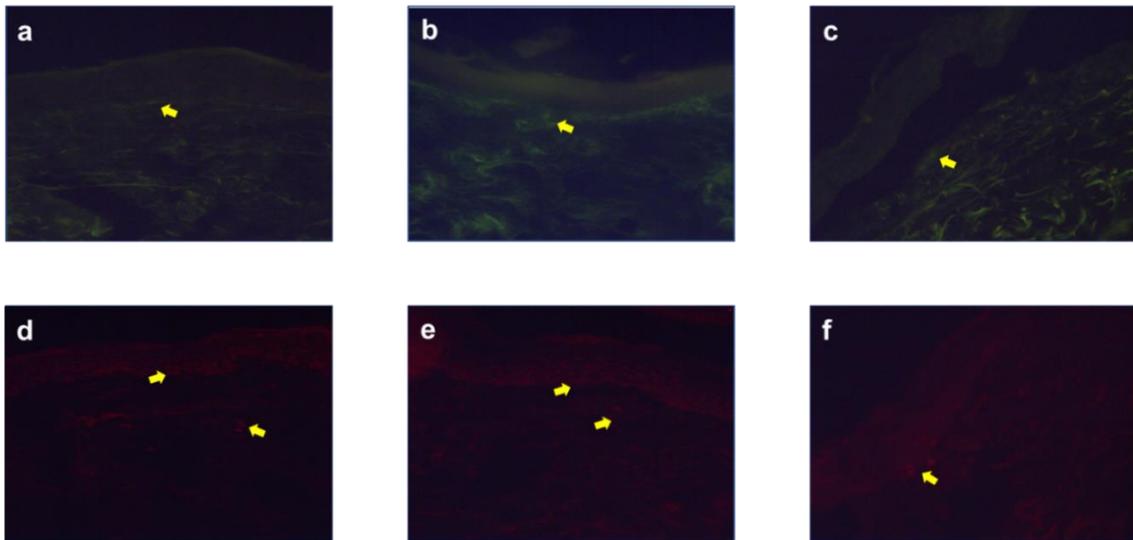


Figura 5. Inmunofluorescencia directa para CD69/CD103. Imágenes representativas de la inmunofluorescencia directa para detectar CD69 (verde, flechas amarillas) en piel sana (a), piel lesional pretratamiento (b) y piel lesional postratamiento (c), además de CD103 (rojo, flechas amarillas) en piel sana (d), piel lesional pretratamiento (e) y piel lesional postratamiento (f). Todas las imágenes con objetivo 40x.

Se registraron eventos adversos en 4 pacientes (40%), 3 pacientes presentaron dermatitis acneiforme (30%) y 1 paciente presentó seborrea (10%).

10. DISCUSIÓN

De acuerdo con el perfil transcripcional observado en la piel lesional de este estudio, la expresión basal de los factores de transcripción Hobit, Runx3 y Notch se encuentran elevados en lesiones de vitiligo vulgar activo.

Los factores de transcripción Runx3 y Hobit se consideran específicos de células TRM y se ha documentado que Runx3 se expresa sobre todo en células T CD69+ [23,24,25]. El factor Notch es un receptor que regula la expresión de CD103 en las células TRM y trabaja con Blimp1 y Runx3 en el desarrollo y permanencia de las células TRM en los tejidos periféricos. [14,20]

Por lo anterior, los hallazgos después del tratamiento de este estudio respecto al descenso del número de células TRM en piel con vitiligo activo, cuantificado por la disminución en la intensidad de la fluorescencia de las células CD69+CD103+, es apoyado por la menor expresión de los factores Runx3 y Notch.

En contraste con los otros factores ya mencionados, está documentado que el factor Blimp1 expresa niveles bajos cuando hay predominio de células TRM [26]. Los hallazgos en este estudio son compatibles con lo reportado en la literatura dado que los niveles de Blimp1 fueron menores en piel con vitiligo que en piel sana acompañados de mayor expresión de los factores específicos de células TRM ya descritos.

Finalmente, en este estudio se observó una modificación a la inversa del perfil transcripcional de las células TRM documentando la disminución de los factores Hobit, Notch y Runx3 con aumento de Blimp1 lo cual sugiere que la función de las células TRM se afecta por los glucocorticoides sistémicos disminuyendo además las células TRM CD69+CD103+.

11. LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN

Este estudio tiene como limitación el número pequeño de muestra y el tiempo corto de seguimiento. Un tema de interés para ensayos clínicos a futuro es ver el tiempo en el que la enfermedad permanece inactiva y si el número de células TRM permanece disminuido. De igual forma se podría evaluar si dosis menores de dexametasona o inmunosupresores diferentes permiten obtener resultados similares disminuyendo la frecuencia de efectos adversos.

Otra perspectiva de investigación sería determinar si el uso de dosis mayores de dexametasona permite obtener resultados con mayor rapidez o si permiten una mayor depleción de las células TRM.

12. CONCLUSIONES

Clínicamente no se observó correlación entre la expresión de células TRM y el tiempo de evolución ni con el porcentaje de superficie corporal afectada. En pacientes con vitíligo activo, los micro pulsos de dexametasona a dosis de 8 mg de por semana durante 12 semanas modifican la expresión de células TRM al disminuir la expresión de los factores de transcripción asociados y de CD103. Por lo tanto, el tratamiento sistémico con micro pulsos de dexametasona podría continuar considerándose como una opción de tratamiento para detener la progresión de la enfermedad en pacientes con vitíligo activo.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Tratamiento de Vitiligo en el Adulto. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, 2011.
2. Salinas-Santander M, Sánchez-Domínguez C, Cantú-Salinas C, Ocampo-Garza J, Cerda-Flores R, et al. Vitiligo: factores asociados con su aparición en pacientes del noreste de México. *Dermatol Rev Mex* 2014;58:232-238.
3. Boniface K, Seneschal J, Picardo M, Taieb A. Vitiligo: Focus on Clinical Aspects, Immunopathogenesis, and Therapy. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 2018; 54:52–67
4. Sasson SC., Gordon C.L., Christo S.N., Klenerman P., Mackay L.K. Local heroes or villains: tissue-resident memory T cells in human health and disease. *Cell. Mol Immunol*. 2020; 17:113–122.
5. Iannella G, Greco A, Didona D, Didona B, Granata G, Manno A, et al. Vitiligo: Pathogenesis, clinical variants and treatment approaches. *Autoimmun Rev*. 2016; 15:335-43 5.
6. Rodrigues M, Ezzedine K, Hamvazi I, Pandya AG, Harris JE. New discoveries in the pathogenesis and classification of vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 2017; 77(1):1-136.
7. Ezzedine K, Silverberg N. A Practical Approach to the Diagnosis and Treatment of Vitiligo in Children. *Pediatrics*. 2016; 138(1): e20154126.
8. Benzekri L, Gauthier Y. Clinical markers of vitiligo activity. *J Am Acad Dermatol*. 2017; 76(5):856-862
9. Wagner RY, Luciani F, Cario-André M, Rubod A, Petit V, Benzekri L, et al. Altered E-Cadherin Levels and Distribution in Melanocytes Precede Clinical Manifestations of Vitiligo. *J Invest Dermatol*. 2015; 135(7):1810-18199.
10. Wang Y, Chang C, Cheng K. Wood's lamp for vitiligo disease stability and early recognition of initiative pigmentation after epidermal grafting. *Int Wound J*. 2017; 14(6):1391-1394.10.
11. Faily A. Vitiligo Extent Tensity Index (VETI) score: a new definition, assessment and treatment evaluation criteria in vitiligo. *Dermatol Pract Concept*. 2014 Oct; 4(4): 81–84.
12. Richmond JM, Strassner JP, Rashigi M, Agarwal P, Garg M, Essien KI, et al.

