

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
HOSPITAL DOCENTE CLÍNICO QUIRÚRGICO: “HERMANOS AMELJEIRAS”
DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA



TERAPIA COMBINADA DE CRIOCIRUGÍA E INTERFERÓN ALFA-2B
HUMANO RECOMBINANTE EN EL CONDILOMA ACUMINADO.

Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias Médicas.

Autor:
Dr. Israel Alfonso Trujillo

La Habana
2014

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
HOSPITAL DOCENTE CLÍNICO QUIRÚRGICO: “HERMANOS AMELJEIRAS”
DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGÍA

TERAPIA COMBINADA DE CRIOCIRUGÍA E INTERFERÓN ALFA-2B
HUMANO RECOMBINANTE EN EL CONDILOMA ACUMINADO.

Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas.

Autor:

Dr. Israel Alfonso Trujillo
Especialista de Segundo Grado en Dermatología
Máster en Enfermedades Infecciosas.
Profesor auxiliar.

Tutor:

Dr.C. Pedro Antonio López Saura.
Doctor en Ciencias Biológicas.
Especialista de Segundo Grado en Bioquímica Clínica
Profesor e Investigador Titular.

La Habana
2014

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es el fruto del esfuerzo, dedicación y amor, de muchas personas consagradas a mejorar la salud de nuestros enfermos.

Hoy al culminarlo debo agradecer:

Al **Profesor Bartolomé Sagaró Delgado**, que en paz descanse, por sus enseñanzas y su enorme contribución a mi formación como Dermatólogo.

A todo el **personal del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología** que estuvo involucrado en estos estudios, y en especial a mi tutor **Profesor Pedro Antonio López Saura**, por su dedicación, por sus numerosas horas de entrega, imprescindibles en la realización de este trabajo.

A todos los **pacientes** que participaron en estos ensayos clínicos, sin los cuales no hubiera sido posible llevar adelante este estudio.

A **mi familia** por su estímulo y ayuda incondicional para seguir adelante en los momentos en que más lo necesité, para ellos toda la gratitud del mundo no alcanza, sin su ayuda no hubiese logrado todos los éxitos obtenidos durante estos 43 años de vida.

A todas las **personas** que de una forma u otra me han ayudado tanto en la realización de estos estudios, como en el desarrollo de mi vida profesional.

Al **tribunal del examen**, que con sus **sugerencias, consejos y enseñanzas**; ayudarán a perfeccionar mi formación como científico del nuevo milenio.

Por último quisiera agradecerle a la **vida** por haberme enseñado que **vivir** es todo un **arte** y que a pesar de las **adversidades**, para triunfar solo hace falta una **mano amiga**, un poco de **amor** y una buena cuota de **voluntad**.

A todos:

“Muchas gracias”.

El autor.

DEDICADO a:

Tía “Licha”

Por seguir siendo mi fuente de inspiración, a pesar de estar en el cielo.

Mi madre “Carusiña”

Por guiarme por el camino de la inquietud intelectual,
por su entrega y apoyo incondicional.

Mi padre “Pipo”

Aun estando en el cielo sigue siendo mi ejemplo de amor ante el trabajo,
perseverancia, consagración y espíritu de sacrificio.

Mi prima “Mary”

Por su magnífica devoción a la familia y
por dar valor a todas las cosas.

Los cuatro

Han deseado siempre mis éxitos tanto o más que yo.

TÍTULO: TERAPIA COMBINADA DE CRIOCIRUGÍA E INTERFERÓN ALFA-2B HUMANO RECOMBINANTE EN EL CONDILOMA ACUMINADO.

SINTESIS:

Antecedentes: Las continuas recidivas del condiloma acuminado hace necesario la búsqueda constante de alternativas terapéuticas.

Pacientes y método: Para evaluar la eficacia terapéutica y seguridad del interferón alfa-2b asociado a criocirugía en el condiloma acuminado fue realizado un ensayo clínico abierto en 170 pacientes del hospital “Hermanos Ameijeiras” que fueron aleatorizados a recibir durante 6 semanas (grupo A) 3×10^6 UI de interferón subcutáneo, 3 veces por semana y aplicación quincenal de criocirugía o (grupo B) solamente criocirugía. La variable principal fue el porcentaje de recidiva al año de seguimiento, evaluadas trimestralmente. Hubo además un control riguroso de los eventos adversos.

Resultado: Al finalizar el tratamiento 78/84 (92,9 %) pacientes del grupo A y 59/86 (68,6 %) del grupo B quedaron sin lesiones. Durante el seguimiento, 2 (2,6 %) del grupo A y 50 (84,7 %) del grupo B tuvieron recidivas ($p < 0,001$). Los eventos más frecuentes fueron ardor local (98,8 %) por la criocirugía y la fiebre (35,3 %), cefalea (17,6 %) y mialgias (12,9 %) por el interferón.

Conclusión: El interferón asociado a la criocirugía brinda beneficios para la calidad de vida de los pacientes, con reducción absoluta del 80,5 % y relativa del 96,9 % del riesgo de recidivar.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--|-----------|
| INTRODUCCIÓN. | 1 |
| Datos sobre el problema en cuestión y su contexto. | 1 |
| Problema científico. | 8 |
| Hipótesis de trabajo. | 8 |
| Objetivos. | 9 |
| Objetivo general. | 9 |
| Objetivos específicos. | 9 |
| CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO..... | 11 |
| Objetivo del capítulo. | 12 |
| I.1 Criocirugía y su eficacia en el condiloma acuminado. | 12 |
| Antecedentes históricos. | 12 |
| Indicaciones de la criocirugía. | 13 |
| Contraindicaciones y precauciones a tener presente | 14 |
| Mecanismo de acción | 14 |
| Repercusión de los ciclos de congelación y descongelación | 15 |
| Criogenos | 16 |
| Procedimiento de aplicación de la criocirugía. | 16 |
| Complicaciones de la criocirugía. | 17 |
| Ensayos que avalan el uso de la criocirugía en el condiloma acuminado. | 18 |
| I.2 Interferón y su eficacia en el condiloma acuminado. | 23 |
| Antecedentes históricos. | 23 |

| | |
|--|-----------|
| Tipos y clasificación. | 24 |
| Indicaciones del interferón. | 26 |
| Contraindicaciones | 27 |
| Mecanismo de acción | 27 |
| Acción antiviral | 28 |
| Acción antiproliferativa | 30 |
| Acción inmunomoduladora | 33 |
| Eventos adversos | 35 |
| Ensayos que avalan el uso del interferón en el condiloma acuminado | 36 |
| Conclusiones del capítulo | 47 |
| CAPÍTULO II: DISEÑO METODOLÓGICO..... | 48 |
| II.1. Diseño del ensayo | 49 |
| II.2. Ética | 50 |
| II.3. Selección de pacientes | 52 |
| II.3.1. Universo de estudio | 52 |
| II.3.2. Criterios de inclusión | 52 |
| II.3.3. Criterios de exclusión | 53 |
| II.3.4. Criterios de interrupción del tratamiento o la evaluación | 54 |
| II.4. Tratamiento | 54 |
| II.4.1. Productos y esquema terapéutico | 54 |
| II.4.2. Método de asignación de los tratamientos a los pacientes | 56 |
| II.4.3. Selección de la dosis del estudio | 57 |

| | |
|--|-----------|
| II.4.4. Especificaciones para reducir sesgos | 57 |
| II.4.5. Terapia previa y concomitante | 59 |
| II.5. Variables de evaluación | 59 |
| II.5.1. Variable primaria o principal de eficacia | 59 |
| II.5.2. Variables secundarias de eficacia | 60 |
| II.5.3. Variables de control | 61 |
| II.6. Recolección y tratamiento de los datos | 61 |
| II.6.1. Modelos de recolección de la información y descripción del contenido de cada uno | 61 |
| II.6.2. Procedimiento para conservar la información | 63 |
| II.7. Aseguramiento de la calidad | 63 |
| II.8. Métodos estadísticos utilizados y tamaño de muestra | 64 |
| II.8.1. Plan de análisis estadístico | 64 |
| II.8.1.1. Variable principal | 64 |
| II.8.1.2. Variables secundarias | 65 |
| II.8.1.3. Variables de seguridad | 65 |
| II.8.1.4. Variables de control | 65 |
| II.8.2. Determinación del tamaño de muestra | 66 |
| CAPÍTULO III: RESULTADOS..... | 67 |
| III.1. Disposición de los sujetos | 68 |
| III.2. Evaluación de la eficacia | 69 |
| III.2.1. Conjunto de datos analizados | 69 |

| | |
|---|------------|
| III.2.2. Características demográficas y de base | 69 |
| III.2.3. Cumplimiento del tratamiento | 71 |
| III.2.4. Resultados de eficacia | 72 |
| III.2.4.1. Respuesta al tratamiento | 72 |
| III.2.4.2. Recidivas | 74 |
| III.2.4.3. Variables secundarias de respuesta | 76 |
| III.2.5. Evaluación de la seguridad | 77 |
| III.2.5.1. Extensión de la exposición | 77 |
| III.2.5.2. Eventos adversos | 77 |
| CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN..... | 81 |
| CONCLUSIONES..... | 89 |
| RECOMENDACIONES..... | 91 |
| PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL AUTOR SOBRE EL TEMA DE LA TESIS..... | 93 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 103 |
| ANEXOS..... | 136 |
| Anexo 1. Consentimiento informado. | 137 |
| Anexo 2. Modelo de atención ginecológica. | 140 |
| Anexo 3. Tarjeta de cumplimiento del tratamiento. | 141 |
| Anexo 4. Comunicación al área de salud de un paciente en ensayo clínico. | 143 |

LISTADO DE ABREVIATURAS Y DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.

CA: Condiloma acuminado.

CECMED: Centro Estatal para el Control de los Medicamentos.

CIB: Centro de Investigaciones Biológicas.

CIGB: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

CRE: Comité de Revisión y Ética.

CRD: Cuaderno de recolección de datos.

ETS: Enfermedad de Transmisión Sexual.

ITS: Infección de Transmisión Sexual.

HA: Hospital Hermanos Ameijeiras.

IFN: Interferón.

MINSAP: Ministerio de Salud Pública.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

PPO: Procedimientos Patrones Operacionales.

VP: Virus del Papiloma Humano.

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad.

CPA: Célula presentadora de antígeno.

Ig: Inmunoglobulina.

CD: *Clusters* de diferenciación.

Th: Linfocito T auxiliador.

Tc: Linfocito T citotóxico.

TCR: Receptor de células T.

TNF: Factor de necrosis tumoral.

NK: Células asesinas naturales.

kD: Kilodaltons.

G: Fase de crecimiento del ciclo celular.

S: Fase de síntesis de ADN del ciclo celular.

ADN: Ácido dextrirribonucleico.

ARN: Ácido ribonucleico.

ARNt: Ácido ribonucleico de transferencia.

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.

ATP: Adenosín trifosfato.

Jak: Proteína quinasa.

Tyk: Proteína quinasa.

pRb: Proteína retinoblastoma.

Cdk: Proteínas ciclinas.

STAT: Moléculas encargadas de transducir la señal hacia el interior de la célula y activar la transcripción.

ISGF: Factor genético estimulador del IFN.

E2F: Enzima que activa los genes para la replicación del ADN.

C myc: Pertenecen a la familia de protooncogenes. Los protooncogenes son genes cuya presencia o activación a oncogenes pueden estimular el desarrollo de cáncer.

P53: El gen p53 es un gen supresor tumoral que desempeña un papel importante en apoptosis y control del ciclo celular. Un p53 defectuoso podría permitir que las células anormales proliferen dando por resultado cáncer.

INTRODUCCIÓN:

Datos sobre el problema en cuestión y su contexto.

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) continúan teniendo una frecuencia inaceptablemente alta, fundamentalmente entre personas jóvenes en edad reproductiva y con vida sexual activa^{1,2}.

Múltiples son las ITS que afectan al humano, entre ellas se encuentran la sífilis, la blenorragia, la clamidias, el chancro blando, el herpes simple, el SIDA y el condiloma acuminado^{3,4}.

El condiloma acuminado (CA), afección producida por el virus papiloma del humano (VPH), es la ITS que más frecuentemente afecta al humano^{5,6}. En Estados Unidos se reportan más de 5,5 millones de casos nuevos por año, aunque se estima que las cifras sean superiores y que el subregistro sea debido a que muchos casos son asintomáticos, otros están en período de latencia y otros ya tienen una neoplasia cervical intraepitelial^{7,8}.

La prevalencia del CA es difícil de estimar, porque con mayor frecuencia se expresa de forma subclínica o latente. Con el uso de pruebas específicas, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la detección del ácido desoxirribonucleico (ADN) del VPH, se ha encontrado que las infecciones genitales por dicho virus varían desde el 20 % hasta el 75 % en mujeres y hombres que tienen actividad sexual^{9,10}.

El CA también es llamado verruga anogenital. Se caracteriza por proliferaciones conjuntivo-epiteliales, consistentes en pápulas rosadas, blandas, en forma de proyecciones filiformes o masas vegetantes parecidas a una coliflor que se localizan en los genitales externos, las mucosas cercanas (vagina, uretra, recto), la región

anoperineal, así como en los pliegues inguinales. Su tamaño puede ser variable y en ocasiones pueden llegar a alcanzar gran tamaño^{11, 12}.

La transmisión suele ocurrir por la inoculación directa del virus tras el contacto con lesiones activas^{13, 14}. Se plantea que las infecciones genitales por VPH aparecen con más frecuencia al inicio de la edad adulta en ambos sexos^{15, 16} y se puede expresar en forma clínica, subclínica y latente^{17, 18}.

La manifestación clínica habitual son las verrugas anogenitales^{19, 20}. En la infección subclínica las lesiones sólo son visibles por colposcopia o con la aplicación de ácido acético al 3 a 5 %^{21, 22}. La infección latente, sin evidencia clínica, ni histológica, solo es posible identificarla con métodos de detección del ADN²³⁻²⁹.

El virus del papiloma humano constituye una familia de virus ADN de doble cadena y sin cubierta de la familia papovaviridae. Se dice que contiene aproximadamente 8000 pares de bases encapsuladas por cada cápsida³⁰⁻³³.

Las infecciones genitales por virus del papiloma pueden infectar al hombre y a una gran variedad de mamíferos, pero son específicos para cada especie³⁴⁻³⁸. Gracias al análisis del genoma mediante técnicas de PCR se han identificado más de 120 tipos distintos de VPH^{39, 40}. Cada uno de ellos se ha asociado a determinadas lesiones cutáneas y mucosas^{41, 42}.

Se han identificado varios grupos de subtipos, según sus propiedades infectivas:

- genotipos con localización preferentemente en la piel no genital: VPH 1, 2, 3, 4, 7, 10, 41, y otros^{43, 44};
- genotipos con tendencia a afectar la piel genital y las mucosas: VPH 6, 11, 13, 16, 18, 31, 33 y 35^{45, 46};

- genotipos que se detectan en relación con la epidermodisplasia verruciforme: VPH 5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 19, 25, 36, 37, 46, 47 y 50^{47, 48};
- genotipos de mayor riesgo de cáncer cervical: VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82^{49, 50};
- genotipos con bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 y 81^{51, 52};
- tres genotipos que se han clasificado como probable alto riesgo: 26, 53 y 66^{53, 54}.

Más del 90 % de las verrugas genitales son producidas por los genotipos VPH 6 u 11^{55, 56}.

Más del 70 % de los casos de cáncer cervical están relacionados con los genotipos VPH 16 o 18^{57, 58}.

Esta amplia distribución y heterogeneidad del VPH en la población^{59, 60}, sugiere que la evolución del virus ha conseguido su adaptación a mecanismos intracelulares y extracelulares de defensa del huésped, que controlan la infección por el VPH y la progresión de tumores cutáneos y de mucosas asociados a dicho virus^{61, 62}. La existencia de un mecanismo de control intracelular podría explicar el largo período de latencia que existe entre la infección primaria por VPH y la aparición y progresión del tumor por el virus^{63- 65}.

La infección comienza en las células del epitelio escamoso, puede afectar a cualquier tipo y queda siempre confinada a ellas. La replicación de los VPH sólo comienza en células capaces de dividirse, por lo que es obligado que estos virus alcancen las células basales para que se desarrolle una lesión^{66, 67}. La expresión de genes tempranos tiene lugar ya en dichas células, en tanto que la síntesis de las proteínas estructurales y el ensamblaje de los viriones sólo suceden en queratinocitos diferenciados, en los que la

síntesis de ADN celular ya ha cesado. De esta forma, la replicación de los VPH se acopla al propio proceso de diferenciación celular. La consecuencia característica de la infección es la proliferación celular y la aparición de verrugas en el punto de inoculación⁶⁸⁻⁷⁰.

El genoma existe dentro de la cápsida como una estructura circular de doble filamento, parecida a la cromatina, combinada con proteínas histonas derivadas del huésped y consiste en regiones codificantes que se superponen. Una de éstas se encarga de la transcripción / replicación del genoma viral de una manera coordinada, dependiente del estado de diferenciación de la célula huésped (queratinocito)^{71,72}.

La diferenciación del tejido epitelial del huésped y la maduración del virión de VPH están estrechamente ligadas. Como consecuencia de ello, el VPH no crece en cultivos celulares, lo que ha limitado el estudio de la patogenia y la inmunología de la infección^{73, 74} y el virus maduro solo se formará en las células superficiales de la epidermis, de ahí que haya un alto grado de escape a la vigilancia inmunitaria^{75,76}.

Existen en el mercado dos vacunas para prevenir la infección por virus de papiloma humano:

- Gardasil®: producida por Merck & Co., Inc., es una vacuna tetravalente porque protege contra cuatro tipos de VPH: 6, 11, 16 y 18. Fue aprobada por la FDA para su uso en mujeres y hombres entre 9 y 26 años de edad, con el fin de prevenir el cáncer de cuello uterino, algunos cánceres vulvares, vaginales y anales causados por los tipos 16 y 18 y para la prevención de verrugas genitales causadas por los tipos 6 y 11⁷⁷⁻⁷⁹.
- Cervarix®: producida por GlaxoSmithKline, es una vacuna bivalente porque está dirigida a dos tipos de VPH: 16 y 18. Fue aprobada por la FDA para su uso

en mujeres entre 10 a 25 años de edad para la prevención del cáncer cervical causado por los tipos 16 y 18⁸⁰⁻⁸².

Se han empleado múltiples tratamientos para los CA en todas sus localizaciones, entre los que podemos citar:

- de aplicación por el propio paciente:

- Podofilox (gel o solución al 0,5 %) aplicado con algodón o en el caso el gel, con el dedo sobre la lesión, 2 veces al día durante 3 días consecutivos. Este régimen se puede repetir semanalmente hasta 2 a 4 ciclos. El porcentaje de recidiva oscila entre 38 y 65 %^{83,84}.
- Imiquimod (crema al 0,5 %) es un agente inmunoestimulante, que puede ser aplicado al acostarse 3 días consecutivos. Este régimen se puede repetir semanalmente durante 16 semanas. El porcentaje de recidiva oscila entre 13 y 19 %⁸⁵⁻⁸⁷.

- de aplicación tópica por personal de salud:

- Ácido bicloroacético y ácido tricloroacético (solución al 80 a 90 %): se aplica una vez a la semana una pequeña cantidad sólo sobre las verrugas. Este tratamiento puede ser repetido a intervalo de una semana durante varias semanas, si se considera necesario. El porcentaje de recidiva oscila entre 42 y 70 %^{88, 89}.
- Resina de podofilina (solución al 20 a 25 %). Se aplica una delgada capa sobre las verrugas, una vez a la semana. El tratamiento puede ser repetido durante varias semanas si es necesario. El porcentaje de recidiva oscila entre 23 y 65 %^{90, 91}.

- 5-fluorouracilo (crema al 2 %), a aplicar 2 a 3 veces al día, durante 3 días y repetir varias semanas, si fuese necesario. El porcentaje de recidiva oscila entre 25 y 65 %⁹².
- de tratamiento quirúrgico o destructivo por personal de salud:
- Tratamiento quirúrgico: puede hacerse con escisión tangencial, curetaje o electrocirugía. Esta opción terapéutica tiene la ventaja de que usualmente elimina las verrugas en una única visita. Se considera especialmente beneficioso para pacientes que tienen un gran número de lesiones o una extensa área afectada, como el área del prepucio, también en el caso de verrugas intrauretrales⁹³⁻⁹⁶. Sin embargo requiere entrenamiento, equipo adicional y un mayor tiempo de consulta. Es preciso controlar la profundidad de la electrocauterización para prevenir la aparición de las cicatrices. Otra posibilidad quirúrgica con similares resultados es el láser de dióxido de carbono y la terapia fotodinámica⁹⁷⁻¹⁰⁴.
 - Criocirugía: consiste en la aplicación de una sustancia a temperatura bajo 0 °C sobre las verrugas, el cual destruye las lesiones mediante un sistema de citolisis inducida térmicamente. El tratamiento puede repetirse con intervalos de entre 7 y 21 días entre cada sesión, durante varios ciclos. En Cuba, en el Hospital “Hermanos Ameijeiras” (HHA) se ha usado desde hace más de 15 años para el tratamiento del condiloma acuminado el nitrógeno líquido con buenos resultados en cuanto a respuesta^{88-92, 104-106}. El porcentaje de recidiva reportado oscila entre 21 y 40 %⁶⁰.

- de tratamiento inyectable:

- Interferón alfa-2b humano recombinante. Administración exógena por vía intramuscular o subcutánea de 3×10^6 a 6×10^6 UI o intralesional de 1×10^6 UI¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. El uso de los interferones en las afecciones genitales se ha dirigido fundamentalmente al condiloma acuminado y a la neoplasia intraepitelial cervical. En estos ensayos clínicos se ha tratado de identificar en cuáles condiciones existen mayor respuesta, las dosis efectivas y el tiempo necesario de tratamiento. La mayoría de estos estudios terapéuticos utilizan el IFN por vía parenteral, ya sea sistémico o intralesional¹⁰⁷⁻¹¹⁰. En Cuba existen antecedentes del uso del IFN en condiloma acuminado en el Hospital Hermanos Ameijeiras (HHA) tanto por vía parenteral como tópica^{109, 110}. A pesar de haberse obtenido excelentes resultados con esta terapéutica existe recurrencia de las lesiones (37,5 %) ¹¹⁰.

El uso independiente de alguna de estas variantes en un número considerable de pacientes no logra eliminar las lesiones y el porcentaje de recidiva oscila entre 23 y 70 %. El papilomavirus no es susceptible de ser destruido por nitrógeno líquido. Tampoco se destruye con electrofulguración ni con vaporizaciones en las que se utiliza láser de CO₂. Sin embargo, la criocirugía sirve para tratar al condiloma acuminado porque las lesiones inducidas por el virus son destruidas por la necrosis que produce en la célula infectada, los fenómenos de inflamación inducidos así como la vasoconstricción y trombosis que suceden a la criocirugía son los responsables de la destrucción de la masa tumoral^{88-92, 104-106}. El IFN alfa tiene acción antiviral, inmunomoduladora y antitumoral¹⁰⁷⁻¹¹⁰. Se piensa que la unión del IFN a la criocirugía disminuya la carga viral, favorezca la destrucción de las lesiones y reduzca el porcentaje de recidiva.

Este trabajo fue motivado por la falta de consenso sobre la mejor variante para el tratamiento del condiloma acuminado y la necesidad de una alternativa terapéutica que evite las recidivas, sobre todo en los casos con lesiones múltiples, diseminadas, en el periné o grandes masas, abarcadoras de una extensión considerable de la región genital y perigenital, en los que las habituales técnicas destructivas del tejido por si solas pudieran generar grandes lesiones con las consecuentes molestias y deformidades permanentes en la zona afectada. Se pretende demostrar que la terapia combinada de IFN alfa sistémico asociado a la criocirugía local, será una nueva y buena opción.

Problema científico.

¿En pacientes con condiloma acuminado la combinación de criocirugía e interferón alfa-2b humano recombinante produce menor índice de recidivas si la comparamos con la criocirugía como tratamiento exclusivo?

Sobre la base de los porcentajes de recidivas reportados para la criocirugía (entre 21 y 40 %) ⁶⁰ y para el IFN (37,5 %) ¹¹⁰, de manera independiente se formuló la siguiente:

Hipótesis de trabajo.

El porcentaje de recidiva en el grupo tratado con la combinación de la criocirugía y el interferón es significativamente menor que el que se obtiene con criocirugía solamente, pues se une un potente citodestructor (la criocirugía) a un poderoso agente antiviral, inmunomodulador y antiproliferativo (el interferón).

Para comprobar esta hipótesis el autor se propuso los siguientes:

OBJETIVOS

General

Evaluar la eficacia terapéutica y la seguridad del interferón alfa-2b humano recombinante por vía subcutánea combinado con la criocirugía en el condiloma acuminado.

Específicos

1. Evaluar la aparición de recidivas al año de seguimiento en los grupos de tratamiento así como los pacientes libres de enfermedad a los diferentes tiempos de evaluación.
2. Comparar la eficacia de la terapia combinada con la criocirugía de forma aislada en cuanto a la desaparición de las lesiones al finalizar las 6 semanas de tratamiento.
3. Comparar la seguridad de las dos modalidades terapéuticas en cuanto el tipo y severidad de los eventos adversos.

Para cumplimentar estos objetivos se realizó un ensayo clínico aleatorizado, monocéntrico abierto y controlado (llamado “DINAMIC-II” por el promotor) donde se comparó un grupo de pacientes con condiloma acuminado tratado con IFN alfa-2b humano recombinante en su formulación líquida sin albúmina combinado con criocirugía con un grupo que fue tratado con criocirugía solamente. Ambos grupos fueron tratados durante 6 semanas y, para evaluar las recidivas, se realizó seguimiento post-tratamiento durante 48 semanas a los pacientes con respuesta total.

Los resultados obtenidos tienen importancia científica, médica, social y económica. En este estudio se obtuvieron resultados que confirmaron el efecto del IFN alfa y su capacidad para eliminar las lesiones condilomatosas y prolongar el intervalo libre de

recidivas. Su asociación a la criocirugía potencia su efectividad, de manera que eleva la calidad de vida de los pacientes, por cuanto permite dar solución a una entidad que causa gran desgaste psíquico, laboral y económico a los pacientes, asociado a discomfort entre las parejas. El ensayo realizado contribuyó a la generalización de una indicación registrada para un producto (Heberon alfa) del cuadro básico de medicamentos del país. Esto permite un gran ahorro puesto que sustituye importaciones de medicamentos para el tratamiento de esta enfermedad, el cual se hace más evidente si tenemos en cuenta el incremento de los precios de los medicamentos secundario al brutal bloqueo impuesto por Estados Unidos de América. Esta enfermedad suele tener un impacto muy negativo en la sobrevida y la calidad de vida de los enfermos, en muchos casos propicia la aparición de cáncer de cuello uterino, cáncer de pene y cáncer anal; lo cual demandaría de cuantiosos recursos, amplia experiencia profesional y la intervención de múltiples especialidades para su control.