- Resident Memory and Recirculating Memory T Cells Cooperate to Maintain Disease in a Mouse Model of Vitiligo. *J Invest Dermatol* 2019; 139:769-778.
13. van der Gracht ETI, Behr FM, Arens R. Functional Heterogeneity and Therapeutic Targeting of Tissue-Resident Memory T Cells. *Cells*. 2021; 10:164.
 14. Takamura S. Niches for the Long-Term Maintenance of Tissue-Resident Memory T Cells. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1214
 15. Chen L, Shen Z. Tissue-resident memory T cells and their biological characteristics in the recurrence of inflammatory skin disorders. *Cell Mol Immunol.* 2020; 17:64-75.
 16. Khalil S., Bardawil T., Kurban M., Abbas O. Tissue-resident memory T cells in the skin. *InflammRes.* 2020 ; 69 :245-254
 17. Boniface K., Jacquemin C., Darrigade A.S., Dessarthe B., Martins C., Boukhedouni N., et al. Vitiligo skin is imprinted with resident memory CD8 T cells expressing CXCR3. *J Invest Dermatol.* 2018; 138:355-364.
 18. Fuentes-Duculan J, Gulati N, Bonifacio KM, Kunjraiva N, Xiuzhong Z, Suárez- Fariñas M, et al. Biomarkers of alopecia areata disease activity and response to corticosteroid treatment. *Exp Dermatol.* 2016;25 :282-6.
 19. Richmond JM, Strassner JP, Zapata Jr. L, Garg M, Riding RL, Refat MA, et al. Antibody blockade of IL-15 signaling has the potential to durably reverse vitiligo. *Sci Transl Med.* 2018 July 18; 10(450)
 20. Behr FM, Chuwonpad A, Stark R, van Gisbergen KPJM. Armed and Ready: Transcriptional Regulation of Tissue-Resident Memory CD8 T Cells *Front Immunol.* 2018; 9:1770.
 21. Mackay LK, Minnich M, Kragten NA, Liao Y, Nota B, Seillet C, Zaid A, Man K, Preston S, Freestone D, Braun A, Wynne-Jones E, Behr FM, Stark R, Pellicci DG, Godfrey DI, Belz GT, Pellegrini M, Gebhardt T, Busslinger M, Shi W, Carbone FR, van Lier RA, Kallies A, van Gisbergen KP. Hobit and Blimp1 instruct a universal transcriptional program of tissue residency in lymphocytes. *Science.* 2016; 352:459-6
 22. Milner JJ, Toma C, Yu B, Zhang K, Omilusik K, Phan AT, Wang D, Getzler AJ, Nguyen T, Crotty S, Wang W, Pipkin ME, Goldrath AW. Runx3 programs CD8+ T cell residency in non-lymphoid tissues and tumours. *Nature.* 2017; 552:253-257
 23. Frączek A, Owczarczyk-Saczonek A, Placek W. The Role of TRM Cells in the

Pathogenesis of Vitiligo-A Review of the Current State-Of-The-Art. *Int J Mol Sci.* 2020; 21:3552.

24. Strobl J, Pandey RV, Krausgruber T, Bayer N, Kleissl L, Reiningger B, Vieyra-Garcia P, Wolf P, Jentus MM, Mitterbauer M, Wohlfarth P, Rabitsch W, Stingl G, Bock C, Stary G. Long-term skin-resident memory T cells proliferate in situ and are involved in human graft-versus-host disease. *Sci Transl Med.* 2020;12: eabb7028.

25. Willemsen M, Linkutė R, Luiten RM, Matos TR. Skin-resident memory T cells as a potential new therapeutic target in vitiligo and melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2019;32(5):612-622

26. Rutishauser RL, Martins GA, Kalachikov S, Chandele A, Parish IA, Meffre E, Jacob J, Calame K, Kaech SM. Transcriptional repressor Blimp-1 promotes CD8(+) T cell terminal differentiation and represses the acquisition of central memory T cell properties. *Immunity.* 2009; 31:296-308.

27. Li H, Wang C, Li X, Kong Y, Sun W. CCL17-CCR4 axis contributes to the onset of vitiligo in mice. *Immun Inflamm Dis.* 2021; 9:702-709.

28. Kanwar AJ, Mahajan R, Parsad D. Low-Dose Oral Mini-Pulse Dexamethasone Therapy in Progressive Unstable Vitiligo. *J Cutan Med Surg.* 2013; 17:259-68.

29. Bishnoi A, Parsad D. Clinical and Molecular Aspects of Vitiligo Treatments. *Int J Mol Sci.* 2018; 19: 1509

30. Kumar D, Sehrawat S. Divergent Effects of a Transient Corticosteroid Therapy on Virus-Specific Quiescent and Effector CD8+ T Cells. *Front Immunol.* 2019;10:1521.

31. García-García JA, Reding-Bernal A, López-Alvarenga JC. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Inv Ed Med.* 2013;2(8):217-224

14. ANEXOS

ANEXO 1. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES PRIETO” .

DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA

PACIENTE ADULTO

TÍTULO DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN	
“Expresión de las células T Residentes de Memoria en pacientes con vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides sistémicos”	
N.º REGISTRO DEL PROTOCOLO AUTORIZADO ANTE EL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN	PERIODO DE EJECUCIÓN DEL PROTOCOLO AUTORIZADO
CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427	2021-2022
INVESTIGADOR PRINCIPAL	ADSCRIPCIÓN DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL
Dra. María Bertha Torres Álvarez	Departamento de Dermatología Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”
COINVESTIGADORES	ADSCRIPCIÓN DEL COINVESTIGADOR
Dra. Diana Vianey Hernández Blanco Dr. Juan Diego Cortés García	Departamento Dermatología/ Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, Facultad de Medicina, U.A.S.L.P

FECHA DE LA PRESENTACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
N.º DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE	

El Departamento de Dermatología del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” realiza un ensayo de investigación en colaboración con la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí con el objetivo de estudiar las células que participan en el vitiligo. Se le invita a participar en este protocolo ya que cumple con los requisitos para ser incluido. A lo largo de este documento, se explica cuál es el objetivo del protocolo de investigación, en qué consistiría su participación y cuáles son los beneficios y posibles riesgos de participar. Le pedimos que lea cuidadosamente la información antes de tomar su decisión. Este estudio incluirá quince pacientes con este diagnóstico y se hará en su totalidad en el servicio de Dermatología de este hospital.

INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE:

El vitiligo es una enfermedad caracterizada por manchas blancas en la piel. Es frecuente, alrededor de 3 a 4 de cada 100 personas en México la presenta. Es ocasionada por múltiples factores, entre ellos se encuentra la participación de células de la respuesta inmune (sistema encargado de defender al cuerpo de infecciones) que de forma incorrecta eliminan a las células que dan color a la piel (melanocitos).

En esta enfermedad, es importante el inicio temprano del tratamiento para lograr detenerla antes de tener manchas de mayor tamaño.

Usted ha sido invitado a participar en este estudio por tener diagnóstico de vitiligo y tener edad en el rango de 18 a 60 años.

En este estudio se le hará una historia clínica exhaustiva para detectar posibles enfermedades o condiciones que no permitan su participación, se le tomarán fotografías clínicas antes y después del tratamiento, y se le tomarán tres muestras de piel en total.

OBJETIVO DEL ESTUDIO: ver si existen cambios en la cantidad de células que destruyen el color de la piel posterior a dar tratamiento con pastillas.

PROCEDIMIENTOS A LOS QUE SE SOMETERÁ LA PACIENTE

La participación en este protocolo es totalmente voluntaria. Si acepta participar, le solicitamos que lea este documento de consentimiento informado y realice todas las preguntas necesarias a la Dra. Dalia Cruz Sotomayor para que pueda responderlas. Cuando ya no tenga dudas con respecto a lo que se busca realizar en este estudio,

se le pedirá que ponga por escrito su aceptación para participar al final de este documento

Posterior a la firma de este documento, se hará una entrevista de aproximadamente quince minutos para obtener información general sobre sus datos personales y antecedentes médicos. Al finalizar esta entrevista, solicitaremos su autorización para realizar una exploración física, con estrictas normas de privacidad, para ver la extensión de la enfermedad. Posteriormente, y de tener su autorización, se tomarán las fotografías clínicas ya mencionadas.

Estas fotografías se tomarán de los lugares donde tenga manchas blancas de vitiligo (cara, brazos, piernas, manos, pies, abdomen o espalda).

Se le solicita también que autorice a la Dra. Dalia Cruz Sotomayor obtener tres muestras de piel de 4 mm de diámetro (lo equivalente al tamaño de una lenteja).

En la primera consulta se tomará una muestra de piel de vitiligo (mancha blanca) y una muestra de piel con color (que se encuentre a 3 centímetros de la mancha de vitiligo). En la tercera consulta, al finalizar el tratamiento, se tomará sólo una muestra de piel blanca (piel de vitiligo). Para evitar que la cicatriz de la muestra de piel se vea fácilmente por otras personas, se tomará la muestra de piel en manchas blancas que estén en la espalda, en el abdomen o en alguna parte de las piernas o los brazos que pueda esconderse fácilmente con la ropa.

Se evitará el dolor durante el procedimiento aplicando anestesia líquida a través de una inyección que dormirá únicamente donde se tomará la muestra de piel.

Posteriormente se realizará cierre de piel con sutura, y se le pondrá un parche.

Posterior a que se tome las muestras de piel, se le dará el inicio del tratamiento el cual consta de pastillas de un medicamento para disminuir la inflamación conocido como dexametasona y que deberá ingerirse por vía oral en dos días seguidos de la semana. Estas pastillas deberán tomarse por 8 semanas. Desde hace mucho tiempo, este tratamiento ya se utiliza en pacientes con la misma enfermedad que usted tiene porque ha mostrado ayudar a detener la enfermedad y se considera de bajo riesgo. Por lo tanto, las pastillas que tomará en este estudio no son diferentes al tratamiento habitual de otras personas con vitiligo.

Al finalizar las 8 semanas de tratamiento, se tomarán nuevas fotografías clínicas y se tomará una nueva muestra de piel de vitiligo (mancha blanca). Ya no se tomará nueva muestra de piel con color.

Cualquier situación que pudiera ocurrir posterior a tomar las muestras de piel, como sangrado o infección de la herida, será atendido en la consulta de Dermatología de este hospital y NO generará un costo adicional a sus consultas habituales.

RESPONSABILIDADES DEL PACIENTE

Su participación en este estudio es voluntaria. Puede rehusarse a hacerlo o retirarse del ensayo en cualquier momento que decida, sin que esto condicione una penalización o pérdida de los beneficios a los que tiene derecho. De aceptar participar en este ensayo, usted tiene la responsabilidad de apegarse a las instrucciones de uso del fármaco, así como notificar si durante el mismo empieza a tomar medicamentos no reportados previamente, inicia un embarazo, o es sometido a hospitalizaciones y/o cirugías mayores.

BENEFICIOS PARA EL PACIENTE

El tratamiento con las pastillas que se utilizarán en este estudio detiene la enfermedad en un gran número de personas con vitiligo que lo utilizan.

Debido a que es un tratamiento que se ha observado que ayuda a los pacientes con vitiligo, incluso si usted decide no participar en este estudio, se le indicará el mismo tratamiento para su enfermedad

Su participación en este ensayo no generará ningún tipo de remuneración económica.

BENEFICIOS PARA LA SOCIEDAD

Este estudio ayudará a entender el efecto de un medicamento ya conocido, llamado dexametasona, sobre las células involucradas en el desarrollo de la enfermedad. Con esto se busca crear conocimiento que pueda ayudar a diseñar tratamientos que funcionen por más tiempo para los pacientes con vitiligo.

POTENCIALES RIESGOS PARA LA PACIENTE

La biopsia de piel es un procedimiento rápido y de mínima invasión. Durante el procedimiento existe riesgo de dolor al momento de la punción y aplicación de la anestesia local, ya que se realiza a través de una jeringa y aguja delgada. La cantidad de sangrado durante el procedimiento es muy baja y el riesgo de infección es mínimo. A pesar de la poca frecuencia de estos eventos, los investigadores estarán atentos a cualquier situación y se le atenderá para la resolución de cualquier complicación que llegue a presentarse de las tres muestras de piel que usted donará. El material utilizado para el procedimiento es totalmente estéril

Si posterior al procedimiento usted nota malestar persistente como enrojecimiento, hinchazón, dolor o salida de pus en la zona donde se realizó la biopsia, deberá comunicarse con la Dra. Dalia Cruz Sotomayor para que de la atención y el tratamiento que correspondan.

En estudios previos los efectos adversos reportados con el uso de dexametasona a dosis de 2.5 mg vía oral dos veces por semana son aumento de peso, cansancio y lesiones parecidas al acné (granos, espinillas, barros) en la piel. Los tratamientos alternativos disponibles para vitiligo incluyen otros medicamentos que disminuyen la inflamación en la piel y que pueden tomarse vía oral, aplicarse en pomadas, o ser inyectados.

CONSIDERACIONES ÉTICAS Este estudio se considera de riesgo mayor que el mínimo debido a las muestras de piel que se tomarán. Sin embargo, la cantidad de sangrado durante el procedimiento es muy baja, la muestra a obtener es del tamaño de una lenteja y el riesgo de infección es mínimo.

Se le dará una copia de este documento, firmado por el investigador responsable donde encontrará sus datos de contacto y los datos del Comité de Ética en Investigación de este hospital para aclarar cualquier duda que pudiese tener.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS AL FINALIZAR EL ESTUDIO

Los investigadores, médicos tratantes, estudiantes o cualquier otra persona relacionada con este proyecto no podrán comercializar, donar o intercambiar alguna de las muestras que usted ha consentido en donar para los propósitos descritos en este documento.