La producción científica del autor sobre el tema de la tesis ha sido divulgada en 18 publicaciones (17 internacionales y 1 nacional), 7 eventos (4 nacionales y 3 internacionales) y 9 Fórum de Ciencia y Técnica (uno de los trabajos seleccionado como relevante y uno como mención).

CAPÍTULO I:
MARCO TEÓRICO

I. MARCO TEORICO

Objetivo del capítulo

El objetivo de este capítulo es realizar una revisión bibliográfica sobre la criocirugía y el interferón, su eficacia en el condiloma acuminado y compararla con otras variantes terapéuticas. Se incluyen los antecedentes del autor en el uso de ambos (la criocirugía y el IFN) de manera independiente.

I.1. CRIOCIRUGÍA Y SU EFICACIA EN EL CONDILOMA ACUMINADO.

La criocirugía es un procedimiento que consiste en la aplicación de sustancias a bajas temperaturas directa o indirectamente sobre la piel o mucosas, causando una destrucción local de tejido de forma eficaz y controlada^{111, 112}.

Antecedentes históricos.

La Dermatología fue una de de las disciplinas médicas pioneras que empleó las diversas sustancias refrigerantes en el tratamiento de algunas afecciones cutáneas^{113, 114}.

Los primeros datos sobre la utilización terapéutica del frío se remontan a Hipócrates, quien ya sugería el enfriamiento de las heridas recientes como recurso analgésico y hemostático. Un hecho histórico muy conocido fue la práctica del cirujano general del ejército napoleónico Barón Larrey, quien conociendo el efecto anestésico de las temperaturas sub-cero, sumergía los miembros destrozados en la nieve para practicar la amputación necesaria. Otros también utilizaron el frío para tratar el dolor del cáncer incurable, fracturas de cráneo, encefalitis y abscesos^{115, 116}.

En 1845, James Arnot utilizó una mezcla de agua salada y hielo en el tratamiento de verrugas y tumores cutáneos^{117, 118}.

A pesar de esta temprana contribución, no hubo en la profesión médica interés en su uso por los diversos problemas que se presentaron en el manejo de los materiales fríos. Sin embargo, al comenzar a utilizarse técnicas más eficientes, es que se inicia una nueva era en la biología de la congelación^{119, 120}.

La utilización del frío como anestésico y otros experimentos *in vivo* en los campos de concentración de la II Guerra Mundial frenó por muchos años el desarrollo de la crioterapia^{121, 122}.

Una nueva era para la criocirugía se abrió a partir de la comercialización del nitrógeno en 1940^{123, 124}.

En la década de 1960 se produjeron importantes avances, especialmente en relación con la utilización de este método en Dermatología. En 1964, Zacarian, pionero de la criocirugía moderna, demostró las ventajas de la aplicación del nitrógeno líquido sobre la piel y las alteraciones clínicas e histológicas que se producen como consecuencia de la congelación^{114, 122, 125, 126}.

El Dr. Douglas Torre, pocos años después, diseñó un dispositivo para la aplicación del nitrógeno líquido en *spray*. Con esta forma de aplicación se obtiene una congelación mucho más rápida y se puede incrementar la profundidad de congelación, con lo que aumenta el tiempo de exposición^{127, 128}.

Indicaciones de la criocirugía:

Lesiones benignas infecciosas: virales¹²⁹⁻¹³² (verrugas vulgares, verrugas planas, verrugas plantares, verrugas filiformes, **condiloma acuminado**, molusco contagioso), bacterianas¹¹¹⁻¹¹⁶ (acné queiloideo de la nuca, granuloma piogénico), micóticas¹³³ (cromoblastomicosis) y parasitarias^{134, 135} (larva migrans, leishmaniasis cutánea).

Lesiones benignas no infecciosas: angioqueratomas^{136, 137}, hemangiomas pequeños^{138, 139}, poroqueratosis^{140, 141}, prúrigo nodular, hiperplasia sebácea^{142, 143}, rinofima^{144, 145}, granuloma anular y facial^{146, 147}, léntigos^{148, 149}, queratosis seborreica^{150, 151}, siringoma^{152, 153}, tricoepitelioma^{154, 155}, nevus epidérmico^{156, 157}, linfangiomas^{158, 159}, queloides pequeños^{160, 161}, mucocele^{162, 163} y dermatofibroma^{164, 165}.

Lesiones precancerosas y/o malignas: leucoplasia^{166, 167}, enfermedad de Bowen^{168, 169}, eritroplasia de Queyrat^{170, 171}, queratoacantoma^{172, 173}, queratosis actínica^{174, 175}, léntigo maligno¹⁷⁶⁻¹⁸¹, epiteloma basocelular¹⁸²⁻¹⁸⁷, carcinoma espinocelular^{188, 189}, sarcoma de Kaposi¹⁹⁰⁻¹⁹².

Contraindicaciones y precauciones a tener presente^{111, 116}:

Absolutas: áreas de posible compromiso circulatorio, lesiones en las que es necesaria la identificación del tejido por Anatomía Patológica y la no aceptación de los posibles cambios pigmentarios.

Relativas: neoplasias inmunoproliferativas, macroglobulinemia, enfermedades autoinmunes severas activas, glomerulonefritis postestreptocócica aguda, hepatitis B crónica severa, infección por virus Epstein-Barr, citomegalovirus, alto nivel de crioglobulinas y altas dosis de esteroides

Mecanismo de acción.

La acción del frío provoca la destrucción o necrosis de los tejidos seleccionados, mediante el proceso de congelación **celular y vascular**¹¹⁴⁻¹¹⁶.

A nivel celular: roturas de la membrana celular, daño por los cristales de hielo, desnaturalización de las lipoproteínas, deshidratación celular¹¹⁷⁻¹²⁰.

A nivel vascular: alteraciones de la micro circulación (se enlentece), vasoconstricción seguida de vasodilatación, alteraciones endoteliales, aumento de la permeabilidad capilar, formación de trombos, isquemia y necrosis tisular¹²⁰⁻¹²³.

Repercusión de los ciclos de congelación y descongelación^{114, 122}:

La mayor destrucción celular se produce al congelarse el tejido de manera rápida y descongelarse lentamente. Así, una congelación rápida, produce hielo extracelular, con escaso daño en el interior de la célula. Todo lo contrario ocurre con el tiempo de descongelación, que mientras más lento sea, determina una mayor cristalización intracelular y por tanto, un mayor daño celular. De esta manera, congelación rápida/ descongelación lenta produce daño intra y extracelular, lo que conduce a una alteración iónica del medio y perturbación de la osmosis celular, lo que lleva a la muerte de las células.

Por tanto, el efecto directo del frío sobre las células y tejidos depende de la temperatura alcanzada, de los tiempos de congelación y descongelación y del tiempo de exposición de las células a la congelación.

En la criocirugía, clínicamente se provocan de un modo sucesivo^{111-116, 123}: urticarización, por liberación de histamina, edema, máximo entre las 12 a 24 horas; vesiculación, aparece ampolla serohemorrágica entre las 12 a 24 horas, que suele romperse a las 48 horas; formación de costra, regeneración celular, que afecta negativamente a los melanocitos, lo que explica el riesgo de hipopigmentación residual (más evidente en individuos de piel oscura). La lesión que el frío produce sobre la piel se denomina criolesión.

Criogenos^{111, 116}.

Los criogenos son sustancias capaces de inducir el enfriamiento. Pueden ser muy variables. Los de más utilidad son clorodifluorometano (-41 °C), dimetileter (-24 °C), dimetilpropano (-42 °C), dióxido carbónico o nieve carbónica (-78 °C), óxido nitroso (-89 °C) y nitrógeno líquido (NL) (-196 °C).

De todos ellos, el nitrógeno líquido es el ideal en criocirugía dado sus propiedades: líquido transparente, inodoro, no inflamable, no tóxico, de fácil manejo, precio asequible (en Cuba aproximadamente 21 centavos el litro), alcanza punto de ebullición muy bajo (-196 °C), lo que permite realizar congelaciones rápidas y alcanzar temperaturas muy bajas en el área tratada.

Procedimientos de aplicación de la criocirugía^{111-120, 193}:

Métodos a utilizar:

a) **Uso de hisopos de algodón:** se sumerge el mismo en un termo pequeño durante 5 a 10 segundos y aplicar rápidamente sobre la lesión a tratar, efectuando ligera presión sobre la misma. La congelación se detecta cuando aparece la superficie tratada blanquecina, formándose un halo perilesional blanquecino de 1 a 3 mm. Esperamos la descongelación. La operación puede repetirse (dos o tres aplicaciones por sesión).

Desechar el hisopo utilizado.

b) **Pulverización:** es el procedimiento más efectivo, cómodo y el más empleado en la actualidad. Se utiliza el equipo de criocirugía. Se utilizan los vaporizadores y criosondas. Se llena el equipo, teniendo cuidado de mantener el mismo vertical.

Sistema abierto a técnica abierta: se aplica la pulverización tipo spray a una distancia aproximada de 1 a 2 cm, de forma intermitente o continua hasta conseguir la

congelación, apareciendo la superficie tratada de color blanquecino y formándose un halo perilesional de 1 a 3 mm. Es fácil comprobar que la zona está congelada ya que se palpa como una “pastilla” al pellizcarla entre los dedos. Se utilizan vaporizadores metálicos.

Sistema cerrado o técnica cerrada: Se utilizan criodos o criosondas. Se realiza con la aplicación de la criosonda en la lesión, ejerciendo ligera presión sobre la misma. Debemos tener cuidado y esperar la descongelación para retirar el criodo, por las posibilidades de hemorragia si se retira bruscamente.

Complicaciones de la criocirugía:

A corto plazo: el dolor, la inflamación y la hemorragia. El dolor suele ser transitorio. La inflamación puede ser importante en las regiones de piel laxa. La hemorragia ocurre cuando se realiza una mala técnica, al tratar de desprender la criosonda, aún congelada, de la lesión tratada con NL¹¹¹⁻¹²².

A mediano plazo: puede aparecer infección, conjuntivitis y hemorragia retardada. La infección es rara si existen mínimos cuidados higiénicos. La conjuntivitis puede ocurrir en tratamientos de lesiones palpebrales, al penetrar restos de tejido necrótico en la hendidura palpebral. La hemorragia retardada solo ocurre en caso de tumores que han invadido un vaso, probablemente debido a trombosis de capilares y vénulas¹²³⁻¹²⁵.

A largo plazo: cuando se sobrepasa el tiempo idóneo de congelación pueden aparecer despigmentaciones locales, alopecias, cicatrices, defectos tisulares y parestesias¹¹¹⁻¹¹⁸.

Raras: quistes de milium e hipohidrosis permanente^{192, 193}.

Ensayos que avalan el uso de la criocirugía en el condiloma acuminado.

Existen en la literatura varias publicaciones de ensayos que avalan el uso de la criocirugía para el tratamiento de los condilomas acuminados.

Ghosh y cols (1977) realizaron un estudio prospectivo y abierto en 56 pacientes adultos con condilomas acuminados en los cuales el tratamiento con podofilina estuvo contraindicado o había fracasado. Se aplicó una sesión semanal de criocirugía (óxido nítrico) hasta un máximo de tres semanas y se siguió a los pacientes durante 3 meses. 91 % de los pacientes quedaron libres de lesiones¹⁹⁴.

Díaz de la Rocha y cols (1990) reportaron el uso de la criocirugía con respuesta terapéutica 100 % efectiva en los condilomas acuminados. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva¹⁹⁵.

Abdullah y cols (1993) realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado, a doble ciegas y controlado en 86 pacientes adultos con condilomas acuminados en genitales externos. Se formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (ácido tricloroacético al 95 %), grupo II (criocirugía con nitrógeno líquido). El tratamiento correspondiente se aplicó 1 vez a la semana, durante 6 semanas. La respuesta al tratamiento (eliminación de las lesiones) fue 70 % y 86 % a las 6 semanas, en los grupos I y II respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva¹⁹⁶.

Fernández-Vozmediano y cols (2001) en su artículo de revisión plantearon que la criocirugía es el tratamiento de elección en los condilomas acuminados¹⁹⁷.

Ferrer BJ (2005) en su artículo de revisión titulado: "Criocirugía en lesiones por Virus de Papiloma Humano" refirió resultados aceptables con esta modalidad terapéutica en esa afección¹⁹⁸.

El autor de esta tesis y el grupo de trabajo al que pertenece (2007) realizaron un estudio prospectivo y abierto con criocirugía en varias afecciones dermatológicas, donde además fueron tratados 266 pacientes adultos con condiloma acuminado. La respuesta de los pacientes con condilomas fue total en 30 % y parcial en 70 % de ellos, pero asociado a un alto porcentaje de recidivas (60 %) ¹⁹⁹.

También en ese servicio se realizaron una serie de estudios para evaluar la eficacia terapéutica y porcentaje de recidivas de las lesiones de condiloma acuminado tratadas con criocirugía. La duración de los tratamientos en todos los grupos formados fue la misma (6 semanas). La efectividad terapéutica fue evaluada 2 semanas después de culminar el tratamiento y las tasas de recidivas se evaluaron un año después en aquellos pacientes que habían obtenido la respuesta total. Los resultados de los mismos se describen a continuación:

- En el año 2008 hubo 2 estudios prospectivos, aleatorizados, abiertos y controlados. El primero se realizó en 20 pacientes adultos con múltiples lesiones. Se formaron dos grupos de tratamiento: grupo I (aplicación tópica semanal de resina de podofilina al 25 % en alcohol) y grupo II (criocirugía con nitrógeno líquido con frecuencia quincenal). Respondieron de forma total 20 % y 30 % y parcial 65 % y 70 % de los pacientes de los grupos I y II respectivamente. Los porcentajes de recidiva fueron 65 % y 60 % respectivamente ⁹⁰. El segundo estudio se realizó con la misma cantidad de pacientes, pero esta vez solo se incluyó la localización anal. Se formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (aplicación quincenal de radiocirugía) y grupo II (aplicación quincenal de criocirugía). Respondieron de forma total 40 % y 70 % y parcial 60 % y 30 % de los pacientes en los grupos I y II respectivamente. Los porcentajes de recidiva fueron 60 % y 40 % respectivamente ¹⁰⁴.

- En el año 2009 continuaron los estudios con la criocirugía en el tratamiento del condiloma acuminado. Se hicieron en esta ocasión 2 estudios prospectivos, abiertos aleatorizados y controlados. El primer estudio incluyó 20 pacientes con esta afección. Se formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (aplicación semanal de ácido tricloroacético al 80 %) y grupo II (aplicación quincenal de criocirugía). Respondieron de forma total 10 % y 50 % y parcial 40 % y 50 %, de los pacientes en los grupos I y II respectivamente. Los porcentajes de recidiva fueron iguales (60 %) en ambos grupos⁸⁸. En el segundo estudio se incluyeron 40 pacientes. También se formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (dos aplicaciones semanales de 5-fluorouracilo en crema al 5 %) y grupo II (aplicación quincenal de criocirugía). Respondieron de forma total 35 % y 70 % de los pacientes en los grupos I y II respectivamente y parcial 30 % en ambos grupos. Los porcentajes de recidiva fueron 68,4 % y 50 % respectivamente⁹².

- En el año 2010, convencidos de que, aunque la criocirugía fue el tratamiento tópico más efectivo que las otras modalidades terapéuticas utilizadas, ésta por sí sola no era suficiente para lograr el control de la enfermedad, se llevó a cabo un estudio donde se comparó su eficacia terapéutica sola contra la de su asociación a un inmunomodulador (levamisol). Se formaron 2 grupos de tratamiento de 20 pacientes cada uno: grupo I recibió aplicación quincenal en las lesiones de criocirugía asociada a levamisol (tableta: 150 mg) una tableta 3 veces por semana el primer mes, 2 veces por semana el segundo mes y una vez a la semana el tercer mes. El grupo II (aplicación quincenal en las lesiones de criocirugía). La duración de la aplicación de la criocirugía para ambos grupos fue hasta 6 semanas, en los casos en que fue necesario. Respondieron de forma total 70 % y 65 % y parcial 30 % y 35 % de los pacientes en los grupos I y II respectivamente. Los porcentajes de recidiva fueron 10 % y 65 % respectivamente¹⁰⁶.

Los trabajos anteriores quedan resumidos en el cuadro a continuación:

| Autor. Año. (referencia) | Control | Esquema de criocirugía | N | Resultado | | Porcentaje de recidiva |
|---|---|--|-----|--------------------|----------------------|---------------------------|
| | | | | Respuesta total | Respuesta parcial | |
| Ghosh y cols. 1977. (194) | No | Criocirugía (óxido nítrico), aplicación semanal durante 3 semanas. | 56 | 91 %. | No se evaluó. | No se evaluó. |
| Díaz de la Rocha y cols. 1990. (195) | No | Criocirugía con NL, aplicación semanal durante 6 semanas. | 78 | 100 %. | 0 %. | No se evaluó. |
| Abdullah y cols. 1993. (196) | Ácido tricloroacético al 95 %, aplicación tópica semanal durante 6 semanas. | Criocirugía con NL, aplicación semanal durante 6 semanas. | 86 | 70 % vs. 86 %. | No se evaluó. | No se evaluó. |
| Alfonso-Trujillo y cols. 2007. (199) | No | Criocirugía con NL, cada 15 días durante 6 semanas. | 266 | 30 %. | 70 %. | 60 %. |
| Alfonso-Trujillo y cols. 2008. (90) | Resina de podofilina al 25 % en alcohol, aplicación tópica semanal durante 6 semanas. | Criocirugía con NL, cada 15 días durante 6 semanas. | 20 | 20 % vs. 30 %. | 65 % vs. 70 %. | 65 % vs. 60 %. |
| Alfonso-Trujillo y cols. 2008. (104) | Radiocirugía quincenal durante 6 semanas. | Criocirugía con NL, cada 15 días, durante 6 semanas. | 20 | 40 % vs. 70 % | 60 % vs. 30 % | 60 % vs. 40 %. |
| Alfonso-Trujillo y cols. 2009. (88) | Ácido tricloroacético al 80 %, aplicación semanal durante 6 semanas. | Criocirugía con NL, cada 15 días, durante 6 semanas. | 20 | 10 % vs. 50 % | 40 % vs. 50 % | 60 % vs. 60 %. |
| Alfonso-Trujillo y cols. 2009. (92) | 5-fluorouracilo en crema al 5 %, dos aplicaciones semanales durante 6 semanas | Criocirugía con NL, cada 15 días, durante 6 semanas. | 40 | 35 % vs. 70 % | 30 % vs. 30 %. | 68,4 % vs. 50 %. |

| Autor. Año. (referencia) | Control | Esquema de criocirugía | N | Resultado | | Porcentaje de recidiva |
|--|--|---|----|--------------------|----------------------|---------------------------|
| | | | | Respuesta total | Respuesta parcial | |
| Alfonso- Trujillo y cols. 2010. (106) | Criocirugía quincenal con NL asociado a levamisol (1 tableta 3 veces por semana) durante 6 semanas. | Criocirugía con NL, cada 15 días, durante 6 semanas. | 40 | 70 % vs. 65 %. | 30 % vs. 35 %. | 10 % vs. 65 %. |

Los estudios anteriores evidencian que aunque de todas las variantes de uso tópico empleadas la criocirugía fue la más efectiva para destruir las lesiones del condiloma acuminado, por sí sola no es capaz de controlar la enfermedad ni las recidivas de la misma. Su asociación al levamisol con su efecto inmunomodulador tampoco fue suficiente para lograr el control de la enfermedad. Por todo lo anterior se hace necesario asociarla a algún otro tratamiento inmunomodulador sistémico potente (por ejemplo: interferón) para lograr mejores resultados terapéuticos y menores porcentajes de recidivas en esta afección.

I.2. INTERFERÓN Y SU EFICACIA EN EL CONDILOMA ACUMINADO.

Desde su descubrimiento por Isaac y Linderman en 1957²⁰⁰, los interferones se han definido como proteínas que ejercen una acción antiviral inespecífica en células homólogas por lo que se han utilizado en la terapéutica médica teniendo en cuenta que se trata de una poderosa ayuda al sistema de defensa natural del organismo. Inicialmente fueron descritos como factores solubles producidos por células expuestas a virus inactivos, con la capacidad de interferir en la replicación viral en células frescas. De ahí el nombre “interferón” (IFN)²⁰¹.

Antecedentes históricos.

Considerada como una droga antiviral potencialmente útil, el estudio del IFN atrajo desde el principio una gran atención. Sin embargo, debido a los infructuosos esfuerzos para purificar y definir molecularmente las proteínas de IFN, por cerca de 20 años muchos científicos habían sido abiertamente escépticos acerca de las propiedades que se le atribuyen al IFN, incluyendo su existencia²⁰².

En 1962 Paucker y cols. reportaron por primera vez la actividad antiproliferativa en células en cultivo²⁰³.

Tres años más tarde Wheelock (1965) describió una proteína producida por una suspensión linfocitos T humanos (ahora llamada IFN β o IFN de tipo II) en respuesta a la adición de un agente mitogénico²⁰⁴.

Posteriormente Gresser y cols. (1969) describieron la actividad antitumoral en animales de experimentación²⁰⁵.

Lindahl y cols. (1972) reconocieron la acción inmunorreguladora del IFN α ²⁰⁶ y en 1975

Havell y cols. identificaron los subtipos de IFN tipo I (IFN α y β)²⁰⁷.

Gresser y cols. (1975)²⁰⁸ y Riviere y cols. (1977)²⁰⁹ reconocieron los eventos adversos del IFN en animales.

Sólo después de la clonación con éxito del ADN del IFN y la identificación de genes del IFN humano fue que la investigación se unió a la corriente principal de la empresa científica (Taniguchi y cols. el IFN en 1979²¹⁰; Nagata y cols. el IFN en 1980²¹¹ y Gray y Goeddel, el IFN en 1982²¹²).

Los primeros estudios clínicos realizados con IFN natural o recombinante (Vilcek, 1984) revelaron que la administración de IFN o puede producen fiebre, fatiga, malestar, mialgia y anemia²¹³.

Tipos y clasificación:

Los IFNs pertenecen a la familia de las citoquinas representadas por glicoproteínas de bajo peso molecular. Las células humanas pueden producir 3 formas distintas de interferón natural cuyas estructuras son totalmente diferentes^{203, 214, 215}:

IFN o leucocitario: producido por leucocitos (células dendríticas, monocitos y macrófagos), como respuesta a la presencia de virus, células tumorales y a células foráneas. El hecho de ser producido por las células de la sangre, le permite al mismo circular, difundir a través de todo el organismo y es esa la razón por la que se le considere que constituya una barrera sistémica.

IFN o fibroblástico: producido por células epiteliales y fibroblastos después de la estimulación por virus y ácidos nucleicos foráneos. Esto hace que tenga poca difusión, además su fuente celular permite que se le considere dentro de la primera barrera defensiva del organismo, es lógico, puesto que todo lo que penetra a nuestro organismo, a no ser una administración intravenosa, tiene necesariamente que atravesar los epitelios.

IFN ω o inmune: producido por células T activadas o células asesinas naturales (NK) en estimulación a mitógenos de células T y a antígenos específicos.

Estas tres especies de IFN pueden ser clasificadas en tipos antigenicamente diferentes, según la principal fuente celular que los produce y el estímulo necesario para su inducción. Teniendo en cuenta esta clasificación existen dos tipos de interferones: el tipo I (IFN α y β), donde además se incluyen el IFN ω del cual no se conoce aún lo suficiente²¹⁶⁻²¹⁸; y el tipo II (IFN γ).

Recientemente una nueva familia de IFNs humanos fue descubierta independientemente por 2 grupos de investigadores, el grupo de New Jersey compuesto por Kotenko, Gallagher y cols.²¹⁹ y el grupo de Seattle compuesto por Klucher y cols.²²⁰. La nueva familia de IFN está compuesta por tres miembros: IFN 1, IFN 2 y IFN 3. Han sido descrito como IL-29 el IFN 1, IL-28A el IFN 2 e IL-28B el IFN 3²²⁰. El IFN es considerado IFN de tipo III²¹⁹.

Los interferones tipo I son inducidos por infecciones virales o artificialmente por un ARN de doble-cadena. El IFN α , el cual es producido primariamente por leucocitos, consta de múltiples subespecies que están antigénicamente relacionadas y cuya secuencia de aminoácidos (a.a) tiene alrededor de 70 a 80 % de homología. Se describen cerca de 14 especies diferentes (IFN α 2, IFN α 4, IFN α 8, entre otros) cuyos pesos moleculares oscilan desde 16000 hasta 27000 kD y cuyas secuencias aminoacídicas son muy similares (165 a 166 a.a de longitud); a su vez estas especies se subdividen en varios subtipos, por ejemplo, el IFN α 2 lo hace en IFN α 2a, IFN α 2b y IFN α 2c. Los IFN α 1, α 2 y α 4 son los de mayor homología entre si y a la vez son los más dominantes entre los IFNs producidos por diferentes tipos celulares. Entre todas estas clasificaciones, han sido descritas y aprobadas por la FDA tres de ellas, IFN α 2a, IFN

$\alpha 2b$, y el IFN $\alpha 3$ (natural). Los dos primeros se producen mediante el empleo de la *E. coli* a través de la ingeniería genética, mientras que por su parte, el IFN $\alpha 3$ es producido a partir de células linfoblastoides humanas en cultivo, infectadas de manera incompleta por el virus Sendai. El IFN β antigénicamente distinto al anterior, es el principal interferón sintetizado por células no leucocitarias, incluyendo fibroblastos y células epiteliales y la secuencia de aminoácidos de este tipo de interferón tiene de 20 a 30 % de homología con respecto a la familia del IFN α . El 30 % de las posiciones entre los IFN α y omega son invariables²¹⁴⁻²¹⁸.