Es importante explicarle que a ninguna muestra de piel se la harán estudios o cambios de genes (por ejemplo, clonación) y que posterior al estudio no sobrá muestra que pueda ser utilizada después.

Cualquier estudio posterior derivado de este proyecto y que los investigadores responsables requieran realizar con sus datos médicos y que no esté relacionado con los objetivos específicos descritos en este documento de consentimiento informado, deberá ser notificado al Comité de Ética en Investigación del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" de San Luis Potosí, S.L.P. para que sea evaluado y de ser el caso si así lo juzga pertinente, sea aprobado para su realización

PARTICIPACIÓN O RETIRO

La participación en este protocolo de estudio es voluntaria. Aunque usted decida aceptar participar, puede revocar o anular el consentimiento que ahora firma, sin necesidad de dar explicación y podrá realizarlo en cualquier momento.

Para terminar su participación, deberá informarlo a la Dra. Dalia Cruz Sotomayor, quién le proporcionará un documento en el que usted dará algunos datos e indicará que desea retirarse del estudio. Esta decisión no afecta la atención médica que recibirá en el Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” para su diagnóstico.

A través de la firma de este documento se autoriza, por parte de usted como paciente, el acceso directo a su registro médico original para verificación de los procedimientos y datos del estudio clínico. La autorización será otorgada a monitor(es), auditor(es), miembros del comité de ética en investigación y a la(s) autoridad(es) reguladora(s). Lo anterior siempre con el compromiso de cuidar su confidencialidad siguiendo las leyes y regulaciones actuales.

GARANTÍA DE CONFIDENCIALIDAD

La información personal y médica que usted proporcione para en este estudio será de carácter estrictamente confidencial y será utilizada únicamente por el equipo de investigación de este proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Esta información se conjuntará con la de otros participantes para realizar el presente estudio. Con la finalidad de mantener el anonimato, se le asignará un código para el uso de sus datos.

Si usted así lo decide, los investigadores responsables de este estudio le podrán informar a su médico tratante que usted ha aceptado participar en este estudio, para que la información que se obtenga sea incluida en su expediente clínico. Con esta finalidad, le pediremos que indique al final de este documento si está o no de acuerdo en lo anterior.

Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos en revistas especiales dirigidas al personal médico, de enfermería, químicos e investigadores relacionados con el área de la salud con la finalidad de que conozcan cómo se modifica la expresión de las Células T residentes de memoria con la administración de dexametasona en los pacientes con vitiligo. También los resultados de este estudio podrían ser presentados en reuniones científicas en las que se discuten los

nuevos hallazgos que se han obtenido de este y otros estudios relacionados con la salud y el tratamiento de pacientes con su mismo diagnóstico. Los datos clínicos de todos los participantes se presentarán de forma anónima, de tal manera que usted o cualquiera de los participantes en este estudio no puedan ser identificados.

De acuerdo a la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados y a Ley de Protección de Datos Personales del estado de San Luis Potosí, sus datos personales no podrán tratarse transferirse o utilizarse para fines no descritos expresamente en este documento, a menos que sea estrictamente necesario para el ejercicio y cumplimiento de las atribuciones y obligaciones expresamente previstas en las normas que regulan la actuación de los investigadores responsables del estudio; se dé cumplimiento a un mandato legal; sea necesarios por razones de seguridad pública, orden público, salud pública o salvaguarda de derechos de terceros.

Cualquier otro uso que se requiera para sus datos, análisis clínicos o manejo de sus muestras y/o resultados de los análisis en el laboratorio de investigación que se describen en este documento, deberá ser informado y solicitado con la debida justificación al Comité de Ética en Investigación de este Hospital, quien determinará la pertinencia de la solicitud y en su caso, autorizará un uso diferente para sus datos, muestras y/o productos derivados de sus muestras y/o resultados. Siempre en apego a los lineamientos y normas legislativos nacionales e internacionales y en beneficio y protección de la integridad de los actores participantes.

Existen instituciones u organismos mexicanos como la Secretaría de Salud, la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos sanitarios (COFEPRIS), la Comisión Nacional de Bioética (CONBIOETICA) o incluso el Comité de Ética en Investigación (CEI) de este hospital, que se encargan de vigilar el buen manejo de los datos personales y médicos que usted y los demás pacientes han autorizado para que sean utilizados en la realización de estudios de investigación como el presente. Estas instituciones u organismos pueden solicitar en cualquier momento a los investigadores de este estudio, la revisión de los procedimientos que se realizan con su información y con sus mediciones, con la finalidad de verificar que se haga un uso correcto y ético de los mismos; por lo que podrán tener acceso a esta información que ha sido previamente asignada con un código de identificación, cuando así lo requieran.