Indicaciones:

Los interferones α y β tienen un mayor efecto antiproliferativo y antiviral y el IFN γ una actividad inmunorreguladora superior^{221, 222}. Desde finales de la década del 70, se han realizado ensayos clínicos con el IFN α basados en su acción antitumoral²²³, en afecciones tales como la leucemia de células peludas, mieloma múltiple, sarcoma de Kaposi, neoplasia cervical, melanoma maligno, linfoma cutáneo de células T, leucemia mieloide crónica, carcinoma epidermoide y carcinoma basocelular de piel, entre otros^{224, 225}. También se usa en el tratamiento de la hepatitis B crónica y la hepatitis C crónica y en condiloma acuminado¹⁰⁷⁻¹¹⁰. Con el advenimiento de la tecnología del ADN recombinante grandes cantidades de IFN α han estado disponibles para estos estudios²²⁶⁻²³¹.

Los interferones han sido de gran uso clínico, tanto en su forma natural como los obtenidos por ingeniería genética. En Cuba se han usado con buenos resultados desde comienzos de la década de 1980. Por todo lo anterior son numerosos los estudios que se han realizado tanto en el área básica como en la clínica²³². La toxicidad de los mismos ha sido objeto de profundas revisiones. En general la intensidad de los síntomas está

directamente relacionada con la dosis y frecuencia de las administraciones, pero la variación individual es amplia, la mayoría de los síntomas asociados al tratamiento son autolimitados y pueden ser controlados de forma efectiva con: acetaminofen, dipirona, paracetamol, indometacina o antihistamínicos²³³.

Contraindicaciones:

Está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad conocida al interferón o a cualquiera de los componentes de la formulación, la insuficiencia cardiaca descompensada o arritmias en curso, la cirrosis hepática descompensada y en la depresión profunda^{234, 235}.

Mecanismo de acción.

Los antígenos, los ácidos nucleicos y también los mitógenos exteriores inducen la producción de interferones por la célula huésped. El interferón secretado (α , β o γ) actúa directamente sobre la célula diana, se une a las mismas y les induce a producir proteínas efectoras que bloquean diversas etapas de la replicación viral. También actúan indirectamente sobre la célula diana activando a los linfocitos efectores y a los macrófagos. Además inhibe la multiplicación de algunas células normales y tumorales, bacterias y algunos parásitos intracelulares, tales como rickettsias y protozoos; modula la respuesta inmunitaria; y afecta a la diferenciación celular^{200, 236, 237}.

Por lo general cada vez que se obtiene un reporte de la acción del IFN, siempre se trata de buscar indicios de la presencia de los receptores específicos de estas citoquinas. Al respecto se ha visto que los IFN α y β tienen en común el mismo receptor, una molécula cuyo peso molecular oscila desde 110 hasta 130 KD y que está codificado por el cromosoma 21. El IFN γ se une a un receptor diferente el cual es codificado en parte por

el cromosoma 21 y en parte por el cromosoma 6 siendo su peso molecular sobre los 90 KD^{236, 237}.

El mecanismo de transducción de señales y de activación de genes, que es cómo podemos catalogar la interacción del IFN con su receptor específico situado en la superficie de la membrana, se inicia con la unión de ambos elementos, el receptor tendrá una cadena transmembrana en la cual existen proteínas quinasas (Tyk2, Jak1 y Jak2) las cuales se autofosforilan y en esas condiciones de activación son capaces de fosforilar (activar) a las moléculas encargadas de transducir la señal hacia el interior de la célula, las llamadas STAT 1 y STAT 2, la primera de ellas lo que forma una vez fosforilada es un dímero entre dos de sus moléculas, mientras que la STAT 2 forma también un dímero pero entre una molécula fosforilada suya y una en igual condición de STAT 1, a este se le suma una molécula de P48, para conformar la estructura, un trímero denominado factor genético estimulador del IFN (ISGF3), que penetrando al núcleo celular se enlace a determinadas secuencias de los genes haciendo que estos se transcriban y pasen a sintetizar proteínas siendo esta la respuesta final²³⁸⁻²⁴⁰.

Acción antiviral:

El importante papel desempeñado por el IFN como un mecanismo de defensa contra los virus está apoyado en tres tipos de resultados: (1) en muchas infecciones virales se ha establecido una fuerte correlación entre la producción de IFN y la recuperación natural; (2) la inhibición de la producción de IFN o de su acción, aumenta la gravedad de la infección; y (3) el tratamiento con IFN protege contra la infección. Además, el sistema de IFN es uno de los mecanismos iniciales de las defensas del huésped conocidos, convirtiéndose operativo dentro de unas horas de iniciada la infección^{200, 236, 237}.

Los mecanismos por los que estas citocinas modifican la replicación viral son complejos y entorpecen algunas etapas de la replicación viral que incluyen la penetración, la transcripción, la traducción, el ensamblado y la liberación de los virus de las células infectadas. La activación de los macrófagos por los interferones es componente esencial de las defensas del huésped contra las infecciones²²⁶⁻²³¹.

Son numerosos los genes inducidos por el IFN, lo que explica entre otros sus efectos antiviral, inmunorregulador y antitumoral. Una de estas proteínas inducidas por el IFN es la β 2 microglobulina (β 2 M), de 12 kD. Ésta corresponde a un polipéptido de 99 aminoácidos que forma la cadena ligera de las moléculas del sistema principal de histocompatibilidad clase I. Esta proteína se encuentra normalmente en casi todas las células nucleadas con excepción de las neuronas. Otra de las proteínas inducidas por el IFN es la enzima 2', 5' oligoadenilato sintetasa, se sugiere que la progresión del ciclo celular es mediada por el nivel de esta proteína inducida por el interferón²⁴⁰. A través de esta enzima el IFN también ejerce actividad antiviral ya que polimeriza el ATP a una serie de 2', 5' oligómeros enlazados, los cuales activan una endorribonucleasa latente, ARNasa L o S que produce la degradación de los ARN celular y viral^{241, 242}.

Es también inducida directamente la síntesis de la proteinquinasa R, enzima que fosforila las porciones de serina y treonina de la subunidad α del factor de elongación 2, dando lugar a una inhibición en la fijación del ARNt a los ribosomas y a una inhibición de la traducción normal del ARNm vírico, provocando desde luego que no se transcriba la información necesaria para que se sintetice el ARN viral^{239, 240}.

Los IFNs estimulan la expresión de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en células infectadas por el virus o células

inmunocompetentes, en consecuencia, facilitan las reacciones de inmunidad celular y aumentan el número y la actividad de las células linfocitarias NK^{239, 240}.

Acción antiproliferativa

Son consideradas las primeras proteínas naturales para las que se describió una acción reguladora negativa sobre el crecimiento celular, mostrando una acción antagónica sobre todos los factores de crecimiento conocidos. El efecto que producen es más citostático que citotóxico. El efecto antiproliferativo de los IFNs siempre será asociado con su capacidad como agente antitumoral; en este sentido los interferones muestran una gran variedad de mecanismos bastante complejos, pudiendo ser de modo directo o indirecto. Los efectos directos incluyen, acción antiproliferativa como tal, acción citotóxica e incremento en la expresión de los antígenos en los MHC de las células tumorales. Los efectos indirectos serán mediante la activación de los macrófagos y los monocitos, las células T, las células NK, y a través de la modulación en la producción de los anticuerpos^{241, 242}.

El efecto directo más importante es el antiproliferativo, para el mismo se plantea un desarrollo más lento de las células tumorales en presencia del IFN, aún cuando se ha reconocido que casi toda la población de células neoplásicas puede manifestar diferentes grados de sensibilidad hacia el IFN, pudiendo en algunos casos llegar a ser totalmente resistente al mismo. El mecanismo general consiste en incrementar el tiempo requerido para la proliferación de las células tratadas, influyendo en el ciclo celular, esta influencia al parecer no es sobre un punto específico de este ciclo, ya que todas las fases del mismo se muestran enlentecida^{241, 242}.

Para lograr ese retardo en el ciclo celular se plantea una disminución, por parte del IFN, de al menos dos metabolitos esenciales; una de las vías planteadas para ello es la

inhibición de la inducción de la enzima ornitina descarboxilasa (sobre todo lo logra el IFN β) lo cual implica una disminución en la biosíntesis de las poliamidas. El otro metabolito que se verá afectado es el triptófano, en este caso esta afectación es debida a la inducción de una enzima llamada indolamina dioxigenasa la cual se encarga de degradar al aminoácido. El efecto antiproliferativo se ha planteado también relacionado con la capacidad de los IFN de inducir la expresión de la enzima 2'5'oligoadenilato sintetasa, que como ya vimos es capaz de provocar una degradación del ARN viral. Asimismo se ha planteado una relación entre la modulación en la expresión de oncogenes y la acción antiproliferativa, específicamente se inhibe la expresión del c-myc, y se estimulan algunos genes supresores de tumores, siendo tal vez el p53 el más conocido²⁴⁰⁻²⁴².

Cualesquiera de estos mecanismo que sea el responsable de tal efecto, no estará limitado solo a las células tumorales, pueden ser afectadas también las células normales, por ejemplo, en las células de la sangre podemos observar una disminución en la cantidad de leucocitos contables; no obstante se plantea que el efecto antiproliferativo será más potente contra las células malignas respecto a las células no malignas, esto tiene su explicación si consideramos que una célula tumoral es capaz de reproducirse con mucha más facilidad que una célula normal la cual tiene su propio mecanismo de regulación; esta discriminación entre las células malignas y no malignas es más notable cuando la terapia incluya una combinación entre dos tipos de IFN^{241, 242}.

Los efectos indirectos son muy fáciles de entender, para ello solo tenemos que recordar los eventos que se suceden una vez que se liberan los IFN de sus fuentes celulares, tomando como ejemplo al IFN γ , el mismo puede potenciar el accionar citotóxico de las células Tc, además de facilitar o estimular la proliferación de las células T que lo

producen al él mismo, por otra parte es capaz de activar directamente a los macrófagos potenciando así la supresión de las células tumorales, baste señalar que el IFN γ es conocido como factor activador de macrófagos^{226-231, 241, 242}.

Otros mecanismos invocados hacen referencia a un defecto adquirido en una o más proteínas que actúan como puntos de control para la normal progresión del ciclo celular a menudo es un requisito para la proliferación de las células de cáncer. Tanto el IFN α y IFN β puede influir en todas las etapas del ciclo celular, típicamente bloqueando la fase G1 (crecimiento) o a veces por el alargamiento de todas las fases del ciclo celular²⁴³. El IFN α modula la proteína retinoblastoma (pRb), la cual es inhibidora del ciclo celular. Complejos de ciclinas (cdk) regulan el punto de control de la fase G1 tardía del ciclo celular, mediante la fosforilación y la subsiguiente inactivación de la proteína de retinoblastoma (pRb), lo cual libera E2F (enzima que activa los genes para la replicación del ADN). El tratamiento de células con IFN α produce inhibición celular de las quinasas y ciclinas tales como la cdk D3, cdk E, cdk A y cdk 25A. Estas acciones suprimen la fosforilación de pRb y permiten así la progresión lenta del ciclo celular a la fase S (síntesis de ADN)^{243, 244}. La aditiva prolongación del ciclo celular podría resultar en la citostasis, aumento de tamaño de las células y eventualmente apoptosis²⁴⁵.

Otro mecanismo del efecto antitumoral del IFN α es la inhibición de la angiogénesis. Los tumores producen factor de crecimiento de fibroblastos básico y otras citoquinas para promover neovascularización local. Las células endoteliales de los tumores muestran lesión microvascular y necrosis después del tratamiento con IFN α , quien inhibe el factor de crecimiento de fibroblastos básico²⁴⁶. Tumores tratados con IFN α mostraron significativa apoptosis de las células endoteliales y de las células tumorales, lo cual fue demostrado por inmunofluorescencia de doble tinción²⁴⁷.

Acción inmunomoduladora

Los IFNs son excelentes inmunomoduladores, regulan la respuesta de los anticuerpos, positiva o negativamente. También ejercen efectos antitumorales mediante el perfeccionamiento de las funciones de las células T citotóxicas, células dendríticas, monocitos y NK²⁴⁸. En definitiva se puede asociar esta función con el IFN γ , aún cuando los demás tipos de IFN muestran también acción inmunomoduladora, ya que el gamma es considerado por mucho, el de mayor poder inmunomodulador. Su responsabilidad de activar la respuesta inmune tanto celular como humoral, estará en dependencia de la dosis, el tiempo de tratamiento y de la composición antigénica del receptor²⁴⁷⁻²⁴⁹.

La liberación o producción de los IFNs, es un proceso celular al que le puede dar un enfoque inmunológico, si se parte desde la propia generación de las líneas celulares en la médula ósea, siendo ellas, la línea linfoide que agrupa a los linfocitos, a las células NK, las cuales constituyen las principales fuentes de IFN γ , y la línea mieloide que incluye leucocitos, fuente principal del IFN α . En el caso del IFN β se logra de las células epiteliales. Para poder lograr la liberación de la citoquinas se necesita que estas células generadas maduren, para lo cual existe el compartimento de maduración, representado por el timo para las células T, allí la célula pre-T se torna inmunocompetente mediante la adquisición sobre su superficie de las moléculas que le permitirán elaborar la respuesta inmune, siendo esas moléculas, los *clusters* de diferenciación (CD) y los receptores de células T. De la expresión de los CD surgen los linajes de linfocitos que se conocen, aquella célula que exprese un CD4 en su superficie, será denominada linfocito T4 o linfocito Th o auxiliador, mientras que el que exprese un CD8 se reconocerá como linfocito T8 o linfocito citotóxico²⁴⁷⁻²⁴⁹.

A su vez, estos linajes se subdividen en varias subpoblaciones sobre la base de las linfoquinas que secreten así por ejemplo, tenemos el linaje Th, representado inicialmente como Th0, libera una mezcla de linfoquinas, mayormente durante las primeras fases de la respuesta inmune, momentos en los que aún no se ha producido la diferenciación, cuando esta se produce, se derivan las Th1, Th2, cuyas liberación de citoquinas se consideran normalmente en equilibrio, al producirse algún desbalance en el mismo es que se desencadenan las distintas enfermedades, un ejemplo podría ser las situaciones de infección crónica o hiperinmunización. Las citoquinas que estas subpoblaciones liberan, se correlacionan con el tipo de respuesta inmune. El IFN γ producido por la Th1, es capaz de activar a las células responsables de la respuesta celular y la IL-4, citoquina Th2, se asocia con la respuesta inmune humoral dada su capacidad para estimular la producción de IgE^{247, 248}.

Durante su maduración la célula pre-T aprenderá a reconocer como propios los antígenos expresados en el marco de los MHC presentes en el timo. Todas las células del organismo cuentan con sus MHC, y por tanto todas pueden expresar antígenos. Cuando entra un agente extraño al organismo, el antígeno tiene que ser primeramente procesado por la célula presentadora de antígeno (CPA), generalmente macrófagos o células de Langerhans, quienes lo reconocen, lo endocitan en una vacuola denominada endosoma, a esta se une el lisosoma dando paso a otra vacuola mayor cuyo contenido permite degradar la zona reconocible de la molécula proteica del antígeno, permitiendo que por ese mismo lugar se acople la molécula del MHC, quedando ya expresado el mismo en el marco de este y dejando la escena lista para el enfrentamiento entre la CPA y los linfocitos; cuando esto se produce se lleva a cabo el mecanismo de reconocimiento del antígeno, para ello el CD reconoce al MHC, específicamente, el CD4 al MHCII y el CD8 al MHCI, mientras que los receptor de células T (TCR) reconocen al antígeno, si

luego de este paso, es reconocido como extraño, entonces se activan los mecanismos inmunológicos con la consecuente liberación de las citoquinas por parte las subpoblaciones linfocitarias, las Th1 producirán entre otros IFN γ IL-2, IL-3, factor de necrosis tumoral (TNF); por su parte las Th2 producen IFN α , IL-4, IL-10^{247, 249}.

El Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) produce mediante técnicas de ingeniería genética (técnicas de ADN recombinantes) el interferón alfa-2b humano recombinante en bacterias (*E. coli*) el cual se comercializa con el nombre de Heberon Alfa R. Este producto ha mostrado eficacia como agente terapéutico en varios ensayos clínicos, particularmente en enfermedades de origen viral y de naturaleza oncológica. El mismo es muy similar a otros productos existentes en el mercado desde los puntos de vista bioquímico, molecular y clínico. Se terminó un estudio de bioequivalencia entre las formulaciones líquidas de Heberón Alfa R y el Intron A (Shering-Plough), que constituye una de las principales formulaciones comerciales de IFN alfa-2b humano recombinante y que tuvo como objetivo comparar el comportamiento farmacológico de las formulaciones en la misma población, con iguales dosis y parámetros evaluativos. En dicho estudio se encontraron similares perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos para ambas formulaciones. En otra investigación donde se comparó la farmacocinética y la farmacodinámica de las formulaciones liofilizadas de Heberón Alfa R e Intron A se obtuvieron también comportamientos similares²³⁵.

Eventos adversos:

El uso de los interferones en la práctica médica ha sido tan amplio y durante tanto tiempo que ha dado lugar a reportes de múltiples eventos adversos. Los más comunes reportados para el interferón alfa son los del síndrome seudogripal (fiebre, mialgias, artralgias, fatiga, escalofríos y cefalea), anorexia, náusea, vómitos, diarreas, trastornos

del sueño, alopecia, reacciones en el sitio de inyección, hipotiroidismo e hiperglicemia. Otros eventos adversos reportados son la depresión reversible de la médula ósea, elevación transitoria de las enzimas hepáticas, con una recuperación típica a los 2 a 5 días después del inicio de la terapia, síntomas neurológicos (parestesia, trastornos motores, confusión, disartria, pérdida de la memoria a corto plazo), complicaciones psiquiátricas (depresión, intentos suicidas), sarcoidosis, infiltrados pulmonares (neumonitis, o neumonía), insuficiencia renal, síndrome nefrítico, pancreatitis, hemorragias gástricas severas o fatales y enfermedades autoinmunes (trombocitopenia autoinmune, anemia hemolítica, hipotiroidismo, diabetes mellitus, artritis reumatoide, lupus eritematoso y psoriasis), hemorragias retinianas, obstrucciones de la arteria o la vena de la retina^{242, 249-251}.

Ensayos que avalan el uso del interferón en el condiloma acuminado.

Existen múltiples publicaciones en la literatura que avalan el uso del interferón en el tratamiento de los condilomas acuminados.

Friedman-Kien AE y cols. (1988) en un estudio multicéntrico, aleatorizado, a doble ciegas y controlado en 158 pacientes con condiloma acuminado, en el que se comparó el efecto terapéutico entre el interferón- (IFN) contra placebo intralesional en condilomas acuminados recurrentes o recalcitrantes, inyectado 2 veces por semana durante 8 semanas obtuvieron eliminación total de las lesiones en 62 % de los pacientes tratados con IFN y solo en 21 % de los pacientes tratados con placebo, con la comprobación de que el IFN estimula el sistema inmune y elimina los HPV. Los porcentajes de recidiva fueron 25 % y 23 % al año de seguimiento post-tratamiento en los grupos tratados con placebo y con IFN, respectivamente²⁵².

Petersen y cols. (1991) realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado, a doble ciegas y controlado en 49 pacientes adultos con condilomas acuminados. Se formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (láser de CO₂, combinado con 5 × 10⁶ UI de IFN- 2b por vía subcutánea 3 veces por semana, durante 4 semanas, iniciando el tratamiento 72 horas después de operación con láser) y grupo II (láser de CO₂, combinado con placebo, a igual forma de administración que el IFN). La respuesta al tratamiento (eliminación de las lesiones) fue 52 % y 23 %, a las 4 semanas en los grupos I y II respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²⁵³.

Reid y cols. (1992) realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado abierto y controlado en 83 pacientes femeninas adultas con condiloma acuminado vulvar extenso. Se formaron 3 grupos de tratamiento: grupo I (láser de CO₂, 1 sola sesión), grupo II (láser de CO₂, 1 sola sesión, combinado con 5-fluouracilo en crema, 1 vez a la semana, durante 26 semanas) y grupo III (láser de CO₂, 1 sola sesión, combinado con 1 × 10⁶ UI de IFN- subcutáneo 3 veces por semana durante 10 semanas). La respuesta al tratamiento (eliminación de las lesiones) fue 40 %, 50 % y 82 % a los 18 meses post-tratamiento en los grupos I, II y III respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²⁵⁴.

Shimomaye y cols. (1994) realizaron un estudio multicéntrico, a doble ciego y controlado en 42 pacientes adultos con condilomas acuminados. Se formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (1 × 10⁶ UI de IFN- intralesional) y grupo II (placebo intralesional). La respuesta al tratamiento (eliminación de las lesiones) fue 62 % y 21 % en los grupos I y II respectivamente. En el grupo I 75 % de los pacientes con eliminación total de las lesiones se mantuvo libre de lesiones durante los 18 meses que duró el seguimiento²⁵⁵.

Fleshner y cols. (1994) realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado y controlado en 43 pacientes adultos con condiloma acuminado de localización anal. Se formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (escisión quirúrgica combinada con electrocirugía y $0,5 \times 10^6$ UI de IFN- subcutáneo) y grupo II (escisión quirúrgica combinada con electrocirugía y placebo subcutáneo). A todas las lesiones se les realizó sola una sesión de tratamiento. Los porcentajes de recidiva fueron 12 % y 39 % a los 4 meses post-tratamiento en los grupos I y II, respectivamente²⁵⁶.

Cardamakis RCT, y cols. durante varios años buscaron una variante terapéutica que lograra la curación del condiloma acuminado. En tres de sus estudios utilizaron el interferón. Los resultados de los mismos se describen a continuación:

- En el año 1994 realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado y controlado en 305 pacientes masculinos adultos. Formaron 3 grupos de tratamiento: grupo I (5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos), grupo II (5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos combinado con $1,5 \times 10^6$ UI de IFN- subcutáneo durante 6 días consecutivos) y grupo III (5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos combinado con 3×10^6 UI de IFN- subcutáneo durante 6 días consecutivos). La respuesta al tratamiento (eliminación de las lesiones) fue 44 %, 71 % y 96 % en los grupos I, II y III, respectivamente. El grupo de pacientes que utilizó 3×10^6 UI de IFN- mostró una mejor respuesta. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²⁵⁷.

- En el año 1995 no satisfechos con sus resultados y buscando una alternativa mejor realizaron otro estudio prospectivo, aleatorizado y controlado. Esta vez en 86 pacientes masculinos adultos con lesiones recurrentes. Formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (isotretinoína oral a 1mg/kg de peso/ día durante 3 meses o hasta que se eliminasen las

lesiones) y grupo II (3×10^6 UI de IFN- subcutáneo 3 veces por semana durante 8 semanas combinado con isotretinoína oral en igual esquema). Respondieron al tratamiento 62 % y 91 % en los grupos I y II, respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²⁵⁸.

- En el año 1996 realizaron un estudio similar, con igual diseño, pero esta vez en 57 pacientes féminas. Respondieron al tratamiento 75 % y 95 % en los grupos I y II, respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar los porcentajes de recidiva²⁵⁹. En todos sus estudios la mejor respuesta terapéutica tanto en hombres como mujeres se logró en el grupo que se utilizó 3×10^6 UI de IFN subcutáneo.

Gross y cols. (1996) realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado y controlado en 84 pacientes adultos. Formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (láser de CO₂ combinado con 1×10^6 UI de IFN- subcutáneo por 5 día consecutivos, realizando 3 ciclos) y grupo II (láser de CO₂ combinado con placebo subcutáneo por 5 día consecutivos, realizando 3 ciclos). Los porcentajes de recidiva fueron 41 % y 63 % a las 33 semanas post-tratamiento en los grupos I y II respectivamente²⁶⁰.

Relakis y cols. (1996) realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado abierto y controlado en 505 pacientes masculinos con condiloma acuminado. Se formaron 4 grupos de tratamiento: grupo I (5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos), grupo II (láser de CO₂, 2 ciclos), grupo III (5-fluouracilo en crema combinado con láser de CO₂, 2 ciclos), grupo IV (5-fluouracilo en crema combinado con 2 ciclos de láser de CO₂ y 3×10^6 UI de IFN- subcutáneo durante 6 días consecutivos). La respuesta al tratamiento (eliminación de las lesiones) fue 52 %, 30 %, 54 % y 81 % en los grupos I,

II, III y IV, respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²⁶¹.

Syed y cols. en la década de 1990 realizaron varios estudios buscando la alternativa de tratamiento más eficaz para la erradicación del condiloma acuminado. Inicialmente en sus investigaciones utilizaron el imiquimod en crema y el podofilox en solución y en crema a diferentes concentraciones. No satisfechos con sus resultados deciden investigar la eficacia terapéutica del IFN. Para ello realizaron 4 estudios. Sus resultados fueron los siguientes:

- En el año 1994 realizaron un estudio prospectivo, aleatorizado abierto y controlado en 150 pacientes asiáticas femeninas con esta afección. Formaron 3 grupos de tratamiento: grupo I (IFN- en crema 2×10^6 UI \times g 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas), grupo II (IFN- en crema 2×10^6 UI \times g 3 veces al día, 4 días consecutivos, durante 4 semanas) y grupo III (placebo en crema 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas). La respuesta al tratamiento (eliminación de las lesiones) fue 48 %, 90 % y 10 %, a las 4 semanas en los grupos I, II y III, respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²⁶².

- En el año 1995 realizaron un segundo estudio prospectivo, aleatorizado y controlado. Esta vez a doble ciego en 60 pacientes masculinos asiáticos circuncidados. Formaron 3 grupos de tratamiento: grupo I (IFN- en crema 2×10^6 UI \times g), grupo II (podofilina en crema al 0,5 %) y grupo III (placebo en crema). Todos los grupos se aplicaron la crema que les correspondió 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas. Respondieron al tratamiento 90 %, 55 % y 15 %, a las 4 semanas en los grupos I, II y III, respectivamente. Los porcentajes de recidiva fueron 6 %, 18 % y no evaluadas, a los 10 meses post-tratamiento en los grupos I, II y III, respectivamente²⁶³.

- En ambos estudios anteriores el IFN- en crema 2×10^6 UI \times g aplicado 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas fue el que mejor resultado mostró, por tal motivo ese mismo año decidieron realizar un tercer estudio con similar diseño, igual número de pacientes e iguales grupos de tratamiento que el segundo estudio, pero en esta ocasión solo trataron pacientes femeninas. Respondieron al tratamiento 90 %, 60 % y 20 %, en los grupos I, II y III, respectivamente. El porcentaje de recidiva fue igual en todos los grupos (6%)²⁶⁴.

- En el año 1998 buscando mayor efectividad del IFN deciden sustituir la crema por gel y con diseño similar e igual número de pacientes a los dos estudios anteriores, deciden evaluar su eficacia en féminas con lesiones intravaginales. Formaron 2 grupos de tratamiento: grupo I (IFN- en gel a 2×10^6 UI \times g), grupo II (placebo en gel). Ambos grupos se aplicaron el gel que les correspondió 2 veces al día, 5 días consecutivos de la semana, durante 4 semanas. Respondieron al tratamiento 73 % y 10 %, a las 4 semanas en los grupos I y II, respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²⁶⁵.

Lozada-Nur F y cols. (2001) en un estudio en 4 pacientes con SIDA y condilomas acuminados orales múltiples y recurrentes aplicaron IFN- intralesional a todas las lesiones, inyectado 2 veces por semana durante 8 semanas. 100 % de los pacientes respondió al tratamiento con eliminación total de las lesiones y estuvieron libres de lesiones por más de 42 meses¹⁰⁷.

Yildirim y cols. (2004) reportaron un caso con múltiples lesiones de condiloma acuminado en el pene tratado con 3×10^6 UI de IFN- 2 subcutáneo 3 veces por semana durante 2 meses, combinado con isotretinoína oral a 0,5 mg/kg/día durante 3 meses. A

los tres meses 100 % de las lesiones desaparecieron. El seguimiento posterior (1 año) no mostró recidivas²⁶⁶.

Scheinfeld y cols. (2006) en su artículo de revisión recomiendan asociar el IFN a la cirugía de las verrugas genitales²⁶⁷.

Friedman y cols. (2007) en su artículo de revisión recomiendan el uso del IFN en el tratamiento del condiloma acuminado y para disminuir el potencial de transformación maligna de las células del cérvix por la acción del HPV²⁶⁸.

En el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario: “Hermanos Ameijeiras, La Habana, Cuba (HHA) se han realizado varios ensayos clínicos que evalúan el uso del interferón alfa-2b en el tratamiento de los condilomas acuminados. Los resultados de los mismos se describen a continuación:

- En el 1988 se realizó un estudio a doble ciegas, aleatorizado y controlado, en el que se incluyeron 60 pacientes. Se formaron 3 grupos de tratamiento: grupo I (6×10^6 UI de IFN- 2b recombinante, intramuscular, 3 veces por semana, asociado a IFN- 2b recombinante tópico a 20 000 UI/g de crema hidrófila), grupo II (2 U de factor de transferencia, intramuscular, 3 veces por semana, asociado a su uso tópico a 1 U/g de crema hidrófila) y grupo III (placebo compuesto por 2 ml de albúmina y 1,5 ml de solución salina, intramuscular y tópico con crema hidrófila). Todos los grupos recibieron tratamiento durante 6 semanas. Después de concluir el tratamiento respondieron 80 %, 65 % y 20 %, en los grupos I, II y III respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva²³².

- En el año 2009 se realizó un estudio a doble ciegas, aleatorizado y controlado, en el que se incluyeron 76 pacientes. Se formaron 3 grupos de tratamiento: grupo I (IFN- crema 100 000 UI \times g), grupo II (IFN- crema 20 000 UI \times g) y grupo III (placebo

crema). En todos los grupos la crema correspondiente se aplicó 4 veces al día, durante 12 semanas. Después de concluir el tratamiento respondieron 43 %, 52 % y 28,3 %, en los grupos I, II y III respectivamente. No se realizó seguimiento a los pacientes para determinar el porcentaje de recidiva¹⁰⁹.

- En el año 2009 se realizó un estudio a doble ciegas, aleatorizado y controlado, en el que se incluyeron 30 pacientes con esta afección. Se formaron 3 grupos de tratamiento con IFN 2b sin albúmina, intramuscular, diario, a diferentes dosis y con distinta duración: grupo I (3×10^6 UI de IFN durante 7 días), grupo II (5×10^6 UI de IFN durante 4 días) y grupo III (10×10^6 UI de IFN durante 2 días). Después de concluir el tratamiento respondieron 70 %, 20 % y 50 %, en los grupos I, II y III respectivamente. Se demostró que resultados los mejores se logran con dosis mantenidas más que con dosis elevadas¹¹⁰.

En el cuadro a continuación se resumen los trabajos descritos anteriormente.

| Autor. Año. (referencia) | Control | Esquema de IFN | N | Resultado | Porcentaje de recidiva al año |
|---|--|---|-----|-------------------------|-------------------------------|
| | | | | Respuesta total | |
| Friedman-Kien AE y cols. 1988. ⁽²⁵²⁾ | Placebo intralesional inyectado 2 veces por semana durante 8 semanas | IFN (1×10^6 UI) intralesional inyectado 2 veces por semana, durante 8 semanas. | 158 | 21 % vs. 62 % | 25 % vs. 23 % |
| Petersen y cols. 1991. ⁽²⁵³⁾ | Láser de CO ₂ + placebo. | Láser de CO ₂ , + IFN-2b (5×10^6 UI) SC 3 veces por semana, durante 4 semanas. | 49 | 23 % vs. 52 %. | No se evaluó. |
| Reid y cols. 1992. ⁽²⁵⁴⁾ | Láser de CO ₂ , 1 sola sesión. Láser de CO ₂ , 1 sola sesión + 5-fluouracilo en crema, 1 vez a la semana, durante 26 semanas. | Láser de CO ₂ , 1 sola sesión, + IFN- (1×10^6 UI) SC 3 veces por semana durante 10 semanas | 83 | 40 % vs. 50 % vs. 82 %. | No se evaluó. |

| Autor. Año. (referencia) | Control | Esquema de IFN | N | Resultado | Porcentaje de recidiva al año |
|--|--|--|-----|---------------------------------|-------------------------------|
| | | | | Respuesta total | |
| Shimomaye y cols. 1994. ⁽²⁵⁵⁾ | Placebo intralesional, 2 veces por semana, durante 8 semanas. | IFN- (1×10^6 UI) intralesional en igual esquema. | | 21 % vs. 62 %. | No evaluado vs. 75 %. |
| Fleshner y cols. 1994. ⁽²⁵⁶⁾ | Escisión quirúrgica + electrocirugía + placebo SC. | Escisión quirúrgica + electrocirugía + IFN- ($0,5 \times 10^6$ UI) SC. | 43 | 100 % ambos grupos. | 39 % vs. 12 %. |
| Cardamakis RCT, y cols. 1994. ⁽²⁵⁷⁾ | 5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos | IFN- ($1,5 \times 10^6$ UI) SC durante 6 días consecutivos + 5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos. IFN- (3×10^6 UI) SC durante 6 días consecutivos + 5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos. | 305 | 44 % vs. 71 % vs. 96 %. | No se evaluó. |
| Cardamakis RCT, y cols. 1995. ⁽²⁵⁸⁾ | Isotretinoína oral a 1mg/kg /día durante 3 meses o hasta que se eliminasen las lesiones. | IFN- (3×10^6 UI) SC 3 veces por semana durante 8 semanas + isotretinoína oral en igual esquema. | 86 | 62 % vs. 91 %. | No se evaluó. |
| Cardamakis RCT, y cols. 1996. ⁽²⁵⁹⁾ | Isotretinoína oral a 1mg/kg /día durante 3 meses o hasta que se eliminasen las lesiones. | IFN- (3×10^6 UI) SC 3 veces por semana durante 8 semanas + isotretinoína oral en igual esquema. | 57 | 75 % vs. 95 %. | No se evaluó. |
| Gross y cols. 1996. ⁽²⁶⁰⁾ | Láser de CO ₂ + placebo SC 3 ciclos por 5 días consecutivos. | IFN- (1×10^6 UI) SC en igual esquema. | 84 | No se evaluó. | 63 % vs. 41 %. |
| Relakis y cols. 1996. ⁽²⁶¹⁾ | 5-fluouracilo en crema durante 5 días consecutivos. Láser de CO ₂ , 2 ciclos. 5-fluouracilo en crema + 2 ciclos de láser de CO ₂ . | 5-fluouracilo en crema + 2 ciclos de láser de CO ₂ + IFN- (3×10^6 UI) SC durante 6 días consecutivos. | 505 | 52 % vs. 30 % vs. 54 % vs. 81 % | No se evaluó. |

| Autor. Año. (referencia) | Control | Esquema de IFN | N | Resultado | Porcentaje de recidiva al año |
|---|--|--|-----|-------------------------|-------------------------------|
| | | | | Respuesta total | |
| Syed y cols. 1994. ⁽²⁶²⁾ | Placebo en crema 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas. | IFN- en crema (2×10^6 UI \times g) 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas. IFN- en crema (2×10^6 UI \times g) 3 veces al día, 4 días consecutivos, durante 4 semanas. | 150 | 10 % vs. 48 % vs. 90 %. | No se evaluó. |
| Syed y cols. 1995. ⁽²⁶³⁾ | Podofilina en crema al 0,5 % 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas. Placebo en crema en igual esquema. | IFN- en crema (2×10^6 UI \times g) en igual esquema. | 60 | 55 % vs. 15 % vs. 90 %. | 18 % vs. no evaluado vs. 6 %. |
| Syed y cols. 1995. ⁽²⁶⁴⁾ | Podofilina en crema al 0,5 % 3 veces al día, 3 días consecutivos, durante 4 semanas. Placebo en crema en igual esquema. | IFN- en crema (2×10^6 UI \times g) en igual esquema. | 60 | 60 % vs. 20 % vs. 90 % | 6 % en todos los grupos. |
| Syed y cols. 1998. ⁽²⁶⁵⁾ | Placebo en gel 2 veces al día, 5 días consecutivos de la semana, durante 4 semanas. | IFN- en gel (2×10^6 UI \times g) en igual esquema. | 60 | 10 % vs. 73 %. | No se evaluó. |
| Lozada-Nur F y cols. 2001. ⁽¹⁰⁷⁾ | No | IFN (1×10^6 UI) intralesional inyectado 2 veces por semana, durante 8 semanas. | 4 | 100 %. | 0 % |
| Yildirim y cols. 2004. ⁽²⁶⁶⁾ | No | IFN (3×10^6 UI) SC, 3 veces por semana durante 2 meses + isotretinoína oral a 0,5 mg/kg/día, durante 3 meses. | 1 | 100 %. | 0 % |

| Autor. Año. (referencia) | Control | Esquema de IFN | N | Resultado | Porcentaje de recidiva al año |
|--|---|---|----|---------------------------|-------------------------------|
| | | | | Respuesta total | |
| Hospital Clínico Quirúrgico: "Hermanos Ameijeiras". 1988. ⁽²³²⁾ | Factor de transferencia (2 U) IM, 3 veces por semana + crema hidrófila tópica, 2 veces al día, durante 6 semanas. Placebo (2 ml de albúmina, 1,5 ml de solución salina) IM + crema hidrófila tópica, en igual esquema. | IFN- 2b recombinante (6×10^6 UI) IM, 3 veces por semana + IFN- 2b recombinante 20 000 UI/g de crema hidrófila tópica, en igual esquema. | 60 | 65 % vs. 20 % vs. 80 %. | No se evaluó. |
| Hospital Clínico Quirúrgico: "Hermanos Ameijeiras". 2009. ⁽¹⁰⁹⁾ | Placebo crema 4 veces al día, durante 12 semanas. | IFN- crema 100 000 UI \times g, en igual esquema. IFN- crema 20 000 UI \times g, en igual esquema. | 76 | 28,3 % vs. 43 % vs. 52 %. | No se evaluó. |
| Hospital Clínico Quirúrgico: "Hermanos Ameijeiras". 2009. ⁽¹¹⁰⁾ | No. | IFN- 2b sin albúmina (3×10^6 UI) IM, diario, durante 7 días. IFN- 2b sin albúmina (5×10^6 UI) IM, diario, durante 4 días. IFN- 2b sin albúmina (10×10^6 UI) IM, diario, durante 2 días. | 30 | 70 % vs. 20 % vs. 50 %. | 37,5 %. |

El IFN alfa ha mostrado, mediante sus acciones antivirales, antiproliferativas e inmunomoduladoras, que puede conducir a corto plazo a la eliminación completa de las lesiones en los pacientes y, a largo plazo, el aclaramiento de las partículas virales, lo que reduce de manera persistente la posibilidad de su reaparición.

La persistencia de las lesiones cutáneas y genitales por el VPH en un grupo de pacientes es el resultado de una infección sostenida por un extenso período sin la inducción de la respuesta inmunitaria efectiva y un indicio de la habilidad desarrollada por el virus para

evadir la acción del sistema inmunitario. El principal mecanismo para este propósito es una escasa exposición de los genes virales al sistema inmunitario del huésped²⁶⁹.

Hasta la fecha se considera que ninguna de las alternativas terapéuticas logra una cura total o la eliminación de las recurrencias, y la principal virtud de los diferentes productos empleados es extender lo más posible el intervalo libre de lesiones en el individuo.

El IFN alfa tiene acción antiviral, inmunomoduladora y antitumoral. La criocirugía sirve para tratar esta afección porque las lesiones inducidas por el virus son destruidas por la necrosis que produce en la célula infectada. Se piensa que la unión del IFN a la criocirugía disminuya la carga viral, favorezca la destrucción de las lesiones y reduzca la tasa de recidivas.

Conclusiones del capítulo:

De todas las variantes de uso tópico empleadas la criocirugía fue la más efectiva para destruir las lesiones del condiloma acuminado pero sin lograr el total control de la enfermedad ni las recidivas de la misma. En las diferentes variantes estudiadas se obtuvo mejores resultados en los grupos en los que se utilizó o asoció el IFN alfa, aunque tampoco logró el total control de la enfermedad ni las recidivas. De lo anterior se deduce ensayar la asociación de la criocirugía a un tratamiento inmunomodulador y antiviral sistémico potente como es el IFN alfa.

CAPÍTULO II:
DISEÑO METODOLÓGICO

II. Diseño metodológico

II.1. Diseño del ensayo.

Se realizó un ensayo clínico poscomercialización, abierto, aleatorizado y controlado en el Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”, en el período comprendido entre el 1 de marzo de 2009 y el 31 de agosto de 2011. Se previó la inclusión de 170 pacientes para asignarlos a dos grupos según una lista aleatoria. Cada grupo se planificó para ser integrado por 85 pacientes, ser tratados por 6 semanas según correspondiera y seguidos durante 48 semanas post-tratamiento. Se aplicaron dos intervenciones terapéuticas diferentes, el IFN alfa y la criocirugía, reconocidas ambas como alternativas convencionales para la indicación estudiada. La aleatorización estableció dos grupos, uno con la combinación de ambos tratamientos y el otro con solo criocirugía de la forma siguiente:

- **Grupo A:** administración subcutánea 3 veces a la semana de 3×10^6 UI de IFN alfa-2b humano recombinante en su formulación líquida sin albúmina, asociado a la aplicación de criocirugía de las lesiones cada 15 días.
- **Grupo B:** aplicación de criocirugía de las lesiones cada 15 días

En ambos grupos el tratamiento se prolongó durante 6 semanas.

Dos semanas después de concluido el tratamiento fue evaluada la respuesta al mismo, mediante la comparación entre los estados inicial y final de las lesiones. En caso de alcanzar la respuesta completa, se mantuvo al paciente en evaluaciones de seguimiento post-tratamiento durante 12 meses. La intención fue detectar recidivas de la enfermedad y emitir el criterio de eficacia terapéutica al finalizar el seguimiento. Los casos sin respuesta completa, concluyeron el estudio al terminar sus 8 semanas iniciales y pasaron

a usar otro esquema terapéutico convencional de que dispusiera el servicio. El flujograma del estudio se muestra esquemáticamente en la figura 1.



Figura 1. Algoritmo general del Ensayo.

II.2. Ética

El protocolo del ensayo clínico fue sometido a la consideración y aprobación del Comité de Revisión Ética para la Investigación y el Consejo Científico del Hospital “Hermanos Ameijeiras”, cuyos avales acompañaron la notificación enviada a la autoridad nacional reguladora (CECMED).

El ensayo estuvo justificado desde el punto de vista ético ya que:

Se realizó según lo establecido en la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial acorde a las modificaciones a la misma adoptadas en las Asambleas Generales efectuadas en Edimburgo, Escocia 2000, Japón 2004 y Corea del Sur 2008, así como siguiendo las recomendaciones expuestas en “International Ethical Guidelines for Biomedical Research involving Human subjects” (Council for International Organization for Medical Sciences 1992) y en las regulaciones vigentes para ello.

Se realizó según lo establecido y cumpliendo todas las indicaciones establecidas por las normas de Buenas Prácticas Clínicas vigentes en la última actualización al respecto emitida por la autoridad nacional reguladora.

Los pacientes incluidos obtuvieron un beneficio de su participación, pues ambas intervenciones terapéuticas empleadas se encuentran registradas por las agencias reguladoras nacionales e internacionales para el tratamiento de la enfermedad.

Los dos tratamientos empleados se consideran tolerables, con eventos adversos bien descritos y conocidos, por lo que el riesgo adicional a que se expusieron los pacientes fue completamente controlable, máxime atendiendo a la experiencia del personal vinculado al ensayo.

Una vez confirmado el diagnóstico de la enfermedad en evaluación fue solicitado el consentimiento de participación por escrito a los pacientes, los cuales recibieron igualmente por escrito una información detallada de las características del estudio y de los tratamientos que recibió. Se adjunta el modelo usado para solicitar el consentimiento (Anexo 1).

Los pacientes tuvieron pleno derecho para abandonar el estudio cuando lo consideraron pertinente, sin que ello repercutiese en el tratamiento que se le ofreció en el hospital.

Se garantizó la confidencialidad de los datos individuales de los sujetos.

II.3. Selección de los pacientes

II.3.1. Universo del estudio

El universo quedó constituido por los pacientes residentes en Cuba, adultos, de cualquier sexo y color de piel, que acudieron a las consultas del Servicio de Dermatología del HHA. Se consideró la población adecuada para los propósitos del ensayo ya que en esta institución se contó con el equipamiento, instrumental e intervenciones necesarias para confirmar los siguientes criterios diagnósticos:

Clínico: cualquier número de lesiones en forma de verrugas aisladas o en placas, con superficie elevada y áspera con aspecto de coliflor, que ocupen un área igual o mayor de 4 cm².

Anátomo-patológico mediante biopsia: poca hiperqueratosis con paraqueratosis; acantosis; vacuolización en los elementos de la capa de células espinosas; infiltración linfocítica ligera a moderada en la dermis.

II.3.2. Criterios de inclusión.

- Pacientes de cualquier sexo y color de piel que cumplieran con los criterios diagnósticos de condiloma acuminado, localizados en genitales externos, región perianal y cara interna de los muslos.
- Edad entre 18 y 60 años, ambos inclusive.
- No haber recibido tratamiento tópico o sistémico con IFN u otro medicamento antiviral un mes antes de la inclusión.
- No haber recibido tratamiento con levamisol u otro medicamento inmunomodulador un mes antes de la inclusión.

- Voluntariedad del individuo mediante firma del consentimiento escrito.

II.3.3. Criterios de exclusión.

- Pacientes con historia de hipersensibilidad al IFN- α o a cualquiera de los componentes de la formulación.
- Pacientes con antecedentes patológicos personales de crioglobulinemias
- Infección en las lesiones que necesite tratamiento antibiótico sistémico.
- Otras enfermedades de transmisión sexual (sífilis, uretritis infecciosas, SIDA).
- Haber recibido tratamiento con inmunosupresores (corticosteroides, citostáticos) tres meses antes de la inclusión.
- Radioterapia o quimioterapia recibida durante el mes previo a la inclusión en el estudio.
- Pacientes con diagnóstico confirmado de neoplasias malignas.
- Afección aguda o crónica hepática descompensada: pacientes con bilirrubina total $>17 \mu\text{mol/l}$, con transaminasas hepáticas 1,5 veces el valor normal, concomitantemente con fosfatasa alcalina 2,5 veces por encima del límite superior normal (44-147 UI/L).
- Afección aguda o crónica renal descompensada: pacientes con creatinina 1.5 veces el valor normal con otros criterios clínicos y de laboratorio.
- Enfermedad cardiovascular descompensada comprobada por el examen clínico, electro y ecocardiográfico.
- Diabetes Mellitus descompensada: glicemia $>8 \mu\text{mol/l}$.

- Mujeres en edad fértil sin contracepción segura, embarazo, lactancia o con lesiones en genitales internos, evaluada por un ginecólogo de su hospital de base (Anexo 2).
- Trastorno psiquiátrico severo u otra limitación que impida al paciente dar su consentimiento o dificulte su evaluación.

II.3.4. Criterios de interrupción del tratamiento o la evaluación.

- Abandono voluntario del individuo.
- Aparición de eventos adversos graves o muy graves, con relación de causalidad demostrada con respecto a las terapias en estudio.
- Aparición de manifestaciones clínicas de crioglobulinemia comprobadas por el examen clínico y los complementarios correspondientes.
- Progresión de la enfermedad, dado por el incremento del total o el tamaño de las lesiones.
- Aparición de los criterios de exclusión anteriormente relacionados.

II.4. Tratamiento

II.4.1. Productos y esquema terapéutico

Los pacientes fueron asignados aleatoriamente a dos grupos de tratamiento según se esquematiza en el cuadro debajo:

| Grupo | Intervención | Dosis y vía de administración | Frecuencia | Duración |
|--------------|--|--------------------------------------|-------------------|-----------------|
| A | Interferón alfa-2b humano recombinante | 3 x 10 ⁶ UI subcutáneo | 3 veces/semana | 6 semanas |
| | Criocirugía | Dos aplicaciones por lesión | Cada 15 días | |
| B | Criocirugía | Dos aplicaciones por lesión | Cada 15 días | |

Se empleó la técnica convencional para las inyecciones subcutáneas con jeringuillas de 1 mL y agujas número 26. Se rotaron los sitios de aplicación al igual que la insulina (brazos, abdomen, glúteos y muslos).

La criocirugía fue realizada con un aplicador con punta de algodón hasta la formación de la escarcha en la totalidad de la lesión y un frente de congelación de 2 mm por fuera. Luego se procedió a despegar el aplicador, se esperó la descongelación y se procedió a una segunda aplicación del mismo modo. Se realizó el tratamiento para cada lesión en dependencia del número de lesiones que presentó el paciente.

Todo el esquema terapéutico fue ambulatorio. Los pacientes debían acudir a la consulta de Dermatología para recibir la criocirugía y evaluación por intermedio del personal médico investigador. El IFN fue administrado en el área de salud. Al concluir el tratamiento se inició un seguimiento por 48 semanas.

Se utilizó IFN alfa-2b humano recombinante líquido, sin albúmina, (Heberon alfa R, Heber Biotec, La Habana), con la composición que se muestra en el cuadro debajo:

| Componente | Cantidad | Función |
|---|-------------------------------|--------------------------|
| IFN alfa-2b humano recombinante (actividad específica 2×10^8 UI/mg de proteína) | 3×10^6 UI | Principio activo |
| NaCl | 4,67 mg/mL | Sal para iso-osmolaridad |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 2,96 mg/mL | Tampón |
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 14,41 mg/mL | Tampón |
| Alcohol bencílico | 10 mg/mL | Estabilizante |
| Tween 80 | 0,2 mg/mL | Estabilizante |
| Agua para inyección. | Cantidad suficiente para 1 mL | |

El IFN alfa-2b recombinante se conservó en un lugar seco, protegido de la luz, a temperatura de refrigeración entre 2 a 8 °C.

La Sección de Suministros de la Dirección de Investigaciones Clínicas del CIGB se encargó del manejo, preparación y entrega al HHA del IFN alfa destinado a los pacientes.

En la consulta del HHA, cada paciente incluido recibió las indicaciones necesarias para cumplimentar el esquema terapéutico que le correspondió. Para el caso del IFN alfa, se realizó una entrega única, embalada en bolsas de nylon transparentes herméticamente selladas, con 18 bulbos de IFN alfa-2b recombinante, identificadas con la etiqueta “*Para Ensayo Clínico*”, las siglas de identificación del hospital, el número de inclusión del paciente y el título del protocolo.

Cada lote de medicamento entregado estuvo acompañado de sus certificados de calidad. La recepción en la farmacia hospitalaria de los medicamentos enviados por el promotor fue efectuada solamente por la persona identificada como farmacéutico responsable del ensayo en este departamento.

Una vez en la farmacia hospitalaria, los medicamentos fueron debidamente almacenados e identificados para su control y custodia, correspondiendo esta responsabilidad al farmacéutico responsable del ensayo en la institución.

II.4.2. Método de asignación de los tratamientos a los pacientes.

Se elaboró en el Centro de Investigaciones Biológicas una lista aleatoria mediante el software “2N” de la Universidad de Arkansas para Ciencias Médicas²⁷⁰ y que consta de un módulo para realizar la aleatorización.

La lista fue diseñada en bloques de 6 individuos con el objetivo de garantizar homogeneidad en cuanto a la asignación del tratamiento y que se facilitara de este modo el análisis de evaluación de la respuesta.

La asignación de cada paciente se hizo cuando se verificó que cumplía los criterios de inclusión y firmó el consentimiento informado para participar en el ensayo.

No hubo violaciones de la lista aleatoria ni de los tratamientos asignados a los pacientes. Solo uno no inició voluntariamente el tratamiento con IFN alfa + criocirugía y llevó tratamiento con criocirugía solamente. Los restantes 169 cumplieron las etapas de tratamiento y seguimiento planificadas.

II.4.3. Selección de la dosis del estudio.

En el estudio se utilizó 3×10^6 UI de IFN alfa recombinante, asociado a la aplicación de criocirugía de las lesiones cada 15 días. Se conoce la importancia del uso de medicamentos sistémicos para controlar la enfermedad. En Cuba este producto está indicado por vía subcutánea o intramuscular a dosis de 6×10^6 UI tres veces por semana o diarios durante 6 semanas. Sobresalen en la literatura dosis inferiores a las empleadas en este estudio^{107, 108}, en períodos de tratamiento similares. En un estudio previo en el HHA¹¹⁰ se encontró que la dosis de 3×10^6 UI tres veces por semana arrojó mejores resultados. No se reportan dosis superiores a 6×10^6 UI.

En cuanto a la criocirugía para conseguir la mayor destrucción celular, el tejido debió congelarse rápidamente y descongelarse lentamente. En el HHA se viene utilizando desde hace más de 15 años para el tratamiento del condiloma acuminado^{88-92, 104-106}.

II.4.4. Especificaciones para reducir sesgos.