COMPROMISO DE RESPUESTA A PREGUNTAS Y DUDAS

Para realizar cualquier pregunta, duda o aclaración sobre este el estudio de la dexametasona en vitiligo, o sobre alguna reacción adversa relacionada con el medicamento que usted está tomando como tratamiento y que le ha sido indicado por su médico tratante, usted puede comunicarse con:

Dra. Dalia Cruz Sotomayor

- Departamento de Dermatología
- Institución: Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

Si usted tiene alguna pregunta con respecto a sus derechos como participante en el estudio de investigación, también puede ponerse en contacto con una persona no involucrada con el equipo de investigadores de este estudio:

Dr. Juan José Ortiz Zamudio

- Presidente del Comité de Ética en Investigación Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

ACEPTACIÓN DEL DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL ESTUDIO TIPO ANTES Y DESPUÉS DE TRATAMIENTO

Si usted desea consentir su participación en esta investigación, por favor firme y feche este documento en los espacios proporcionados en la parte inferior y ponga sus iniciales en cada página. Su firma significa que usted acepta lo siguiente:

1. Se me ha dado información completa y adecuada en forma verbal y por escrito sobre el objetivo de este protocolo de investigación, sus beneficios y riesgos implicados.
2. Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento y terminar mi participación en este protocolo en cualquier momento sin afectar mi derecho a recibir atención médica.
3. Es mi responsabilidad preguntar para aclarar cualquier punto que no entienda con relación a mi participación en este estudio. He hecho todas las preguntas a la persona que realiza el proceso de consentimiento y he recibido respuestas satisfactorias.
4. No he ocultado o distorsionado cualquier condición médica actual o cualquier antecedente médico que pudiera perjudicar o afectar mi salud. He respondido todas las preguntas con relación a mi salud en forma precisa y verdadera.
5. Tengo 18 años o más y soy legalmente capaz de dar este consentimiento.
6. Acepto participar en este estudio sobre la expresión de células T residentes de memoria antes y después de tratamiento de manera voluntaria sin que me hayan presionado, manipulado y/u obligado. Entiendo que mi negación a participar o la discontinuación de mi participación en cualquier momento, no implicará penalidad o pérdida de beneficios a los que de otra forma tengo derecho.
7. Entiendo y estoy de acuerdo en que la información obtenida a partir del presente estudio puede ser utilizada para la publicación de estos resultados como parte de la divulgación científica y como apoyo a la práctica clínica, pero que en todo momento se utilizará un código asignado para mantener mi anonimato y la confidencialidad de mis datos.
8. Me han explicado que la información personal y clínica que he consentido en proporcionar conservará mi privacidad y que se utilizará solo para los fines que deriven de este estudio. Los datos relacionados con mi privacidad personal y/o

familiar serán manejados en forma confidencial ya que se utilizará un código asignado para mantener mi anonimato y la confidencialidad de todos los datos y resultados.

9. Los investigadores que participan en este proyecto se han comprometido a proporcionarme la información actualizada que pueda ser importante para mi salud y que se obtenga durante el estudio en el momento en el que lo solicite y me entregarán una copia firmada de este documento de consentimiento informado.

AUTORIZACIÓN PARA EL ACCESO AL EXPEDIENTE CLÍNICO DEL PACIENTE Y USO DE DATOS CLÍNICOS

Se le solicita que indique su acuerdo o desacuerdo para que los investigadores responsables de este proyecto puedan revisar su expediente clínico y utilizar los datos clínicos que se encuentran descritos en el mismo, de manera anónima para este protocolo de investigación, cuyos objetivos y procedimientos se le han explicado. Marque con una X su respuesta:

Sí, doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso de los datos en mi expediente clínico en la investigación que me han explicado.

No doy mi autorización a los investigadores que participan en este proyecto para el uso de los datos en mi expediente clínico en la investigación que me han explicado.