El ensayo fue abierto, debido a que la forma de presentación y de aplicación de las modalidades terapéuticas evaluadas fueron diferentes, lo cual imposibilitó el cegamiento del estudio. No obstante y para disminuir la posibilidad de sesgos se tomaron las medidas que siguen:

- a) se usó un tercer evaluador no involucrado en el tratamiento de los pacientes (especialista de segundo grado en Dermatología, Máster en enfermedades infecciosas, profesor auxiliar, con más de 30 años de experiencia en la profesión cuya función fue la de medir el número, tamaño y área de las lesiones en cada evaluación).
- b) se tomaron fotografías de las lesiones en las diferentes evaluaciones, de modo que se conservó una evidencia gráfica que permitió avalar los datos obtenidos.
- c) la lista aleatoria fue custodiada por el Departamento de Suministros del CIGB y el producto fue entregado al investigador después de haber realizado la aleatorización de los pacientes. De esta manera los investigadores participantes en el estudio no conocieron la modalidad terapéutica administrada hasta después de incluir y asignar tratamiento al paciente. Para ello el investigador, una vez incluido cada paciente y asignándole un número de inclusión consecutivo se comunicó con el monitor designado del CIGB, brindándole los datos necesarios para la aleatorización. Inmediatamente el monitor elaboró un reporte al Departamento de Suministros solicitando la asignación del tratamiento al paciente en cuestión. El Departamento de Suministro elaboró la respuesta correspondiente al monitor y al investigador y se encargó de suministrar el producto a la Farmacia de la institución hospitalaria.
- d) el investigador entregó al paciente una tarjeta de cumplimiento del tratamiento para su correcto llenado por la enfermera que administró el producto en el área de salud (Anexo 3) y una carta dirigida al área de salud donde se comunicó al médico de familia y director del policlínico la participación del paciente en el ensayo clínico, así como las características del mismo (Anexo 4). La tarjeta de

cumplimiento del tratamiento fue recogida por el investigador al finalizar la etapa de tratamiento de cada paciente conjuntamente con los bulbos vacíos o no usados.

II.4.5. Terapia previa y concomitante.

Simultáneamente con la inyección de IFN alfa-2b o la aplicación de la criocirugía se administró de forma profiláctica una tableta de 500 mg de paracetamol. Esto se hizo con el objetivo de aliviar el dolor y/o los síntomas generales (síndrome pseudogripal) provocados por el interferón luego de las primeras dosis.

II.5. Variables de evaluación

Los pacientes fueron evaluados clínicamente, tal como se recomienda y procede habitualmente con esta enfermedad. La respuesta al tratamiento se definió por la comparación inicial - final de las lesiones. Los criterios de eficacia empleados se definieron de acuerdo con el número y tamaño de las lesiones.

Para la aplicación de estos criterios evaluativos de eficacia, no fue necesario ajuste estadístico de los datos. Tanto la variable principal, como las secundarias, tuvieron racionalidad, pues constituyen las variables habituales en el manejo diagnóstico y evolutivo de esta enfermedad.

II.5.1. Variable primaria o principal de eficacia.

- ❖ Se consideró como variable principal la ocurrencia de recidiva de las lesiones, consistente en la aparición de lesiones nuevas en el área tratada en los casos en que se había obtenido respuesta total.

II.5.2. Variables secundarias de eficacia.

- ❖ Respuesta a las 2 semanas de concluir el tratamiento. Se evaluó teniendo en cuenta el examen clínico del paciente, considerando las siguientes categorías:
 - **Respuesta total:** desaparición total de las lesiones.
 - **Respuesta parcial:** disminución del número de lesiones en más del 50 %;
 - **No-respuesta:** disminución del número de lesiones en menos del 50 % sin que aparezcan nuevas lesiones.
 - **Progresión:** aumento del número o tamaño de las lesiones.

En los casos que no se obtuvo respuesta total se tomó una biopsia para comprobar la existencia de la lesión por HPV mediante estudio histológico.

- ❖ Número de lesiones de cualquier tamaño: fueron contadas en la evaluación a las dos semanas de finalizado el tratamiento y documentadas con fotografía digital.
- ❖ Número de lesiones mayores de 5 mm: fueron contadas en la evaluación a las dos semanas de finalizado el tratamiento y documentadas con fotografía digital.
- ❖ Área ocupada por las lesiones: área medida en cm^2 de toda la extensión de piel ocupada por las lesiones. En caso de lesiones que ocupaban una sola área se midieron los diámetros horizontal y vertical más amplios. En el caso de lesiones que se agrupan en diferentes áreas, se calculó el área total mediante la sumatoria de todas las áreas, medidas según los diámetros mayores horizontal y vertical.
- ❖ Tiempo hasta la recidiva: se consideró el tiempo en meses desde que se obtuvo la respuesta total hasta la aparición de la primera lesión en el área tratada, durante el período de seguimiento de los pacientes.

II.5.3. Variables de control.

- Edad
- Sexo
- Color de la piel
- Tiempo de evolución de la enfermedad
- Número de lesiones de cualquier tamaño en el momento de la inclusión
- Número de lesiones mayores de 5 mm en el momento de la inclusión
- Tratamiento previo de las lesiones actuales
- Tratamiento previo de cualquier lesión sugestiva de HPV anterior a las lesiones actuales

Las evaluaciones de eficacia se realizaron mediante examen físico y medición clínica del tamaño y número de las lesiones en cada consulta programada en el protocolo. La evaluación del perfil de seguridad del tratamiento fue evaluada, mediante la aparición de eventos adversos.

II.6. Recolección y tratamiento de los datos.

II.6.1. Modelos de recolección de la información y descripción del contenido de cada uno.

Los modelos utilizados para registrar la información del ensayo clínico se describen en el cuadro siguiente.

| Modelo | Momento en que se llena | Información que recoge |
|---|--|---|
| Registro de pacientes incluidos y no incluidos. | Durante todo el período de inclusión de casos. | Lista de pacientes que acuden a la consulta y son candidatos a ser incluidos, número y fecha de inclusión, iniciales del paciente y en caso de no-inclusión, su causa. |
| Consentimiento informado. | Antes de incluir cada caso. | Explicación detallada de los procedimientos y características del ensayo para obtener el consentimiento escrito y firmado por el paciente. |
| Cuaderno de recogida de datos. | En cada consulta de protocolo | Resultados de pruebas diagnósticas, evolutivos de cada paciente, datos de eficacia del tratamiento, cumplimiento de la administración del producto y ocurrencia de reacciones adversas. |

El cuaderno de recogida de datos (CRD) de cada paciente estuvo compuesto por los modelos que se describen en el cuadro siguiente:

| Modelo | Momento en que se llena | Información que recoge |
|---|--|---|
| Modelo de inclusión. | Antes de iniciar el tratamiento (posterior a la obtención y firma del consentimiento informado) | Datos generales, criterios de inclusión y de exclusión |
| Modelo de evaluación y seguimiento. | En cada evaluación del paciente durante el tratamiento. El seguimiento se realizará a los tres, seis, nueve y doce meses de concluido el tratamiento | Resultados de pruebas diagnósticas, evolutivos de cada paciente, datos de administración del producto y de reacciones adversas |
| Modelo de cumplimiento del tratamiento. | Diario durante todo el tratamiento. | Cumplimiento del tratamiento por el paciente. Firmado y fechado por personal de enfermería. |
| Modelo de interrupción del tratamiento | Al momento de decidir la interrupción del tratamiento en el paciente | Fecha y causa de interrupción del tratamiento. |
| Modelo de eventos adversos | Durante todo el tratamiento. | Tipo, intensidad, duración y relación de causalidad de cada evento adverso. Actitud y resultado frente a cada evento adverso. Firmado y fechado por los investigadores. |

El llenado de los CRD estuvo a cargo de los investigadores responsables del ensayo, quienes fueron incorporando la información inmediatamente en la medida en que se fueron realizando las evaluaciones al paciente. El llenado correcto y el cumplimiento de

las Buenas Prácticas Clínicas en esta actividad fue motivo de revisión por parte de los monitores del ensayo.

En el centro promotor, los datos fueron introducidos por dos operadores en sendas bases de datos creadas al efecto y confeccionados de maneras separadas y dobles, de forma tal que permitieron su limpieza y manipulación para el análisis estadístico. La información en ambas bases fue comparada y los errores detectados se corrigieron para el ulterior análisis estadístico.

II.6.2. Procedimiento para conservar la información.

Toda la información del ensayo se archivó en el sitio de investigación, incluyendo las historias clínicas, CRD y documentos electrónicos o impresos relacionados con el ensayo. Esta información permaneció almacenada en archivos metálicos con llave, permitiendo el acceso a la misma solamente a los investigadores, monitores y comité de dirección del ensayo.

Durante la ejecución del ensayo, la información relacionada con los pacientes fue almacenada por duplicado. Una vez que se entregó la misma al centro promotor, quedó conservada una copia en el archivo del sitio clínico.

Los CRD de los pacientes quedaron conservados impresos y en soporte físico (CD-R), en el archivo pasivo de la división de ensayos clínicos del CIGB. Esta conservación se extenderá por al menos 15 años después de concluida la investigación.

II.7. Aseguramiento de la calidad.

Con los procedimientos descritos en el protocolo y ejecutados durante el ensayo, así como con los existentes en las instituciones hospitalarias, se consideró suficiente para

garantizar la calidad en la evaluación de la eficacia, por lo que no fue necesaria la creación de un comité de expertos.

Durante las etapas de planificación, organización, elaboración y ejecución del ensayo, el centro promotor realizó las visita de contacto inicial, las visitas de evaluación y aprobación de la institución hospitalaria, la visitas de inicio, las visitas de monitoreo y la visita de terminación del ensayo clínico. En cada una de estas actividades se veló por el cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas y todo lo estipulado en el protocolo. Las acciones desarrolladas en cada ocasión sirvieron también para discutir cualquier duda o inquietud con el investigador.

II.8. Métodos estadísticos utilizados y tamaño de muestra.

II.8.1. Plan de análisis estadístico.

Individualmente para las variables del ensayo, lo realizado fue:

II.8.1.1. Variable principal:

Con la variable principal se realizaron análisis exploratorios con el objetivo de conocer su comportamiento global y valorar el cumplimiento de las hipótesis necesarias para la aplicación de los test estadísticos en la etapa de evaluación.

Se construyó la tabla de clasificación cruzada correspondiente con la prueba de independencia asociada (prueba chi-cuadrado o prueba exacta de Fisher, dependiendo del cumplimiento del supuesto sobre las frecuencias esperadas de la tabla).

Se estimaron los intervalos de confianza al 95 % para la proporción de individuos con recidiva en ambos grupos de tratamiento y se estimaron la Razón Odds como medida de asociación entre los grupos, con el intervalo de confianza al 95 % asociado.

II.8.1.2. Variables secundarias

Se construyó la tabla de clasificación cruzada correspondiente con la prueba de independencia asociada (prueba chi-cuadrado o prueba exacta de Fisher, dependiendo del cumplimiento del supuesto sobre las frecuencias esperadas de la tabla) para las variables cualitativas.

Se estimaron las medidas de tendencia central y dispersión. Se realizaron las comparaciones correspondientes entre los grupos, para las variables cuantitativas y se estimaron las curvas de Kaplan-Meier y se compararon las mismas usando la prueba log-rank para las variables de tiempo.

II.8.1.3. Variables de seguridad

Se estimaron las distribuciones de frecuencias y el intervalo de confianza al 95 % para la proporción de pacientes con cada uno de los eventos adversos que se presenten, así como para la variable de inmunogenicidad. Con cada evento adverso se estimaron las distribuciones de frecuencia de los parámetros que lo caracterizan (intensidad, relación de causalidad, desenlace).

II.8.1.4. Variables de control

Se caracterizaron las poblaciones de ambos grupos de tratamiento mediante estimaciones de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas (por ejemplo: edad, número de lesiones, entre otras) y estimación de las proporciones correspondientes para las variables cualitativas (por ejemplo: color de la piel, sexo, entre otras). No se verificó la homogeneidad entre los grupos de tratamiento mediante pruebas estadísticas pues se consideró que, al ser el estudio aleatorizado, cualquier diferencia que apareciese era debida al azar, siguiendo las recomendaciones internacionales expresadas en las guías CONSORT 2010²⁷¹.

Con todas las variables de control, se ajustaron un modelo de regresión logística tomando como variable dependiente la respuesta al tratamiento dado por los criterios correspondientes a las variables principales de evaluación, para estudiar la influencia de las mismas en la respuesta al tratamiento.

Se aplicaron los siguientes programas estadísticos:

SPSS (versión 15.0 for Windows): Estimación de las distribuciones de frecuencias, porcentajes, medidas de tendencia central y dispersión, análisis de Regresión Logística, análisis del supuesto de normalidad (Shapiro Wilk y Kolmogorov-Smírnov), análisis pareados (prueba t de Student pareada o prueba de Wilcoxon), obtención de gráficos mediante la estimación de curvas de regresión lineal.

EPIDAT 3.1: Cálculo de la probabilidad a posteriori, Intervalos de Confianza al 95 % para la comparación de medias o medianas, Factores de Bayes y análisis de Riesgo-Beneficio.

II.8.2. Determinación del tamaño de la muestra. Número de sujetos planeado.

El cálculo se realizó por el software “2N” desarrollado en la Universidad de Arkansas para Ciencias Médicas utilizando la variable “Recidivas”, con una proporción de 0,4 para el tratamiento tradicional con criocirugía solamente y una reducción del 20 % en el grupo con IFN. Con un error alfa de 0,05, una potencia del 80 % y cubrir una pérdida del 5 % de los pacientes es necesario contar con 170 sujetos en total, 85 para cada grupo de tratamiento.

CAPÍTULO III:

RESULTADOS

III. RESULTADOS

III.1. Disposición de los sujetos.

En la **figura 2** se muestra el diagrama de flujo del estudio. Se evaluaron 273 pacientes con el diagnóstico de condiloma acuminado. Se incluyeron 170 (62,7 %) al ensayo, fueron aleatorizados 85 (50 %) a recibir el IFN alfa-2b recombinante y criocirugía, mientras que 85 (50 %) a criocirugía solamente.

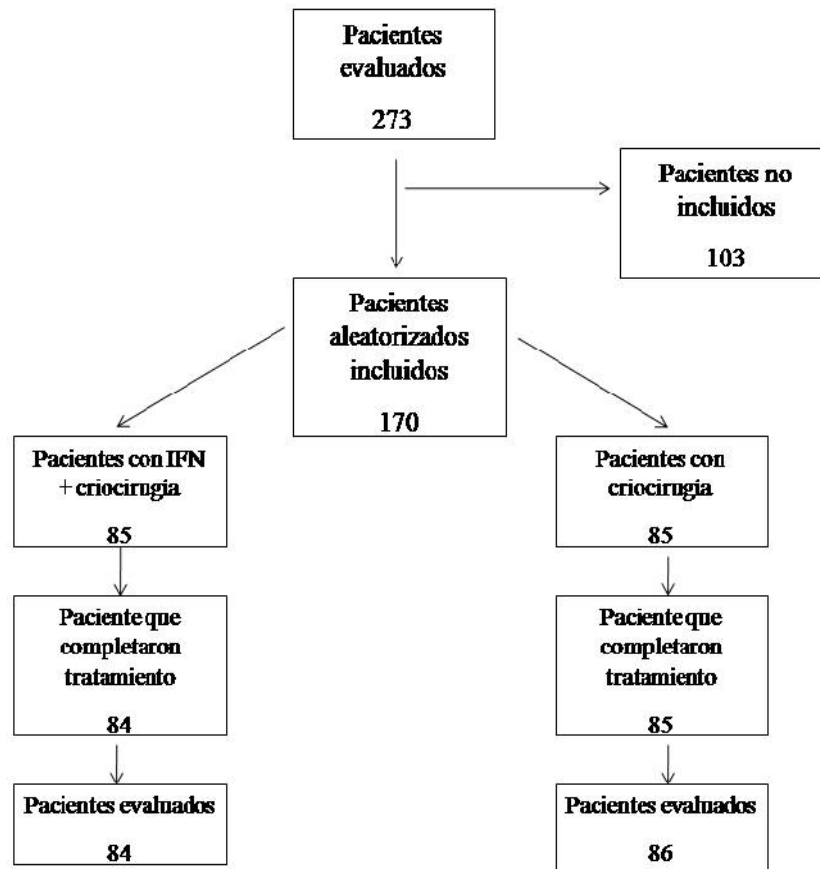


Figura 2. Diagrama de flujo del estudio.

Un paciente del grupo IFN alfa + criocirugía declinó voluntariamente antes de iniciar el tratamiento. Los restantes 169 completaron sin contratiempos las seis semanas establecidas en el esquema terapéutico del ensayo. El paciente que no inició el tratamiento con IFN + criocirugía llevó tratamiento con criocirugía solamente. Todos

los pacientes fueron evaluados para respuesta y todos los que alcanzaron respuesta total fueron evaluados para recidivas.

Hubo 103 pacientes con criterios de exclusión, las cuales se detallan en el cuadro debajo.

Tabla 1. Causas de exclusión.

| Causa | Cantidad | % |
|--|-----------------|----------|
| Lesiones condilomatosas en genitales internos | 41 | 39,8 |
| Lesión única pequeña | 40 | 38,8 |
| Serología positiva | 7 | 6,8 |
| No voluntariedad | 4 | 3,9 |
| Edad superior a 60 años | 4 | 3,9 |
| Otra enfermedad crónica | 4 | 3,9 |
| Trasplantado renal bajo tratamiento inmunosupresor | 1 | 1 |
| Miastenia Gravis | 1 | 1 |
| Retrasado mental | 1 | 1 |
| Total | 103 | 100 |

III.2. EVALUACIÓN DE LA EFICACIA.

III.2.1. Conjunto de datos analizados.

Los 170 pacientes incluidos fueron considerados para el análisis de los resultados demográficos, de eficacia y de seguridad.

III.2.2. Características demográficas y de base.

El comportamiento de las variables demográficas y de base de los pacientes se puede observar en la **Tabla 2**. El género masculino resultó en mayor proporción (85,9 %) en el estudio, con distribución entre ambos grupos 84,5 % y 87,2 %, respectivamente. Hubo 97 pacientes de piel blanca, que fue mayoría de manera global (57,1 %), en el grupo de IFN + criocirugía (51,2 %) y en el grupo de criocirugía (62,8 %). La edad de los

pacientes mostró una mediana global de 23,5 años con valores entre 18 y 60 años, donde hubo 121 (71,2 %) menores de 30 años.

Tabla 2. Características demográficas y de base.

| Variables | | IFN + Criocirugía | Criocirugía | Total |
|------------------|---------------------|----------------------|-------------|------------|
| N | | 84 (49,4) | 86 (50,6) | 170 (100) |
| Género | Masculino | 71 (84,5) | 75 (87,2) | 146 (85,9) |
| | Femenino | 13 (15,5) | 11 (12,8) | 24 (14,1) |
| Color de la piel | Blanca | 43 (51,2) | 54 (62,8) | 97 (57,1) |
| | Negra | 13 (15,5) | 19 (22,1) | 32 (18,8) |
| | Mestiza | 28 (33,3) | 13 (15,1) | 41 (24,1) |
| Edad | Media ± DS | 26,1 ± 8,9 | 28,0 ± 10,9 | 27,1 ± 9,9 |
| | <i>Mediana</i> ± RQ | 23 ± 12 | 24 ± 15 | 23,5 ± 12 |
| | (Mínimo; Máximo) | (18; 52) | (18; 60) | (18; 60) |

Las características iniciales de las lesiones están descritas en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Características iniciales de las lesiones.

| Variables | | IFN Criocirugía | + Criocirugía | Total |
|-------------------------------|---------------------|--------------------|------------------|-------------|
| N | | 84 (49,4) | 86 (50,6) | 170 (100) |
| Número de lesiones | 10 | 45 (53,6) | 50 (58,1) | 95 (55,9) |
| | > 10 | 39 (46,4) | 36 (41,9) | 75 (44,1) |
| | <i>Mediana</i> ± RQ | 10 ± 14 | 9 ± 13 | 10 ± 14 |
| | (Mínimo; Máximo) | (5; 30) | (6; 28) | (5; 30) |
| Número de lesiones > 5mm | 10 | 55 (65,5) | 52 (60,5) | 107 (62,9) |
| | > 10 | 29 (34,8) | 34 (39,5) | 63 (37,1) |
| | <i>Mediana</i> ± RQ | 1 ± 3 | 1 ± 3 | 1 ± 3 |
| | (Mínimo; Máximo) | (0; 30) | (0; 17) | (0; 30) |
| Área total (cm ²) | 20 | 40 (47,6) | 49 (57,0) | 89 (52,4) |
| | > 20 | 44 (52,4) | 37 (43,0) | 81 (47,6) |
| | <i>Mediana</i> ± RQ | 22 ± 26 | 18 ± 33 | 19,5 ± 30 |
| | (Mínimo; Máximo) | (2; 204) | (1; 224) | (1; 224) |
| Tiempo de evolución (semanas) | 26 | 55 (65,5) | 47 (54,7) | 102 (60,0) |
| | > 26 | 29 (34,5) | 39 (45,3) | 68 (40,0) |
| | <i>Mediana</i> ± RQ | 21,4 ± 39,8 | 25,7 ± 43,6 | 25,7 ± 43,6 |
| | (Mínimo; Máximo) | (1; 782) | (1; 365) | (1; 782) |

| Variables | | IFN Criocirugía ⁺ | Criocirugía | Total |
|-------------------------------------|---|---------------------------------|------------------|------------------|
| N | | 84 (49,4) | 86 (50,6) | 170 (100) |
| Tratamientos recibidos | Sin tratamiento | 42 (50,0) | 54 (62,8) | 96 (56,5) |
| | Criocirugía | 15 (17,9) | 10 (11,6) | 25 (14,7) |
| | Electro fulguración | 6 (7,1) | 3 (3,5) | 9 (5,3) |
| | Sustancias cáusticas* | 21 (25,0) | 19 (22,1) | 40 (23,5) |
| | * Podofilina, ácido tricloroacético, nitrato de plata | | | |
| Localización de las lesiones | Genitales externos | 60 (88,1) | 60 (69,8) | 134 (78,8) |
| | Pliegues inguinales | 10 (11,9) | 15 (17,4) | 25 (14,7) |
| | Región perianal | 4 (4,8) | 13 (15,1) | 17 (10,0) |
| | Raíz de muslo | 4 (4,8) | 3 (3,5) | 7 (4,1) |
| | Otra** | 22 (26,2) | 24 (27,9) | 46 (27,0) |
| | ** glúteos, pubis | | | |

Las lesiones se localizaron principalmente en los genitales externos (78,8 %). La mediana global fue 10 lesiones por individuo. En cambio, el número de lesiones > 5 mm de tamaño tuvo una mediana global idéntica en ambos grupos. La mediana del área total inicial de las lesiones osciló alrededor de los 20 cm², con variación de 1 hasta 224 cm². La mediana del tiempo de evolución de las lesiones fue ligeramente menor en el grupo IFN + criocirugía (21,4 semanas) pero con un rango mayor (1; 782). Para la eliminación de las verrugas genitales anteriores, la criocirugía fue el procedimiento más empleado (14,7 %), aunque el 56,5 % declaró no haber empleado ningún tratamiento.

III.2.3. Cumplimiento del tratamiento.

Excepto un paciente que abandonó voluntariamente el ensayo sin iniciar el tratamiento con IFN alfa + criocirugía, los 84 restantes cumplieron las seis semanas de aplicación de las alternativas terapéuticas previstas en el protocolo. El paciente que no inició el tratamiento con IFN + criocirugía llevó tratamiento con criocirugía solamente.

III.2.4. Resultados de eficacia.

III.2.4.1. Respuesta al tratamiento.

Las evaluaciones intermedias de la respuesta (**Tabla 4**) fueron realizadas al concluir la segunda, cuarta y sexta semanas de tratamiento.

Tabla 4. Variables de respuesta en los diferentes tiempos de evaluación. (antes de la evaluación final).

| Variables | | IFN + Criocirugía | Criocirugía | Total | |
|-------------------------------|----------|---------------------|-------------|-------------|------------|
| N | | 84 (49.4) | 86 (50.6) | 170 (100.0) | |
| Número de lesiones | Semana 2 | <i>Mediana</i> ± RQ | 3 ± 5 | 3 ± 8 | 3 ± 7 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 30) | (0; 28) | (0; 30) |
| | Semana 4 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0 ± 3 | 2 ± 4 | 1 ± 3 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 30) | (0; 15) | (0; 30) |
| | Semana 6 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0 ± 1 | 0 ± 2 | 0 ± 2 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 20) | (0; 12) | (0; 20) |
| Número de lesiones > 5mm | Semana 2 | <i>Media</i> ± DS | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 30) | (0; 6) | (0; 30) |
| | Semana 4 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 2) | (0; 5) | (0; 5) |
| | Semana 6 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | | (Mínimo; Máximo) | | (0; 3) | (0; 3) |
| Área total (cm ²) | Semana 2 | <i>Mediana</i> ± RQ | 6 ± 10 | 8 ± 20 | 8 ± 15 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 90) | (0; 100) | (0; 100) |
| | Semana 4 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0 ± 5 | 2 ± 9 | 0.5 ± 8 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 30) | (0; 80) | (0; 80) |
| | Semana 6 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0 ± 1 | 0 ± 4 | 0 ± 2 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0; 20) | (0; 70) | (0; 70) |
| Diámetro horizontal (cm) | Semana 2 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0.3 ± 0.2 | 0.3 ± 0.2 | 0.3 ± 0.2 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0.0; 2.0) | (0.0; 3.0) | (0.0; 3.0) |
| | Semana 4 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0.0 ± 0.2 | 0.2 ± 0.3 | 0.2 ± 0.2 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0.0; 1.0) | (0.0; 2.0) | (0.0; 2.0) |
| | Semana 6 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0.0 ± 0.2 | 0.0 ± 0.2 | 0.0 ± 0.2 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0.0; 4.0) | (0.0; 0.6) | (0.0; 4.0) |
| Diámetro vertical (cm) | Semana 2 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0.2 ± 0.0 | 0.2 ± 0.0 | 0.2 ± 0.0 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0.0; 1.0) | (0.0; 1.0) | (0.0; 1.0) |
| | Semana 4 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0.0 ± 0.2 | 0.2 ± 0.2 | 0.2 ± 0.2 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0.0; 0.8) | (0.0; 1.0) | (0.0; 1.0) |
| | Semana 6 | <i>Mediana</i> ± RQ | 0.0 ± 0.2 | 0.0 ± 0.2 | 0.0 ± 0.2 |
| | | (Mínimo; Máximo) | (0.0; 4.0) | (0.0; 0.5) | (0.0; 4.0) |

Se observa que la respuesta ocurre más rápido con el IFN alfa y la criocirugía, como lo confirman la disminución en la mediana del número y tamaño de las lesiones. La

evaluación final de eficacia se realizó en la semana 8. Estos resultados, correspondientes a dos semanas posteriores a la conclusión del tratamiento, se muestran en la **Tabla 5**. Para el IFN alfa asociado a la criocirugía se obtuvo 92,9 % de respuesta completa, mientras que la aplicación únicamente de criocirugía condujo a 68,6 %, con una diferencia de 24,3 %, clínicamente relevante ($p < 0,001$).

Tabla 5. Variables de respuesta al final del tratamiento (semana 8).

| Variables | | IFN + criocirugía | Criocirugía | Total |
|--|---------------------|-------------------|------------------|------------------|
| N | | 84 (49,4) | 86 (50,6) | 170 (100) |
| Evaluación de la respuesta p < 0,001 | Total | 78 (92,9) | 59 (68,6) | 137 (80,6) |
| | Parcial | 5 (6,0) | 27 (31,4) | 32 (18,8) |
| | No respuesta | 1 (1,1) | 0 | 1 (0,6) |
| Número de lesiones | N | 6 | 27 | 33 |
| | <i>Mediana</i> ± RQ | 4 ± 7 | 2 ± 2 | 2 ± 3 |
| | (Mínimo; Máximo) | (2; 10) | (1; 6) | (1; 10) |

El análisis univariado entre la variable de respuesta completa y las características demográficas de los pacientes se muestra en la **Tabla 6**. No se encontraron relaciones de dependencia. Sin embargo, al analizar la variable de respuesta completa con las características iniciales de las lesiones, se encontró una fuerte relación de dependencia en las variables: número de lesiones (≤ 10 lesiones) ($p < 0,001$), número de lesiones > 5 mm (≤ 1 lesiones) ($p = 0,007$) y área total (≤ 20 cm²) ($p = 0,040$). El análisis multivariado con las tres variables en un modelo de regresión logística, mostró que la única fuertemente relacionada con la respuesta completa es tener ≤ 10 lesiones iniciales (OR: 4,50; IC 95 %: 1,94 – 10,42). A los efectos clínicos, es 4 veces más probable que se obtenga respuesta completa en pacientes que cumplan esta condición.

Tabla 6. Análisis univariado entre la variable respuesta total y las variables iniciales de las lesiones.

| Variables | | Respuesta total | | P (χ^2) |
|-------------------------------|-------|------------------|-----------------|----------------|
| | | Si 137 (80,6) | No 33 (19,4) | |
| Número de lesiones | 10 | 86 (90,5) | 9 (9,5) | < 0,001 |
| | > 10 | 51 (68,0) | 24 (32,0) | |
| Número de lesiones > 5mm | 10 | 93 (86,9) | 14 (13,1) | 0,007 |
| | > 10 | 44 (69,8) | 19 (30,2) | |
| Área total (cm ²) | 20 | 77 (86,5) | 12 (13,5) | 0,040 |
| | > 20 | 60 (74,1) | 21 (25,9) | |
| Diámetro horizontal (cm) | 0,6 | 97 (84,3) | 18 (15,7) | 0,073 |
| | > 0,6 | 40 (72,7) | 15 (27,3) | |
| Diámetro vertical (cm) | 0,4 | 101 (82,1) | 22 (17,9) | 0,416 |
| | > 0,4 | 36 (76,6) | 11 (23,4) | |
| Tiempo de evolución (semanas) | 26 | 85 (83,3) | 17 (16,7) | 0,268 |
| | > 26 | 52 (76,5) | 16 (23,5) | |

III.2.4.2. Recidivas

En la **Tabla 7** se muestran los resultados de las evaluaciones realizadas en el seguimiento del tratamiento, a la postre la variable principal del ensayo.

Tabla 7. Variable principal de eficacia (recidivas) al año de seguimiento.

| Grupo | Pacientes con recidivas | Pacientes sin recidivas | Total | Porcentaje de recidivas |
|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|-------------------------|
| Interferón + criocirugía | 2 | 76 | 86 | 2,6 % |
| Criocirugía | 49 | 10 | 59 | 83,1 % |
| Total | 51 | 86 | 137 | 37,2 % |

Se puede apreciar que solo 2 (2,6 %) de los 78 pacientes respondedores completos al tratamiento con IFN + criocirugía sufrieron recidivas de las lesiones condilomatosas. En el grupo tratado solamente con criocirugía, recidivaron 49/59 (83,1 %) pacientes. Esta diferencia es significativa, tanto desde el punto de vista estadístico ($p < 0,001$) como clínico.

Tabla 8. Índices de eficacia del tratamiento con IFN + criocirugía desde el punto de vista de la Medicina basada en la Evidencia.

| Indicadores de relevancia clínica | Valor | IC (95 %) |
|---|--------------|------------------|
| Riesgo relativo de tener recidiva (IFN + criocirugía vs. criocirugía) | 0,03 | 0,01 - 0,12 |
| Reducción absoluta de riesgo de recidiva | 80,5 % | 70,3 % - 90,7 % |
| Reducción relativa de riesgo de recidiva | 96,9 % | 87,8 % - 99,2 % |
| Número de pacientes necesario a tratar para evitar una recidiva | 2 | 1 - 2 |

Esta reducción absoluta de 80,5 % y relativa del 96,9 % representa un alto impacto desde el punto de vista de la medicina basada en la evidencia.

En términos de tiempo, el intervalo libre de enfermedad a los diferentes tiempos mostrado en la **Tabla 9** concluye diferencias entre los dos grupos de tratamiento en términos de magnitud, dada por la cantidad de pacientes que logran permanecer por mayor espacio de tiempo sin lesiones, se evidencia la superioridad de la combinación de IFN alfa + criocirugía en función del control a largo plazo de las recidivas de las lesiones características de la enfermedad.

Tabla 9. Variables de respuesta en el seguimiento.

| Variables | | IFN + Criocirugía | Criocirugía | Total |
|---|--------|------------------------------|--------------------|------------------|
| N | | 78 (56,9) | 59 (43,1) | 137 (100) |
| Nuevas lesiones P < 0,001 | Mes 3 | 1 (1,3) | 34 (57,6) | 35 (25,5) |
| | Mes 6 | 0 | 43 (72,9) | 43 (31,4) |
| | Mes 9 | 0 | 45 (76,3) | 45 (32,8) |
| | Mes 12 | 2 (2,6) | 49 (83,1) | 51 (37,2) |
| Pacientes libres de enfermedad a los diferentes tiempos p < 0,001 | Mes 3 | 77 (98,7) | 25 (42,4) | 102 (74,4) |
| | Mes 6 | 77 (98,7) | 16 (27,1) | 93 (67,8) |
| | Mes 9 | 77 (98,7) | 14 (23,7) | 91 (66,4) |
| | Mes 12 | 76 (97,4) | 10 (16,9) | 86 (62,7) |

La diferencia entre los grupos es notable para el porcentaje de recidivas desde los primeros 3 meses post-tratamiento, momento en el cual se detectaron lesiones en el 57,6 % de los pacientes que las habían eliminado completamente con la criocirugía **Tabla 9**.

Desde el punto de vista de eficacia clínica, se puede afirmar que el 97,4 % (76/84) de los pacientes que se tratan con la combinación de IFN alfa + criocirugía consiguieron un control a largo plazo de la enfermedad de manera clínicamente relevante comparado con el empleo solo de criocirugía.

III.2.4.3. Variables secundarias de respuesta.

Según muestra la **Tabla 4**, el número de lesiones en la semana 2 de tratamiento tuvo una mediana de 3 lesiones en ambos grupos, con variabilidad (0; 30) para el IFN + criocirugía y (0; 28) para la criocirugía. La mediana para el primer grupo se redujo a cero en la semana 4, mientras que la del segundo necesitó 6 semanas para lograrlo.

El número de lesiones mayores de 5 mm en las semanas 2, 4 y 6 de tratamiento tuvo una mediana de 0 y a pesar de que en la semana 2 el valor máximo de lesiones en el grupo IFN + criocirugía fue de 30 lesiones ya en la semana 4 fue de 2 lesiones y en la semana 6 no hubo lesiones con esta característica.

La mediana del área total en la semana 2 de tratamiento fue de 6 cm² en el grupo IFN + criocirugía (variabilidad 0; 90) y en el grupo de criocirugía la mediana fue de 8 cm² con un máximo de área de 100 cm². En la semana 6 la mediana del área en ambos grupos fue de 0 y el valor máximo mayor fue para el grupo criocirugía con 70 cm². Los diámetros horizontales y verticales en el grupo IFN + criocirugía se redujeron a cero a partir de la semana 4, mientras que se requirió 6 semanas para lograrlo con exclusivamente con la criocirugía.

Desde el punto de vista estadístico se cumplimentó lo planificado. No se consideró necesaria la aplicación de técnicas de imputación para completar valores perdidos (no disponibles) con ninguna variable. Tampoco se detectaron valores extremos que hayan

sido necesarios excluir de los análisis correspondientes. No fue necesario incluir ningún análisis fuera de lo previsto en el protocolo.

III. 2.5. Evaluación de la seguridad.

III.2.5.1. Extensión de la exposición.

Para la evaluación y caracterización del perfil de seguridad del ensayo, fueron considerados los 170 pacientes con evidencias de haber recibido como mínimo una administración de cualquiera de las dos intervenciones terapéuticas empleadas en el ensayo.

Cada paciente tratado con IFN alfa estuvo expuesto durante 6 semanas consecutivas con 3 administraciones de 3 millones de UI cada una, para un total de 18 administraciones y de 54 millones de UI. La exposición a la criocirugía fue cada 15 días. Todos los pacientes tuvieron 48 semanas de observación post-tratamiento.

III.2.5.2. Eventos adversos.

Se consideró como evento adverso cualquier acontecimiento médico desfavorable que se presentó en el sujeto bajo investigación clínica al que se le administró el producto farmacéutico, el cual no tuvo que tener necesariamente una relación de causalidad con ese tratamiento. Pudo ser cualquier signo desfavorable involuntario (incluyendo un hallazgo de laboratorio anormal), síntoma o enfermedad temporalmente asociado con el uso de los medicamentos ensayados, pudiendo estar relacionado o no con los mismos.

Todos los pacientes incluidos en el estudio presentaron al menos un evento adverso durante el período de tratamiento (**Tabla 10**).

Tabla 10. Frecuencia de individuos con eventos adversos.

| Eventos adversos (EA) | IFN + Criocirugía | Criocirugía | Total |
|-------------------------------------|-------------------|-----------------|------------------|
| Pacientes con al menos un EA | 84 (100) | 86 (100) | 170 (100) |
| Ardor local | 82 (97,6) | 86 (100) | 168 (98,8) |
| Fiebre | 60 (71,4) | -- | 60 (35,3) |
| Cefalea | 29 (34,5) | 1 (1,2) | 30 (17,6) |
| Mialgias | 22 (26,2) | -- | 22 (12,9) |
| Escalofríos | 11 (13,1) | -- | 11 (6,5) |
| Astenia | 7 (8,3) | -- | 7 (4,1) |
| Malestar general | 5 (6,0) | -- | 5 (2,9) |
| Artralgia | 4 (4,8) | -- | 4 (2,3) |
| Vómitos | 2 (2,4) | -- | 2 (1,2) |
| Mareos | 2 (2,4) | -- | 2 (1,2) |
| Diarreas | 1 (1,2) | -- | 1 (0,6) |
| Anemia | 1 (1,2) | -- | 1 (0,6) |
| Nauseas | 1 (1,2) | -- | 1 (0,6) |

Trece tipos de eventos adversos se asociaron al uso combinado de IFN alfa + criocirugía, mientras que solo dos se reportaron luego del uso exclusivo de criocirugía.

De manera global hubo cuatro eventos que afectaron más del 10 % de los pacientes, fueron ardor local (98,8 %) por criocirugía y fiebre (35,3 %), cefalea (17,6 %), escalofríos (13,1 %) y mialgias (12,9 %) directamente asociados al uso del IFN (síndrome seudogripal). Es de señalar que en el grupo de criocirugía todos los pacientes reportaron ardor asociado a esta intervención y un solo paciente otro tipo de evento que fue cefalea.

La **Tablas 11 y 12** muestran la caracterización general de los eventos adversos. Se presentaron 763 eventos, 485 (63,6 %) en el grupo IFN + criocirugía y 278 (36,4 %) en el grupo criocirugía.

Con intensidad leve hubo 520 (68,1 %) eventos y con intensidad moderada 243 (31,9 %) eventos. El aporte a la intensidad de los eventos se correspondió con la naturaleza de la intervención recibida, de forma que predominó el ardor leve secundario a la criocirugía y prácticamente la mitad de los asociados al IFN alfa ocurrieron con intensidad moderada. No hubo eventos adversos graves.

Tabla 11. Frecuencia e intensidad de los eventos adversos.

| Tipo de eventos adversos | | IFN + Criocirugía | Criocirugía | Total |
|------------------------------------|----------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Total de eventos adversos | | 485 (63,6) | 278 (36,4) | 763 (100) |
| Ardor local por criocirugía | N | 206 (42,5) | 277 (99,6) | 483 (63,3) |
| | Ligero | 205 (99,5) | 277 (100) | 482 (9,8) |
| | Moderado | 1 (0,5) | -- | 1 (0,2) |
| Fiebre | N | 100 (20,6) | -- | 100 (13,1) |
| | Ligero | 4 (4,0) | -- | 4 (4,0) |
| | Moderado | 96 (96,0) | -- | 96 (96,0) |
| Cefalea | N | 77 (15,9) | 1 (0,3) | 78 (10,2) |
| | Ligero | 10 (13,0) | -- | 10 (12,8) |
| | Moderado | 67 (87,0) | 1 (100) | 68 (87,2) |
| Mialgias | N | 43 (8,9) | -- | 43 (5,6) |
| | Ligero | 4 (9,3) | -- | 4 (9,3) |
| | Moderado | 39 (90,7) | -- | 39 (90,7) |
| Escalofríos | N | 14 (2,9) | -- | 14 (1,8) |
| | Ligero | 2 (14,3) | -- | 2 (14,3) |
| | Moderado | 12 (85,7) | -- | 12 (85,7) |
| Astenia | N | 18 (3,7) | -- | 18 (2,3) |
| | Ligero | 11 (61,1) | -- | 11 (61,1) |
| | Moderado | 7 (38,9) | -- | 7 (38,9) |
| Malestar general | N | 6 (1,2) | -- | 6 (0,8) |
| | Ligero | 2 (33,3) | -- | 2 (33,3) |
| | Moderado | 4 (66,7) | -- | 4 (66,7) |
| Artralgia | N | 8 (1,6) | -- | 8 (1,0) |
| | Moderado | 8 (100) | -- | 8 (100) |
| Vómitos | N | 3 (0,6) | -- | 3 (0,4) |
| | Moderado | 3 (100) | -- | 3 (100) |
| Mareos | N | 5 (1,0) | -- | 5 (0,7) |
| | Ligero | 2 (40,0) | -- | 2 (40,0) |
| | Moderado | 3 (60,0) | -- | 3 (60,0) |
| Diarreas | N | 2 (0,4) | -- | 2 (0,3) |
| | Moderado | 2 (100) | -- | 2 (100) |
| Anemia | N | 2 (0,4) | -- | 2 (0,3) |
| | Ligero | 2 (100) | -- | 2 (100) |
| Nauseas | N | 1 (0,2) | -- | 1 (0,1) |
| | Ligero | 1 (100) | -- | 1 (100) |
| Total | N | 485 (63,6) | 278 (36,4) | 763 (100) |
| | Ligero | 243 (50,1) | 277 (99,6) | 520 (68,1) |
| | Moderado | 242 (49,9) | 1 (0,4) | 243 (31,9) |

El tiempo de duración de los eventos varió desde 30 minutos hasta 1 hora aproximadamente, excepto en el ardor por la criocirugía que en su mayoría desapareció a los 10 minutos de realizado el procedimiento y el síndrome pseudogripal que desapareció después de 3 a 4 horas del uso de antipiréticos (paracetamol o dipirona).

Todos los eventos reportados fueron de causalidad muy probable, tuvieron una actitud respecto al fármaco sin cambios y fueron completamente resueltos.

Tabla 12. Caracterización de los eventos adversos.

| Tipo de Eventos Adversos | | IFN + Criocirugía | Criocirugía | Total |
|------------------------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------|------------------|
| Total de eventos reportados | | 485 (63,6) | 278 (36,4) | 763 (100) |
| Intensidad | Ligero | 243 (50,1) | 277 (99,6) | 520 (68,1) |
| | Moderado | 242 (49,9) | 1 (0,4) | 243 (31,9) |
| Relación de causalidad | Muy probable al IFN | 403 (83,1) | - | 403 (100) |
| | Muy probable a la criocirugía | 82 (16,9) | 278 (100) | 360 (100) |
| Actitud respecto al fármaco | Sin cambios | 485 (100) | 278 (100) | 763 (100) |
| Resultado | Completamente resuelto | 485 (100) | 278 (100) | 763 (100) |

En este estudio no se produjo ningún evento adverso grave, no hubo necesidad de modificaciones de dosis o frecuencia de administración de los medicamentos, tampoco fue necesario interrumpir temporal ni definitivamente el tratamiento. Ningún paciente requirió atención médica adicional ni estuvo en peligro o riesgo de algún tipo. La mayoría de los eventos ocurrieron con intensidad leve o moderada y sin provocar ninguna consecuencia sobre el individuo.

Los principales eventos adversos reportados fueron los comprendidos dentro del denominado síndrome pseudogripal, coincidiendo con lo descrito en cualquier estudio con interferón alfa.

Por todo lo expuesto se considera que el tratamiento fue bien tolerado y que se obtuvo un perfil de seguridad adecuado para el producto en estudio.

CAPÍTULO IV:

DISCUSIÓN

IV. DISCUSIÓN.

Diferentes autores han reportado desiguales porcentajes de recidivas con las disímiles modalidades terapéuticas empleadas en el condiloma acuminado: el podofilox (gel o solución al 0,5 %) entre 38 y 65 %^{83, 84}, la resina de podofilina (solución al 20 a 25 %) entre 23 y 65 %^{90, 91}, el 5-fluorouracilo (crema al 2 %) entre 25 y 65 %⁹², el ácido bicloroacético y el ácido tricloroacético (solución al 80 a 90 %) entre 42 y 70 %^{88, 89} y el imiquimod (crema al 0,5 %) entre 13 y 19 %^{85, 87}.

Hasta la fecha se considera que ninguna de las alternativas terapéuticas utilizadas logra una cura total o la eliminación de las recurrencias, y la principal virtud de los diferentes productos empleados es extender lo más posible el intervalo libre de lesiones en el individuo.

Los resultados mostrados en este informe son totalmente consistentes con los conocimientos reportados hasta la fecha, respecto a la respuesta de la enfermedad durante el tratamiento con la criocirugía o con el IFN alfa.

La criocirugía ha demostrado en múltiples ensayos su alta capacidad citodestructora. Entre ellos se destacan 3 estudios cuyos resultados fueron los siguientes: 91 %, 100 % y 30 %, respectivamente^{194, 195, 199}. Otros autores la han comparado con otras modalidades tópicas en el tratamiento del condiloma acuminado, por ejemplo: 2 estudios, criocirugía contra ácido tricloroacético al 95 % con respuesta variable (86 y 50 % contra 70 y 10 %, respectivamente)^{88, 196}; 1 estudio, criocirugía contra resina de podofilina al 25 % con 30 y 20 % de repuesta, respectivamente⁹⁰; 1 estudio, criocirugía contra radiocirugía con 70 y 40 % de repuesta, respectivamente¹⁰⁴; 1 estudio, criocirugía contra 5-fluorouracilo en crema al 5 % con 70 y 35 % de repuesta, respectivamente⁹². El porcentaje de recidiva osciló entre 10 y 65 %^{88, 90, 92, 104, 106, 199}. En el presente ensayo clínico el grupo que

recibió criocirugía solamente mostró 68,6 % de los pacientes con respuesta total asociado a porcentaje de recidiva de 83,1 %, resultado este similar a los encontrados en estudios anteriores^{88, 90, 92, 104, 199} y el grupo que recibió la combinación de la criocirugía y el interferón mostró 92,9 % de los pacientes con respuesta total asociado a porcentaje de recidiva de 2,6 %, resultado superior al provocado por la criocirugía por sí sola, pues se le adicionó el efecto del interferón, potente agente antiviral e inmunomodulador.

Los elevados porcentajes de recidivas con la criocirugía se deben a que el nitrógeno líquido no estimula al sistema inmunológico ni destruye al VPH. Su acción se ejerce sobre la célula huésped infectada, induciendo los fenómenos de inflamación, vasoconstricción y trombosis, responsables de la destrucción de la masa tumoral y por consiguiente mueren los VPH que en ella se encuentran, sin ocasionar algún efecto sobre los VPH que habitan en sitios adyacentes y que son los responsables de las recidivas^{88, 90, 92}.

El IFN alfa ha demostrado en varios ensayos clínicos, la eliminación a corto plazo de las lesiones genitales, así como de las partículas virales sistémicas, lo cual de alguna manera previene la aparición de recidivas^{257, 258}. Varias formulaciones con IFN alfa están registradas para el tratamiento de esta enfermedad^{260, 261}. Otros autores han utilizado: el IFN por vía intralesional, 3 estudios con resultados variables (respuesta terapéutica: 100 %, 62 % y 62 %, respectivamente)^{107, 252, 255}; el IFN 2a por vía subcutánea asociado a la isotretinoína por vía oral a distintas dosis (entre 0,5 a 1mg/kg/día), 4 estudios con resultados variables (respuesta terapéutica: 96 %, 91 %, 95 % y 100 %, respectivamente)^{257, 258, 259, 266}; el IFN 2a por vía subcutánea asociado a láser de CO₂, 2 estudios con resultados variables (respuesta terapéutica: 81 % y 90 %, respectivamente)^{261, 262}; el IFN alfa por vía subcutánea asociado a excisión quirúrgica²⁵⁶,

1 estudio con 100 % de respuesta; el IFN α 2a por vía subcutánea asociado a 5-fluoracilo (crema) tópico, 2 estudios con resultados variables (respuesta terapéutica: 96 % y 81 %, respectivamente)^{257, 261}; IFN alfa (crema 2×10^6 UI \times g) tópico, 6 estudios con resultados variables (respuesta terapéutica: 52 %, 80 %, 90 %, 90 %, 90 % y 73 %, respectivamente)^{109, 232, 262-265}. La respuesta terapéutica encontrada en el presente ensayo clínico (92,9 %) fue similar a las de mejor respuesta; sin embargo los escasos estudios que realizaron un adecuado seguimiento para determinar los porcentajes de recidivas reportan altas cifras que oscilan entre 6 % y 41 %^{255, 263}, indicadores estos muy distantes de los alcanzados por el presente estudio, en el cual se obtuvo solo 2,6 % de recidivas en el grupo que utilizó la terapia combinada de IFN alfa recombinante asociado a la criocirugía.

También el IFN α se ha usado con éxito en pacientes con papilomatosis laríngea y en neoplasias causadas por el VPH, tanto para eliminar las lesiones como para lograr el aclaramiento de partículas virales, incluso en casos con infección latente^{262, 263}. Se conoce que su eficacia está influida por varios factores, como grados de expresión de VPH oncogénicos, la regulación por proteínas virales de los mecanismos de señalización del IFN, las complejas interacciones entre las oncoproteínas virales y factores celulares que pueden inhibir la expresión genética y la función del virus y del huésped, así como la aparición de mutaciones en las células infectadas que afectan a la supervivencia celular y los mecanismos que regulan la infección por el virus^{252, 253}.

Pocos autores han utilizado el IFN alfa asociado a la criocirugía. Las dosis y vías de administración del IFN en estos estudios han sido variables: en un estudio se utilizó IFN- α (1×10^6 UI) intralesional con respuesta en 51 % de los pacientes y no se realizó seguimiento a los mismos para determinar el porcentaje de recidiva²⁷²; en 2 estudios se

utilizaron el IFN alfa (3×10^6 UI) subcutáneo, respondieron 60,7 y 83 % de los pacientes, respectivamente, siendo los porcentajes de recidivas 50 y 69 % a los 3 y 6 meses, respectivamente^{273, 274}; en otro estudio se compararon el IFN alfa (2×10^6 UI) subcutáneo contra el IFN alfa (4×10^6 UI) por la misma vía de administración, respondieron 61 y 62 %, respectivamente, los porcentajes de recidivas fueron 76 y 39 % a los 6 meses post-tratamiento, respectivamente²⁷⁵. El autor de la presente tesis y colaboradores reportaron un caso con lesiones de condiloma acuminado alrededor de la ileostomía donde las lesiones fueron totalmente eliminadas con 3 sesiones quincenales de criocirugía con nitrógeno líquido asociada a la administración subcutánea 3 veces por semana de un bulbo de interferón alfa recombinante (bulbos: 3×10^6 UI) durante 6 semanas, sin recidivas posteriores durante un año de seguimiento²³³. La eficacia terapéutica encontrada en el presente estudio (respuesta total: 92,9 % y porcentaje de recidiva: 2,6 %) fue superior a la mostrada en los estudios anteriores²⁷²⁻²⁷⁵ y similar al anterior estudio realizado por el autor de la tesis y colaboradores²³³. Las diferencias encontradas pueden haberse debido a que los estudios previos fueron realizados hace mucho tiempo, en diferentes lugares, por distintos autores, los cuales no describen: la técnica utilizada para realizar la criocirugía, el tipo de criogeno, los tiempos de congelación y descongelación, el tiempo de exposición de las células a la congelación y el número de aplicaciones por cada sesión.

Se demostró la hipótesis del trabajo, en la cual se propuso que el porcentaje de recidiva en el grupo tratado con la combinación de la criocirugía y el interferón es significativamente menor que el que se obtiene con criocirugía solamente, pues se une un potente citodestructor (la criocirugía) a un poderoso agente antiviral, inmunomodulador y antiproliferativo (el interferón). El porcentaje de recidiva obtenido

en el grupo donde se asoció la criocirugía al IFN fue 2,6 %, inferior a lo esperado y en el grupo tratado solamente con criocirugía fue 83,1 %. La diferencia entre ambos grupos fue 80,5 %, a favor de la terapia combinada, resultado este que también superó las expectativas.

De acuerdo con la hipótesis formulada para el ensayo se estimó que 170 pacientes eran suficientes para demostrar la superioridad del IFN alfa-2b recombinante + criocirugía sobre la criocirugía en el condiloma acuminado. La ejecución del ensayo permitió comprobar que el diseño, las variables de eficacia y los métodos para evaluarlas fueron útiles para satisfacer esa hipótesis planteada.