Autorización para el uso de mis datos personales de contacto

Se le solicita que indique su acuerdo o desacuerdo para que únicamente los investigadores responsables de este estudio de investigación puedan utilizar los datos personales de contacto como teléfono fijo, teléfono móvil, correo electrónico o redes sociales que usted ha indicado, para poder localizarme de ser necesario para una posible cita y/o entrevista o participación en un seguimiento de mi enfermedad y/o tratamiento. Marque con una X su respuesta:

Sí, doy mi autorización a los investigadores que me localicen utilizando mis datos de contacto para un posible seguimiento de mi enfermedad o tratamiento, como me han explicado.

No doy mi autorización a los investigadores que me localicen utilizando mis datos de contacto para un posible seguimiento de mi enfermedad o tratamiento, como me han explicado.

Autorización para informar a mi médico tratante de mi participación en este estudio de investigación y para que mis resultados sean incluidos en mi expediente clínico.

Se le solicita que indique su acuerdo o desacuerdo para que los investigadores responsables de este estudio de investigación le informen a mi médico tratante, el Dr. (a) _____, que he aceptado participar en el “Estudio de las células T Residentes de Memoria en pacientes con vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides

sistémicos” con el número de registro 54-20 ante el CEI de este hospital y para que los resultados obtenidos con las muestras de piel que he consentido en proporcionar sean incluidos en mi expediente clínico para que puedan ser utilizados como referencia para mi tratamiento con dexametasona vía oral por mi médico tratante. Marque con una X su respuesta:

Sí, doy mi autorización a los investigadores para que informen a mi médico tratante de mi participación en este estudio de investigación y para que se incluyan mis resultados en mi expediente, de acuerdo con lo anterior mencionado y como me han explicado.

No doy mi autorización a los investigadores para que informen a mi médico tratante de mi participación en este estudio de investigación y para que se incluyan mis resultados en mi expediente, de acuerdo con lo anterior mencionado y como me han explicado.

Por medio del presente documento de consentimiento informado acepto participar en el estudio de investigación denominado “Expresión de las células T Residentes de Memoria en pacientes con vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides sistémicos” de manera libre y voluntaria.

NOMBRE DEL PACIENTE	FIRMA DE ACEPTACIÓN DEL PACIENTE
FECHA DE LA OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
NOMBRE DEL REPRESENTANTE LEGAL (si es necesario)	FIRMA DE ACEPTACIÓN DEL REPRESENTANTE LEGAL
FECHA DE LA OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	PARENTESCO
DIRECCIÓN / TELÉFONO DE CONTACTO DEL TESTIGO 1	
NOMBRE DEL TESTIGO 1	FIRMA DEL TESTIGO 1
FECHA	PARENTESCO
DIRECCIÓN / TELÉFONO DE CONTACTO DEL TESTIGO 1	

NOMBRE DEL TESTIGO 2	FIRMA DEL TESTIGO 2
FECHA	PARENTESCO
DIRECCIÓN / TELÉFONO DE CONTACTO DEL TESTIGO 2	

Dra. Dalia Cruz Sotomayor INVESTIGADOR PARTICIPANTE EN EL PROTOCOLO

Dra. María Bertha Torres Álvarez	Dr. Juan Diego Cortés García
INVESTIGADOR PRINCIPAL RESPONSABLE DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” Cédula profesional1353860	DIRECTOR METODOLÓGICO DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN EN EL HOSPITAL DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA/UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ CÉD. PROFESIONAL 3817022

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Manifiesto al Investigador Principal, el Dra. María Bertha Torres Álvarez que es mi voluntad revocar el consentimiento informado que he aceptado el día, para participar en el protocolo de Investigación titulado “Estudio de las células T Residentes de Memoria en pacientes con vitiligo antes y después del uso de glucocorticoides sistémicos” Es mi derecho solicitar que mis datos clínicos y personales, así como los resultados de las pruebas que me han realizado hasta el momento sean eliminadas de esta investigación y ya no sean incluidas en los resultados finales y los reportes o publicaciones que se generarán de este estudio de investigación.

NOMBRE DEL PACIENTE	FIRMA DEL PACIENTE
FECHA DE LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
NOMBRE DEL TESTIGO 1	FIRMA DEL TESTIGO 1
FECHA DE LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
NOMBRE DEL TESTIGO 2	FIRMA DEL TESTIGO 2
FECHA DE LA REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	
Dra. María Bertha Torres Álvarez	
INVESTIGADOR PRINCIPAL RESPONSABLE DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA CÉDULA PROFESIONAL: 1353860	