El IFN alfa ejerce la función principal para erradicar las lesiones de manera inmediata y lograr el control de las recidivas a largo plazo. En todas las determinaciones se pudo constatar la participación activa del IFN alfa en la reducción del número y tamaño de las lesiones.

Dado que se trata de una enfermedad para la cual están bien establecidos la utilidad y el beneficio que aporta el IFN alfa, se puede considerar que los porcentajes de eficacia y el perfil de seguridad demostrados en este ensayo representan una alternativa de elección disponible y beneficio posible para el control de la enfermedad.

De acuerdo con lo anterior, el hallazgo de una respuesta más pronta de la enfermedad al tratamiento con IFN alfa + criocirugía respecto al uso exclusivo de criocirugía constituye elemento que respalda el cumplimiento de la hipótesis del estudio y favorece el empleo del IFN alfa como alternativa de riesgo-beneficio favorable.

Los eventos adversos detectados en los pacientes a los que se aplicó la criocirugía (ardor, dolor, inflamación, vesiculación y ampollas) son reacciones secundarias y obligatorias de una buena técnica de criocirugía, reportadas por todos los autores que la

utilizan^{95, 199} y las reacciones adversas provocadas por el IFN (fiebre, cefalea, escalofríos, mialgias, malestar general) son las descritas por los autores consultados en la bibliografía^{232, 251}.

Se obtuvo un adecuado perfil de seguridad para el tratamiento con IFN alfa. La afirmación de que el tratamiento fue bien tolerado está sustentada por la poca cantidad e intensidad de los eventos reportados por los pacientes. Contribuyó a este resultado el empleo de medicación antipirética administrada de manera profiláctica.

El hecho de obtener buenos resultados de eficacia con el IFN alfa, sin la ocurrencia de eventos adversos graves, avala aún más el producto para su uso clínico.

La validez interna de los resultados siempre depende de la calidad del dato primario tomado frente al paciente y estará muy influenciada por algunos procedimientos propios del diseño del ensayo clínico. El carácter monocéntrico de este estudio clínico y el reducido número de especialistas participantes representan factores positivos para la calidad, condicionados por la homogeneidad de criterios en la recopilación de los datos y la poca variabilidad en la adecuada ejecución de la actividad. La creación de consultas especializadas para la atención de los pacientes del ensayo redujo las posibilidades de extravío de información, homogenizó los factores de confusión de datos y representó un elemento positivo para la confiabilidad, pues estuvo condicionado por la uniformidad de criterios en la recopilación de los datos y la semejanza en la calidad de la actividad.

Otra contribución a la validez interna de los resultados del estudio fue su ejecución cumpliendo con lo establecido por las normas de Buenas Prácticas Clínicas vigentes en la última actualización al respecto emitida por la autoridad nacional reguladora, en los procedimientos de la guía de Buenas Prácticas Clínicas aprobada por la Conferencia

Internacional de Armonización y en las guías de procedimientos aprobados y vigentes en la Dirección de Investigaciones Clínicas del CIGB.

Los resultados tienen validez interna para cualquier población similar con la enfermedad objeto de estudio. Este estudio mostró porcentajes de respuesta acorde a lo reportado en la literatura.

La validez externa se logra con muestras representativas de la población. En nuestro estudio se emplearon criterios diagnósticos, de inclusión y de exclusión que en completa semejanza con la práctica médica habitual, garantizaron una adecuada selección de los sujetos en estudio. Las condiciones de experimentación empleadas en este ensayo se correspondieron con las existentes en la práctica médica habitual en Cuba para la atención de esta enfermedad. La inclusión de pacientes en un solo centro hospitalario del país, fue el único elemento que atentó contra mayor representatividad de la población en estudio.

La demostración de la eficacia del IFN alfa y la criocirugía para alcanzar control de la enfermedad, representó el cumplimiento del objetivo principal y por tanto la satisfacción de la hipótesis de trabajo del ensayo, ambos elementos permiten considerar su validez metodológica. La intervención terapéutica combinada evaluada les brindó a los pacientes la posibilidad de obtener beneficios para su calidad de vida y el riesgo adicional es mínimo y en todo caso reversible. Por lo tanto, puede ser generalizada a toda la población en estudio o a la población en general.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El tratamiento con interferón alfa-2b adyuvante a la criocirugía redujo la proporción de pacientes con recidivas y aumentó el porcentaje de pacientes libres de enfermedad a los diferentes tiempos de evaluación, en comparación con el uso exclusivo de la criocirugía, lo cual es significativo, tanto desde el punto de vista estadístico como clínico.
2. Se obtuvo una respuesta al tratamiento con interferón alfa asociado a criocirugía en porcentajes superiores clínicamente relevantes en comparación con el uso exclusivo de la criocirugía. El esquema combinado logró la erradicación de las lesiones en un menor tiempo.
3. Los principales eventos adversos al interferón fueron los comprendidos dentro del denominado síndrome pseudogripal y ardor local a la criocirugía. Todos fueron de intensidad leve o moderada y sin provocar ninguna consecuencia sobre el individuo.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

1. Generalizar el trabajo a otros servicios del país que tratan este tipo de enfermedad.
2. Realizar un estudio multicéntrico.
3. Continuar el seguimiento de estos pacientes para conocer el posible impacto del tratamiento a más largo plazo.

**PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL AUTOR SOBRE EL
TEMA DE LA TESIS**

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DEL AUTOR SOBRE EL TEMA DE LA TESIS

Publicaciones internacionales sobre el tema:

1. Alfonso-Trujillo I, Castillo OAC, Rodríguez GMA, Caballero CS. Criocirugía en Dermatología. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario “Hermanos Ameijeiras”. *Dermatol Perú* 2007; 17(3): 161-9.
2. Alfonso-Trujillo I, Alvarez LM, Gutiérrez RAR, Rodríguez GMA, Collazo CS. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina y la criocirugía. *Dermatol Perú* 2008; 18(1): 27-34.
3. Alfonso-Trujillo I, Acosta MD, Álvarez LM, Gutiérrez AR, Toledo GMC, Rodríguez GMA, Collazo CSE. ¿Radiocirugía o Criocirugía en Condiloma acuminado de localización anal? *Dermatol Perú* 2008; 18(2): 98-105.
4. Alfonso-Trujillo I, Collazo CS, Rodríguez GMA, Arteaga HE, Blanco GO, Arguello MJ. Liquen plano lineal secundario a Interferón alfa recombinante. *Dermatol Perú* 2008; 18(4):350-3.
5. Alfonso -Trujillo I, Rodríguez GMA, Caballero CS, Arguello MJ. Criocirugía en larva migrans cutánea. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario: “Hermanos Ameijeiras”. *Piel.* 2009; 24(3):126-9.
6. Alfonso-Trujillo I, Rodríguez GMA, Gutiérrez AR, Acosta MD, Navarro MM, Collazo CS. ¿Ácido tricloroacético o criocirugía en el tratamiento del condiloma acuminado? *Piel.* 2009; 24(4):176-81.
7. Alfonso-Trujillo I, Rodríguez GMA, Arguello MJ, Caballero CS. Criocirugía en Carcinomas basocelulares múltiples. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario “Hermanos Ameijeiras”. *Piel.* 2009; 24(5):237-40.

8. Collazo CSE, García GI, Infante CE, Nodarse CH, Dopico TAP, Alfonso-Trujillo I. Nueva formulación liofilizada sin albúmina de Interferón alfa-2b en pacientes con condiloma acuminado. *Piel*. 2009; 24(6):290-7.
9. Castillo OAC, Alfonso-Trujillo I, Montecer RB, Nodarse CH, Pérez AT, Collazo CSE. Uso de crema de Interferón alfa leucocitario humano en condilomas acuminados. *Piel*. 2009; 24(7):348-51.
10. Alfonso-Trujillo I, Acosta MD, Álvarez LM, Rubén QM, Rodríguez GMA. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina sola y la podofilina asociada al levamisol. *Piel*. 2009; 24(7):352-7.
11. Alfonso-Trujillo I, Alvarez LM, Gutiérrez RAR, Rodríguez GMA, Collazo CS. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre el 5-fluorouracilo tópico y la criocirugía. *SEMERGEN*. 2009; 35(10):4-8.
12. Alfonso-Trujillo I, Acosta MD, Álvarez LM, Pernas A, Toledo MC, Rodríguez GMA. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre el ácido tricloroacético solo y el ácido tricloroacético asociado al levamisol. *Dermatol Perú* 2009; 19(2): 114-21.
13. Alfonso-Trujillo I, Gutiérrez AR, Rodríguez GMA, Collazo CSE, Toledo GMC, Pernas A. Criocirugía en el tratamiento del condiloma acuminado. *Dermatol Perú* 2009; 19(2): 122-8.
14. Alfonso-Trujillo I, Pernas GA, Rodríguez GMA, Pérez AT, Toledo GMC, Collazo CSE. "Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la criocirugía sola y la criocirugía asociada al levamisol." *Piel*. 2010; 12(5): 34-7.
15. Alfonso-Trujillo I, González SME, Vital AAP, Toledo GMC. "Condiloma acuminado alrededor de la Ileostomía. A propósito de un caso." *Piel*. 2010; 25(10):565-7.

16. Alfonso-Trujillo I, Arteaga HE, Collazo CS, Toledo GMA. Expresión inmunohistoquímica de la proteína p16 y el carcinoma de pene en pacientes con condiloma acuminado. Piel. 2014. Aceptado para publicar. En proceso de impresión.
17. Alfonso-Trujillo I, López SPA, Nodarse CH, Toledo GMA, Hernández PY. Terapia combinada de criocirugía en interferón alfa-2b humano recombinante en el condiloma acuminado. Piel. 2014. Aceptado para publicar. En proceso de impresión.

Publicaciones nacionales sobre el tema:

1. Alfonso-Trujillo I. Virosis cutáneas: Condiloma acuminado. En: Colectivo de autores. Manual de Prácticas Médicas del Hospital Hermanos Ameijeiras. IV Ed. 2014. Libro III. Tomo I. Aceptado para publicar. En proceso de impresión.

Investigaciones sobre el tema:

1. Aplicación intralesional de Interferón Alfa y Gamma recombinante en el Carcinoma Basocelular. 2003.
2. Criocirugía en Dermatología. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario “Hermanos Ameijeiras”. 2006.
3. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina y la criocirugía. 2007.
4. ¿Radiocirugía o Criocirugía en Condiloma acuminado de localización anal? 2007.
5. Criocirugía en larva migrans cutánea. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario: “Hermanos Ameijeiras”. 2008.

6. ¿Ácido tricloroacético o criocirugía en el tratamiento del condiloma acuminado? 2008.
7. Criocirugía en Carcinomas basocelulares múltiples. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario “Hermanos Ameijeiras”. 2008.
8. Estudio de dosis óptima del HeberPAG® perilesional en el carcinoma basocelular. 2008.
9. Aplicación intramuscular de una nueva formulación liofilizada de IFN alfa 2-b humana recombinante sin albúmina en pacientes con Condilomas acuminados. 2003.
10. Aplicación de una formulación tópica de interferón alfa leucocitario humano en pacientes con Condiloma Acuminado. 2003.
11. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina sola y la podofilina asociada al levamisol. 2008.
12. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre el 5-fluorouracilo tópico y la criocirugía. 2009.
13. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre el ácido tricloroacético solo y el ácido tricloroacético asociado al levamisol. 2009.
14. Criocirugía en el tratamiento del condiloma acuminado. 2009.
15. "Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la criocirugía sola y la criocirugía asociada al levamisol." 2010.
16. "Terapia combinada de Criocirugía e Interferón alfa 2b humano recombinante en el tratamiento de los condilomas acuminados." 2009-2012.
17. “Caracterización clínica y epidemiológica de los pacientes con condiloma acuminado en el Hospital “Hermanos Ameijeiras”. 2012-2013.

18. Expresión inmunohistoquímica de la proteína p16 y el carcinoma de pene en pacientes con virus del papiloma humano. 2014.

Trabajos presentados sobre el tema:

1. XVI Congreso Latinoamericano de Microbiología (ALAM). VI Congreso Cubano de Microbiología y Parasitología. III Congreso Cubano de Medicina Tropical. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourf”. La Lisa. Ciudad Habana. 11-15 Noviembre 2002.
-Póster: “Uso de la crema de Interferón alfa leucocitario en Condiloma Acuminado”.
-Póster: “Uso de la crema de Interferón alfa leucocitario para el tratamiento del Herpes simple recurrente”.
2. 1era Jornada Científica Provincial de ITS VIH SIDA. Instituto de Ciencias básicas y preclínicas: “Victoria de Girón”. Playa. Ciudad Habana. 29-30 Noviembre 2002.
-Póster: “Uso de la crema de Interferón alfa leucocitario en Condiloma Acuminado”.
3. XVI Congreso Mundial de Sexología. Centro Internacional de Conferencia. Ciudad Habana. 10-14 Marzo 2003.
-Symposium: “Use of interferon Alpha leucocitary cream in recurrent simple Herpes”.
4. XV Forum de Ciencia y técnica. Centro de ingeniería genética y biotecnología. 2003.
-Tema libre: Aplicación intramuscular de una nueva formulación liofilizada de IFN alfa 2-b humana recombinante sin albúmina en pacientes con Condilomas acuminados.

5. XV Forum de Base de Ciencia y Técnica. Centro de Ingeniería Genética y biotecnología. Playa. Ciudad Habana. 2004.
-Trabajo: “Aplicación intramuscular de una nueva formulación liofilizada de IFN alfa-2b humano recombinante sin Albúmina en pacientes con Condiloma Acuminado”. Fue: RELEVANTE.
6. XV Forum de Ciencia y Técnica. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. 30 Junio 2004.
-Tema Libre: “Criocirugía. Su utilidad en afecciones dermatológicas”.
7. II Taller de Criocirugía Dermatológica. Centro de investigaciones Médico Quirúrgicas (CIMEQ). Playa. Ciudad Habana. 9-13 Mayo 2005.
- Conferencia: “Guías de Buenas prácticas Clínicas en la Criocirugía”.
8. Fórum de Ciencia y Técnica 2008 del Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. 18 Junio 2008.
-Tema libre: “Condiloma Acuminado anal: eficacia terapéutica comparativa entre la radiocirugía y la criocirugía”.
-Tema libre: Criocirugía en carcinomas Basocelulares. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”.
9. Modalidades Diagnósticas y Terapéuticas en Dermatología Oncológica. Centro de investigaciones Médico Quirúrgicas (CIMEQ). Playa. Ciudad Habana. 25-27 Junio 2008.
-Póster: Criocirugía en carcinomas Basocelulares. Experiencia en el HHA.
10. Pre Forum de Ciencia y Técnica del servicio de Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. Junio 2012. -Tema libre: “Terapia combinada de Criocirugía e Interferón alfa-2b humano recombinante en el tratamiento de los condilomas acuminados.”

11. Pre Forum de Ciencia y Técnica del servicio de Enfermería. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. Junio 2012.
-Tema libre: Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina y la criocirugía.
12. Forum de Ciencia y Técnica del Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. 5 de Julio 2012.
-Tema libre: “Terapia combinada de Criocirugía e Interferón alfa-2b humano recombinante en el tratamiento de los condilomas acuminados.”
13. Forum de Ciencia y Técnica del Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. 6 de Julio 2012.
-Tema libre: Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina y la criocirugía. Obtuvo mención.

Tesis presentada en opción al título de Máster en enfermedades infecciosas:

1. “Nueva formulación liofilizada de Interferón intramuscular en pacientes con Condiloma Acuminado”.

Tutoría de tesis presentadas en opción al título de Máster en enfermedades infecciosas:

1. Caracterización de los pacientes con diagnóstico de condiloma acuminado anal. Policlínico “Ángel A. Aballí. Enero - Marzo del 2005”. 2009.
2. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina sola y la podofilina asociada al levamisol. 2010.

Tutoría o asesoría de tesis presentadas en opción al título de especialista de primer grado en Dermatología.

1. “Uso del Interferón Gamma en pacientes adultos con Dermatitis atópica”. 2001.
2. “Aplicación intralesional de Interferón Alfa y Gamma recombinante en el Carcinoma Basocelular.2003.
3. Estudio de dosis óptima del HeberPAG® perilesional en el carcinoma basocelular. 2008.
4. “Terapia combinada de Criocirugía e Interferón alfa 2b humano recombinante en el tratamiento de los condilomas acuminados."2012.
5. “Caracterización clínica y epidemiológica de los pacientes con condiloma acuminado en el Hospital “Hermanos Ameijeiras”. 2013.
6. “Terapia combinada de criocirugía e interferón alfa 2b humano recombinante en el condiloma acuminado. Cinco años después”. 2014. En ejecución.

Cursos impartidos sobre el tema:

1. Aplicación de la Criocirugía en Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 40 horas). 2 - 30 Septiembre 2003.
2. Aplicación de la Criocirugía en Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 64 horas). 2 - 30 Octubre 2003.
3. Aplicación de la Criocirugía en Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 64 horas). 1 - 30 Noviembre 2003.

4. Aplicación de la Criocirugía en Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 64 horas). 2 - 30 Diciembre 2003.
5. Aplicación de la Criocirugía en Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 40 horas). 1- 30 Marzo 2005.
6. Aplicación de la Criocirugía en Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 40 horas). 1- 30 Abril 2005.
7. Aplicación de la Criocirugía en Dermatología. Hospital Clínico Quirúrgico: “Hermanos Ameijeiras”. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 40 horas). 1- 30 Octubre 2005.
8. Maestría de Enfermedades Infecciosas. (Facilitador). Sub-Sede Policlínico: Marcio Manduley. Centro Habana. Ciudad Habana. (Duración: 20 horas). 2006.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Giraldi G, De Luca d'Alessandro E. The HPV infection in males: an update. *Ann Ig.* 2012; 24(6):497-506.
2. Safi F, Bekdache O, Al-Salam S, Alashari M, Mazen T, El-Salhat H. Management of peri-anal giant condyloma acuminatum-A case report and literature review. *Asian J Surg.* 2013; 36(1):43-52.
3. Seçilmi -Kerimo lu O, Do an NU, Tazegül A, Karame e M, Beyhekim H, Celik C. Lichen Simplex Chronicus That Accompanies Anogenital Warts during the Childhood. *Case Report Med.* 2012; 20 (12):192-7.
4. Fait T, Dvo ák V, Sk ivánek A, Rokyta Z, Pilka R. [Epidemiology of genital warts in female population of Czech Republic]. *Ceska Gynekol.* 2012; 77(4):360-3.
5. Hammarlund K, Nyström M, Jomeen J. Young women's experiences of managing self-treatment for anogenital warts. *Sex Reprod Healthc.* 2012 (3):117-21.
6. Stringel G, Mercer S, Corsini L. Condyloma acuminata in children. *J Pediatr Surg.* 1985; 20(5):499-501.
7. Cohen E, Levy A, Holcberg G, Wiznitzer A, Mazor M, Sheiner E. Perinatal outcomes in condyloma acuminata pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2011; 283(6):1269-73.
8. Culton DA, Morrell DS, Burkhart CN. The management of condyloma acuminata in the pediatric population. *Pediatr Ann.* 2009; 38(7):368-72.
9. Ondounda M, Pither Antchoue S, Zamba C. [Giant anogenital condyloma in an HIV-infected Gabonese woman]. *Med Sante Trop.* 2012; 22(1):12.

10. Chesson HW, Ekwueme DU, Saraiya M, Watson M, Lowy DR, Markowitz LE. Estimates of the annual direct medical costs of the prevention and treatment of disease associated with human papillomavirus in the United States. *Vaccine*. 2012; 30(42):6016-9.
11. Cavalcante EG, Araújo MA, Galvão MT, de Moura HJ, Gondim AP, da Silva RM. Sexually transmitted infections associated syndromes assisted in the primary health care in Northeast, Brazil. *BMC Public Health*. 2012; 12:595.
12. Van der Snoek EM, van Loon AM, Lammers AM, Couwenberg SM. Anogenital warts and human papillomavirus: knowledge, perceived nuisance and risk perception in Dutch soldiers. *Int J STD AIDS*. 2012; 23(7):512-5.
13. Hathaway JK. HPV: diagnosis, prevention, and treatment. *Clin Obstet Gynecol*. 2012; 55(3):671-80.
14. Yanofsky VR, Patel RV, Goldenberg G. Genital warts: a comprehensive review. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2012; 5(6):25-36.
15. Aynaud O, Huynh B, Bergeron C. [Prevalence of HPV-induced lesions in men: a study from 246 heterosexual couples]. *Gynecol Obstet Fertil*. 2012; 40(7-8):406-10.
16. Uth-Ovesen A. [Perianal Buschke-Löwenstein tumour]. *Ugeskr Laeger*. 2012; 174(23):1616-7.
17. Hoy SM. Polyphenon E 10% ointment: in immunocompetent adults with external genital and perianal warts. *Am J Clin Dermatol*. 2012; 13(4):275-81.
18. Kosenko KA, Craig E, Harvey-Knowles J. Helpful and challenging support encounters in the aftermath of HPV infection and diagnosis. *Issues Ment Health Nurs*. 2012; 33(6):355-62.

19. Moufid K, Abbaka N, Touiti D, Zoubir Y, Labraimi A. [Condylomata acuminata of the urinary tract]. *Med Mal Infect.* 2012; 42(6):282-3.
20. Gormley RH, Kovarik CL. Human papillomavirus-related genital disease in the immunocompromised host: Part II. *J Am Acad Dermatol.* 2012; 66(6):883.
21. Lanitis T, Carroll S, O'Mahony C, Charman F, Khalid JM, Griffiths V, et al. The cost of managing genital warts in the UK. *Int J STD AIDS.* 2012; 23(3):189-94.
22. Garland SM, Pirotta M, Donovan B. Genital warts are more than an inconvenience! *Public Health.* 2012; 126(6):546-7.
23. Nyitray AG, Menezes L, Lu B, Lin HY, Smith D, Abrahamsen M, et al. Genital human papillomavirus (HPV) concordance in heterosexual couples. *J Infect Dis.* 2012; 206(2):202-11.
24. Thornsberry L. Evidence-based treatment and prevention of external genital warts in female pediatric and adolescent patients. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2012; 25(2):150-4.
25. Garg T, Chander R, Jain A, Barara M. Sexually transmitted diseases among men who have sex with men: A retrospective analysis from Suraksha clinic in a tertiary care hospital. *Indian J Sex Transm Dis.* 2012; 33(1):16-9.
26. Galeone M, Scarfi F, Arunachalam M, Bruscano N, Difonzo EM. A case of perianal Crohn disease misdiagnosed as condylomata acuminata. *Sex Transm Dis.* 2012; 39(5):377-8.
27. Low JJ, Ko Y, Ilancheran A, Zhang XH, Singhal PK, Tay SK. Health and economic burden of HPV-related diseases in Singapore. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012; 13(1):305-8.
28. Zhou H. [Verruciform xanthoma of glans penis: report of a case]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2012; 41(2):127.

29. Davison W, Challenor R. A tale of two audits: closing the feedback loop on clearance rates of anogenital warts at three months. *Int J STD AIDS*. 2012; 23(2):133-5.
30. Wada T, Kubota K, Minamimoto R, Morooka M, Hasuo K, Yotsu R, et al. FDG uptake by a condylomata acuminata in an HIV-infected patient mimicked urine contamination. *Clin Nucl Med*. 2012; 37(4):420-1.
31. Shi JF, Kang DJ, Qi SZ, Wu HY, Liu YC, Sun LJ, et al. Impact of genital warts on health related quality of life in men and women in mainland China: a multicenter hospital-based cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2012; 12:153.
32. Castronovo C, Lebas E, Nikkels-Tassoudji N, Nikkels AF. Viral infections of the pubis. *Int J STD AIDS*. 2012; 23(1):48-50.
33. Pacha O, Pickett MM, Hebert AA. Scrotal Buschke-Lowenstein tumor in an AIDS patient. *Sex Transm Dis*. 2012; 39(3):236-7.
34. Wright J, Albright TS, Gehrich AP, Dunlow SG, Lettieri CF, Buller JL. Sexually transmitted diseases in Operation Iraqi Freedom/Operation Enduring Freedom. *Mil Med*. 2006; 171(10):1024-6.
35. Ahmed AM, Madkan V, Tying SK. Human papillomaviruses and genital disease. *Dermatol Clin*. 2006; 24(2):157-65.
36. Hajdu SI. The link between koilocytes and human papillomaviruses. *Ann Clin Lab Sci*. 2006 Autumn; 36(4):485-7.
37. Lacarrubba F, Dinotta F, Nasca MR, Micali G. Enhanced diagnosis of genital warts with videodermatoscopy: histopathologic correlation. *G Ital Dermatol Venereol*. 2012; 147(2):215-6.

38. Darwich L, Cañadas MP, Videla S, Coll J, Piñol M, Cobarsi P, et al. Condylomata, cytological abnormalities and human papillomavirus infection in the anal canal in HIV-infected men. *HIV Med.* 2012; 13(9):549-57.
39. Petry KU, Luyten A, Justus A, Iftner A, Strehlke S, Schulze-Rath R, et al. Prevalence of low-risk HPV types and genital warts in women born 1988/89 or 1983/84 -results of WOLVES, a population-based epidemiological study in Wolfsburg, Germany. *BMC Infect Dis.* 2012; 21 (12):367.
40. Liao Y, Zhou Y, Guo Q, Xie X, Luo E, Li J, et al. Simultaneous detection, genotyping, and quantification of human papillomaviruses by multicolor real-time PCR and melting curve analysis. *J Clin Microbiol.* 2013; 51(2):429-35.
41. Komloš KF, Kocjan BJ, Košorok P, Luzar B, Megli L, Poto nik M, et al. Tumor-specific and gender-specific pre-vaccination distribution of human papillomavirus types 6 and 11 in anogenital warts and laryngeal papillomas: a study on 574 tissue specimens. *J Med Virol.* 2012; 84(8):1233-41.
42. Bottalico D, Chen Z, Kocjan BJ, Seme K, Poljak M, Burk RD. Characterization of human papillomavirus type 120: a novel betapapillomavirus with tropism for multiple anatomical niches. *J Gen Virol.* 2012; 93(Pt 8):1774-9.
43. Braga JC, Nadal SR, Stiepcich M, Framil VM, Muller H. Buschke -Loewenstein tumor: identification of HPV type 6 and 11. *An Bras Dermatol.* 2012; 87(1):131-4.
44. Steinau M, Reddy D, Sumbry A, Reznik D, Gunthel CJ, Del Rio C, et al. Oral sampling and human papillomavirus genotyping in HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med.* 2012; 41(4):288-91.

45. Goldstone SE, Vuocolo S. A prophylactic quadrivalent vaccine for the prevention of infection and disease related to HPV-6, -11, -16 and -18. *Expert Rev Vaccines*. 2012; 11(4):395-406.
46. Brotherton J, Garland S, Donovan B. Genital HPV types in Australia. *Lancet Infect Dis*. 2012; 12(2):102-3.
47. Shavit O, Raz R, Stein M, Chodick G, Schejter E, Ben-David Y, et al. Evaluating the epidemiology and morbidity burden associated with human papillomavirus in Israel: accounting for CIN1 and genital warts in addition to CIN2/3 and cervical cancer. *Appl Health Econ Health Policy*. 2012; 10(2):87-97.
48. Stefanaki C, Barkas G, Valari M, Bethimoutis G, Nicolaidou E, Vosynioti V, et al. Condylomata acuminata in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2012; 31(4):422-4.
49. Elfekih N, Souissi I, Kharfi M, Khaled A, Zéglou F, Fazaa B, et al. [Anogenital papulo-nodular lesions]. *Ann Dermatol Venereol*. 2011; 138(5):427-8.
50. Dunne EF, Friedman A, Datta SD, Markowitz LE, Workowski KA. Updates on human papillomavirus and genital warts and counseling messages from the 2010 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. *Clin Infect Dis*. 2011; 53 Suppl 3:S143-52.
51. Imano R. [Human papillomavirus infection, cervical cancer and their involvement in head and neck cancer]. *Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*. 2012; 115(2):73-84.
52. Blomberg M, Friis S, Munk C, Bautz A, Kjaer SK. Genital warts and risk of cancer: a Danish study of nearly 50 000 patients with genital warts. *J Infect Dis*. 2012; 205(10):1544-53.

53. Kawaguchi S, Shigehara K, Sasagawa T, Kuribayashi M, Junicho A, Hasegawa T, et al. A case study of human papillomavirus-associated bladder carcinoma developing after urethral condyloma acuminatum. *Jpn J Clin Oncol.* 2012; 42(5):455-8.
54. Seoud M. Burden of human papillomavirus-related cervical disease in the extended middle East and north Africa-a comprehensive literature review. *J Low Genit Tract Dis.* 2012; 16(2):106-20.
55. Bell S, Colakolu T, Parlakgümü A, Ezer A, Erbay G, Yildirim S, et al. Squamous cell carcinomas on the basis of chronic inflammatory perianal lesions. *Turk J Gastroenterol.* 2012; 23(2):192-3.
56. Sanchez DM, Pathela P, Niccolai LM, Schillinger JA. Knowledge of human papillomavirus and anal cancer among men who have sex with men attending a New York City sexually transmitted diseases clinic. *Int J STD AIDS.* 2012; 23(1):41-3.
57. Mandato VD, Sacchetti F, Gelli MC, La Sala GB. A hard cervix: Microscopic examination revealed that a rare transformation had occurred. *Am J Obstet Gynecol.* 2012; 206(4):362.e1-3.
58. Ferrándiz-Pulido C, de Torres I, García-Patos V. [Penile squamous cell carcinoma]. *Actas Dermosifiliogr.* 2012; 103(6):478-87.
59. Anic GM, Lee JH, Villa LL, Lazcano-Ponce E, Gage C, José C Silva R, et al. Risk factors for incident condyloma in a multinational cohort of men: the HIM study. *J Infect Dis.* 2012; 205(5):789-93.
60. Ting PT, Dytor MT. Therapy of external anogenital warts and molluscum contagiosum: a literature review. *Dermatol Ther.* 2004; 17(1):68-101.

61. Kass-Wolff JH, Wilson EE. Pediatric gynecology: assessment strategies and common problems. *Semin Reprod Med.* 2003; 21(4):329-38.
62. Merchant VA. Oral HPV: the need for patient education. *J Mich Dent Assoc.* 2012; 94(3):16, 83.
63. Ozgul N, Tuncer M, Abacioglu M, Gultekin M. Estimating prevalence of genital warts in Turkey: survey among KETEM-affiliated gynecologists across Turkey. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12(9):2397-400.
64. Pedersen AE, Knudsen TB, Sand C. [Perianal condylomes and diagnosis of syphilis]. *Ugeskr Laeger.* 2012; 174(5):282-3.
65. Zetola N, Klausner JD. Male circumcision reduces human papillomavirus incidence and prevalence: clarifying the evidence. *Sex Transm Dis.* 2012; 39(2):114-5.
66. Albero G, Castellsagué X, Giuliano AR, Bosch FX. Male circumcision and genital human papillomavirus: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis.* 2012; 39(2):104-13.
67. Raymakers AJ, Sadatsafavi M, Marra F, Marra CA. Economic and humanistic burden of external genital warts. *Pharmacoeconomics.* 2012; 30(1):1-16.
68. Di Lucca-Christment J, Jacobelli S, Gressier L, Plantier F, Laude H, et al. Anogenital pseudotumoral herpes and HIV infection: a new challenge for diagnosis and treatment. *AIDS.* 2012; 26(4):523-6.
69. Cardoso JC, Calonje E. Cutaneous manifestations of human papillomaviruses: a review. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat.* 2011; 20(3):145-54.
70. Xu J, Lu XD, He Q, Chen JY, Xiang L, Wang J. Oncogenic HPV infection resembling pseudocondyloma of vulvae: a descriptive study of 31 cases. *Arch Gynecol Obstet.* 2012; 285(5):1421-6.

71. Ornstein A, Hatchette T. Human papillomavirus and anogenital warts in children. *CMAJ*. 2012; 184(3):321.
72. Hartwig S, Syrjänen S, Dominiak-Felden G, Brotons M, Castellsagué X. Estimation of the epidemiological burden of human papillomavirus-related cancers and non-malignant diseases in men in Europe: a review. *BMC Cancer*. 2012; 12:30.
73. Skaaby S, Kofoed K. Anogenital warts in Danish men who have sex with men. *Int J STD AIDS*. 2011; 22(4):214-7.
74. Vergeichik GI, Stribuk ZhA, Eremin VF. [Prevalence of high- and low-risk oncogenic human papillomaviruses in patients with external genital pathology]. *Vopr Virusol*. 2011; 56(2):26-8.
75. Moscicki AB, Palefsky JM. Human papillomavirus in men: an update. *J Low Genit Tract Dis*. 2011; 15(3):231-4.
76. Aubin F, Martin M, Puzenat E, Magy-Bertrand N, Segondy M, Riethmuller D, et al. Genital human Papillomavirus infection in patients with autoimmune inflammatory diseases. *Joint Bone Spine*. 2011; 78(5):460-5.
77. Kreuter A, Wieland U. Lack of efficacy in treating condyloma acuminata and preventing recurrences with the recombinant quadrivalent human papillomavirus vaccine in a case series of immunocompetent patients. *J Am Acad Dermatol*. 2013; 68(1):179-80.
78. Kawana K. [Human papillomavirus prophylactic vaccine]. *Uirusu*. 2012; 62(1):79-86.
79. Kohli M, Lawrence D, Haig J, Anonychuk A, Demarteau N. Modeling the impact of the difference in cross-protection data between a human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine and a human

- papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 vaccine in Canada. *BMC Public Health*. 2012; 12:872.
80. Khaliq SA, Shyum Naqvi SB, Fatima A. Human Pappilomavirus (HPV) induced cancers and prevention by immunization. *Pak J Pharm Sci*. 2012; 25(4):763-72.
81. Sahasrabuddhe VV, Sherman ME. Human papillomavirus vaccines for cervical cancer prevention: translating possibility into reality. *J Natl Cancer Inst*. 2012; 104(22):1698-701.
82. Van de Velde N, Boily MC, Drolet M, Franco EL, Mayrand MH, Kliewer EV, et al. Population-level impact of the bivalent, quadrivalent, and nonavalent human papillomavirus vaccines: a model-based analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2012; 104(22):1712-23.
83. Stanley MA. Genital human papillomavirus infections: current and prospective therapies. *J Gen Virol*. 2012; 93(Pt 4):681-91.
84. Fantasia HC. Sinecatechins ointment 15% for the treatment of external genital warts. *Nurs Womens Health*. 2012; 16(5):418-22.
85. Greensill A, Yong M, O'Mahony C. Imiquimod use in adolescents: off-label but effective. *Int J STD AIDS*. 2012; 23(4):297-9.
86. Berman B, Wolf J. The role of imiquimod 3.75% cream in the treatment of external genital warts. *Skin Therapy Lett*. 2012; 17(4):5-7.
87. Wu J, Feldman R, Barry GT, Kulp J, Adams MP, Levy S. Pharmacokinetics of daily self-application of imiquimod 3.75% cream in adult patients with external anogenital warts. *J Clin Pharmacol*. 2012; 52(6):828-36.
88. Alfonso-Trujillo I, María Antonia Rodríguez GMA, Gutiérrez AR, Acosta MD, Navarro MM, Collazo CS. ¿Ácido tricloroacético o criocirugía en el tratamiento del condiloma acuminado? *Piel*. 2009; 24(4):176-80

89. Alfonso-Trujillo I, Acosta MD, Álvarez LM, Pernas A, Toledo MC, Rodríguez GMA. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre el ácido tricloroacético solo y el ácido tricloroacético asociado al levamisol. *Dermatol Perú* 2009; 19(2): 114-21.
90. Alfonso-Trujillo I, Mariuska Alvarez LM, Gutiérrez RAR, Rodríguez GMA, Collazo CS. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina y la criocirugía. *Dermatol Perú* 2008; 18(1): 27-34.
91. Alfonso-Trujillo I, Acosta MD, Álvarez LM, Rubén QM, Rodríguez GMA. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina sola y la podofilina combinada con levamisol. *Piel.* 2009; 24(7):352-7.
92. Alfonso-Trujillo I, Mariuska Alvarez LM, Gutiérrez RAR, Rodríguez GMA, Collazo CS. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre el 5-fluorouracilo tópico y la criocirugía. *SEMERGEN.* 2009; 35(10): 4-8.
93. Mavrogianni P, Fallidas E, Nicolaidou E, Villias K, Stefanaki I, Katsambas A, et al. Therapeutic combination of radiofrequency surgical dissection and oral acitretin in the management of perianal Buschke-Lowenstein tumour: a case report. *Int J STD AIDS.* 2012; 23(5):362-4.
94. Battaglia L, Vannelli A, Belli F, Rampa M, Milione M, Gasparini P, et al. Giant condyloma acuminatum of the anorectum: successful radical surgery with anal reconstruction. *Tumori.* 2011; 97(6):805-7.
95. Wro ski K, Bocian R. Surgical excision of extensive anal condylomata is a safe operation without risk of anal stenosis. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2012; 66:153-7.

96. Tripoli M, Cordova A, Maggi F, Moschella F. Giant condylomata (Buschke-Löwenstein tumours): our case load in surgical treatment and review of the current therapies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012; 16(6):747-51.
97. Baumgartner J. Erbium: yttrium-aluminium-garnet (Er:YAG) laser treatment of penile pearly papules. *J Cosmet Laser Ther.* 2012; 14(3):155-8.
98. Li XC, Zhu L, Gu Y, Jin HM, Wang CY, Xu T, et al. [Outcome prediction of single-period CO(2) laser therapy for vulvar condylomata acuminata]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2012; 92(25):1759-62.
99. Sun Y, Ma YP, Wu Y, Liu J, Hong YX, Chen HD, et al. Topical photodynamic therapy with 5-aminolaevulinic acid for condylomata acuminata on the distal urethra. *Clin Exp Dermatol.* 2012; 37(3):302-3.
100. Inada NM, Costa MM, Guimarães OC, Ribeiro Eda S, Kurachi C, Quintana SM, et al. Photodiagnosis and treatment of condyloma acuminatum using 5-aminolevulinic acid and homemade devices. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2012; 9(1):60-8.
101. Wang HW, Zhang LL, Miao F, Lv T, Wang XL, Huang Z. Treatment of HPV infection-associated cervical condylomata acuminata with 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 2012; 88(3):565-9.
102. Lu YG, Yang YD, Wu JJ, Lei X, Cheng QH, He Y, et al. Treatment of perianal condyloma acuminata with topical ALA-PDT combined with curettage: outcome and safety. *Photomed Laser Surg.* 2012; 30(3):186-90.
103. Li CT, Song QH, Wang J. [Liquid nitrogen freezing combined with 5-aminolaevulinic acid-photodynamic therapy for condyloma acuminatum in men]. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2012; 18(2):160-3.

104. Alfonso-Trujillo I, Acosta MD, Álvarez LM, Gutiérrez AR, Toledo GMC, Rodríguez GMA, Collazo CSE. ¿Radiocirugía o criocirugía en condiloma acuminado de localización anal? *Dermatol Perú* 2008; 18(2):98-105.
105. Alfonso-Trujillo I, Gutiérrez AR, Rodríguez GMA, Collazo CSE, Toledo GMC, Pernas A. Criocirugía en el tratamiento del condiloma acuminado. *Dermatol Perú* 2009; 19(2): 122-8.
106. Alfonso-Trujillo I, Pernas GA, Rodríguez GMA, Pérez AT, Toledo GMC, Collazo CSE. Condiloma acuminado: eficacia terapéutica comparativa entre la criocirugía sola y la criocirugía asociada al levamisol. *Piel*. 2010; 12(5): 34-7.
107. Lozada-Nur F, Glick M, Schubert M, Silverberg I. Use of intralesional interferon-alpha for the treatment of recalcitrant oral warts in patients with AIDS: a report of 4 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92:617-22.
108. Pasmatzis E, Kapranos N, Monastirli A, Melachrinou M, Georgiou S, Tsambaos D. Large benign condyloma acuminatum: successful treatment with isotretinoin and interferon alpha. *Acta Derm Venereol*. 2012; 92(3):249-50.
109. Castillo OAC, Alfonso-Trujillo I, Montecercos RB, Nodarse CH, Pérez AT, Collazo CSE. Uso de crema de interferón alfa leucocitario humano en condilomas acuminados. *Piel*. 2009; 24(7):348-51.
110. Collazo CSE, García GI, Infante CE, Nodarse CH, Dopico TAP, Alfonso-Trujillo I. Nueva formulación liofilizada sin albúmina de interferón alfa-2b en pacientes con condiloma acuminado. *Piel*. 2009; 24(6):290-7.
111. Castillo R, Morales AM, Carrasco A. Guía de uso de la criocirugía en atención primaria. *Med Fam*. 2002; 2:114–22.

112. Arribas JM, Fernández S, Rodríguez N, Baos V. Técnicas alternativas en cirugía menor: criocirugía y electrocirugía. *Semergen*. 2002; 28:496-513.
113. Apt P, Muñoz P, Zemelman V. Criocirugía en dermatología. *Rev Hosp Clín Univ Chile*. 2001; 12(3):235-40.
114. Zacarian SA. Cryosurgery in the management of cutaneous disorders and malignant tumors of the skin. *Compr Ther*. 1994; 20:379-401.
115. Kuwahara RT. Cryotherapy (INTERNET). *Emedicine*, 2003. Disponible en: [http:// www.emedicine.com/derm/topic553.htm](http://www.emedicine.com/derm/topic553.htm).
116. Bansal A, Jain S, Gupta S. Cryosurgery in the treatment of oro-facial lesions. *Indian J Dent Res*. 2012; 23(2):297.
117. Thaokar C, Rabin Y. Temperature field reconstruction for minimally invasive cryosurgery with application to wireless implantable temperature sensors and/or medical imaging. *Cryobiology*. 2012. doi:pii: S0011-2240(12)00220-9. 10.
118. Burkhart CG, Burkhart CN. Can cryosurgery in dermatology be augmented or assisted by pretreatment of skin? *Int J Dermatol*. 2008; 47(10):1082-3.
119. Shocket E, Gosnell N. Splatter-free compression cryotherapy for skin lesions. *South Med J*. 2010; 103(6):591-3.
120. Gage AA, Baust JM, Baust JG. Xperimental cryosurgery investigations in vivo. *Cryobiology*. 2009; 59(3):229-43.
121. Olson JM, Alam M, Asgari MM. Needs assessment for general dermatologic surgery. *Dermatol Clin*. 2012; 30(1):153-66.
122. Zacarian SA. Cryogenics: The cryolesion and the pathogenesis of cryonecrosis. In: Zacarian SA, ed. *Cryosurgery for skin cancer and cutaneous disorders*. St. Louis: Mosby, 1985:1-30.

123. de Souza RC, Cunha JM, Ferreira SH, Cunha FQ, Lima HC. Different inflammatory mediators induce inflammation and pain after application of liquid nitrogen to the skin. *Cryobiology*. 2006; 53(3):319-29.
124. Manstein D, Laubach H, Watanabe K, Farinelli W, Zurakowski D, Anderson RR. Selective cryolysis: a novel method of non-invasive fat removal. *Lasers Surg Med*. 2008 Nov; 40(9):595-604.
125. Chen TH, Huang CJ, Huang YY. In vivo detection of cryosurgery using multiphoton and harmonic generation microscopy. *Med Eng Phys*. 2008; 30(8):984-8.
126. Swann MH, Taylor TA. Practical cryotherapy for skin disease. *Mo Med*. 2007; 104(6):509-12.
127. Bassukas ID, Gaitanis G. Combination of cryosurgery and topical imiquimod: does timing matter for successful immunocryosurgery? *Cryobiology*. 2009; 59(1):116-7.
128. Dolar N, Serdaroglu S, Yilmaz G, Ergin S. Seroprevalence of herpes simplex virus type 1 and type 2 in Turkey. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006; 20(10):1232-6.
129. Jiang J, Goel R, Iftekhar MA, Visaria R, Belcher JD, Vercellotti GM, Bischof JC. Tumor necrosis factor-alpha-induced accentuation in cryoinjury: mechanisms in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther*. 2008; 7(8):2547-55.
130. Markowska J. Effect of cryotherapy and povidone-iodine preparation on eradication of DNA corresponding to highly oncogenic HPV in women with lesions in the uterine cervix. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2012; 33(3):249-51.
131. Singh A, Arthur B, Agarwal V. LEEP Verses Cryotherapy in CIN. *J Obstet Gynaecol India*. 2011; 61(4):431-5.

132. Matsukura T, Mitsuishi T, Sugase M, Kawashima M. Human papillomavirus type 7-associated condyloma. *Dermatology*. 2010; 221(1):5-8.
133. Torres-Guerrero E, Isa-Isa R, Isa M, Arenas R. Chromoblastomycosis. *Clin Dermatol*. 2012; 30(4):403-8.
134. Alfonso -Trujillo I, María Antonia Rodríguez GMA, Caballero CS, Arguello MJ. Criocirugía en el tratamiento de la larva migrans cutánea. *Piel*. 2009; 24(3):126-9.
135. Al-Qubati Y, Janniger EJ, Schwartz RA. Cutaneous leishmaniasis: cryosurgery using carbon dioxide slush in a resource-poor country. *Int J Dermatol*. 2012; 51(10):1217-20.
136. Shirazi AS, Moeintaghavi A, Khorakian F, Talebi M. Treatment of gingival physiologic pigmentation in adolescents by liquid nitrogen cryosurgery: 24-month follow-up. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012; 32(4):e142-6.
137. Moraes Pde C, Teixeira RG, Thomaz LA, Arsati F, Junqueira JL, Oliveira LB. Liquid nitrogen cryosurgery for treatment of mucoceles in children. *Pediatr Dent*. 2012; 34(2):159-61.
138. Gauglitz GG, Pavicic T. [Emerging strategies for the prevention and therapy of excessive scars]. *MMW Fortschr Med*. 2012; 154(15):55-8.
139. Weshahy AH, Hay RA. Intralesional cryosurgery and intralesional steroid injection: a good combination therapy for treatment of keloids and hypertrophic scars. *Dermatol Ther*. 2012; 25(3):273-6.
140. Berman B, Viera MH, Amini S, Huo R, Jones IS. Prevention and management of hypertrophic scars and keloids after burns in children. *J Craniofac Surg*. 2008; 19(4):989-1006.

141. Serra AM, Soares FM, Cunha Júnior AG, Costa IM. Therapeutic management of skin hemangiomas in children. *An Bras Dermatol.* 2010; 85(3):307-17.
142. Tronina SA, Bobrova NF, Khrinenko VP. Combined surgical method of orbital and periorbital hemangioma treatment in infants. *Orbit.* 2008; 27(4):249-57.
143. Grantzow R, Schmittenbecher P, Cremer H, Höger P, Rössler J, Hamm H, et al. Hemangiomas in infancy and childhood. S 2k Guideline of the German Society of Dermatology with the working group Pediatric Dermatology together with the German Society for Pediatric Surgery and the German Society for Pediatric Medicine. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2008; 6(4):324-9.
144. Panagiotopoulos A, Chasapi V, Nikolaou V, Stavropoulos PG, Kafouros K, Petridis A, et al. Assessment of cryotherapy for the treatment of verrucous epidermal naevi. *Acta Derm Venereol.* 2009; 89(3):292-4.
145. Hanumanthiah HC. Cryosurgery and hair transplantation to epidermal verrucous naevus. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2002; 68(5):286-7.
146. Kawczyk-Krupka A, Wa kowska J, Raczkowska-Siostrzonek A, Ko ciarz-Grzesiok A, Kwiatek S, Straszak D, et al. Comparison of cryotherapy and photodynamic therapy in treatment of oral leukoplakia. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2012; 9(2):148-55.
147. Shah AY, Doherty SD, Rosen T. Actinic cheilitis: a treatment review. *Int J Dermatol.* 2010; 49(11):1225-34.
148. Zghal M, Triki S, Elloumi-Jellouli A, Jbali A, Gargouri H, Benmously R, et al. [Contribution of the cryosurgery in the management of xeroderma pigmentosum]. *Ann Dermatol Venereol.* 2010; 137(10):605-9.
149. Hagele TJ, Levender MM, Davis SA, Williford PM, Feldman SR. Practice trends in the treatment of actinic keratosis in the United States: 0.5% fluorouracil

- and combination cryotherapy plus fluorouracil are underused despite evidence of benefit. *J Cutan Med Surg.* 2012; 16(2):107-14.
150. Krawtchenko N, Roewert-Huber J, Ulrich M, Mann I, Sterry W, Stockfleth E. A randomised study of topical 5% imiquimod vs. topical 5-fluorouracil vs. cryosurgery in immunocompetent patients with actinic keratoses: a comparison of clinical and histological outcomes including 1-year follow-up. *Br J Dermatol.* 2007; 157 Suppl 2:34-40.
 151. McIntyre WJ, Downs MR, Bedwell SA. Treatment options for actinic keratoses. *Am Fam Physician.* 2007 Sep 1; 76(5):667-71.
 152. Zide MF. Actinic keratosis: from the skin to the lip. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 66(6):1162-76.
 153. Stanger CB. Actinic keratosis: do the numbers add up? *Nurse Pract.* 2009; 34(2):36-9.
 154. Fenske NA, Spencer J, Adam F. Actinic keratoses: past, present and future. *J Drugs Dermatol.* 2010; 9(5 Suppl ODAC Conf Pt 1):s45-9.
 155. Goldberg LH, Kaplan B, Vergilis-Kalner I, Landau J. Liquid nitrogen: temperature control in the treatment of actinic keratosis. *Dermatol Surg.* 2010; 36(12):1956-61.
 156. Deonizio JM, Mulinari-Brenner FA. Cryopeeling for treatment of photodamage and actinic keratosis: liquid nitrogen versus portable system. *An Bras Dermatol.* 2011; 86(3):440-4.
 157. Gaitanis G, Mitsou G, Tsiouri G, Alexis I, Bassukas ID. Cryosurgery during imiquimod cream treatment ("immunocryosurgery") for Bowen's disease of the skin: a case series. *Acta Derm Venereol.* 2010; 90(5):533-4.

158. Goldberg LH, Landau JM, Moody MN, Vergilis-Kalner IJ. Treatment of Bowen's disease on the penis with low concentration of a standard mixture of solasodine glycosides and liquid nitrogen. *Dermatol Surg*. 2011; 37(6):858-61.
159. Alfonso-Trujillo I, Rodríguez GMA, Arguello MJ, Caballero CS. Criocirugía en carcinomas basocelulares múltiples. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario Hermanos Ameijeiras. *Piel*. 2009; 24(5):237-40.
160. Fernández J, Echevarría C, Armatio JC. Criocirugía en carcinomas basocelulares. *Folia Dermatol Peru*. 2003; 14 (1):33-4.
161. Streeton CL, Gospodarevskaya E, Harris A. Treatment of basal cell carcinomas by general practitioners in Australia. *Int J Dermatol*. 2006; 45(4):345-51.
162. Ceilley RI, Del Rosso JQ. Current modalities and new advances in the treatment of basal cell carcinoma. *Int J Dermatol*. 2006; 45(5):489-98.
163. Pazdrowski J, Da czak-Pazdrowska A, Golusi ski P, Szybiak B, Silny W, Golusi ski W. [The recurrence of facial basal cell carcinoma in patients treated at the Head and Neck Surgery Ward and Laryngological Oncology Clinic of the Greater Poland Cancer Centre in the years 2007-2010]. *Otolaryngol Pol*. 2012; 66(3):185-90.
164. Gaitanis G, Alexopoulos EC, Bassukas ID. Cryosurgery is more effective in the treatment of primary, non-superficial basal cell carcinomas when applied during and not prior to a five week imiquimod course: a randomized, prospective, open-label study. *Eur J Dermatol*. 2011; 21(6):952-8.
165. Smith V, Walton S. Treatment of facial Basal cell carcinoma: a review. *J Skin Cancer*. 2011; 2011:380371.
166. Aguayo-Leiva IR, Ríos-Buceta L, Jaén-Olasolo P. [Surgical vs nonsurgical treatment of basal cell carcinoma]. *Actas Dermosifiliogr*. 2010; 101(8):683-92.

167. Mannor GE, Chern PL, Barnette D. Eyelid and periorbital skin basal cell carcinoma: oculoplastic management and surgery. *Int Ophthalmol Clin*. 2009 Fall; 49(4):1-16.
168. Gaitanis G, Nomikos K, Vava E, Alexopoulos EC, Bassukas ID. Immunocryosurgery for basal cell carcinoma: results of a pilot, prospective, open-label study of cryosurgery during continued imiquimod application. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009; 23(12):1427-31.
169. Buljan M, Bulat V, Situm M, Mihi LL, Stani -Duktaj S. Variations in clinical presentation of basal cell carcinoma. *Acta Clin Croat*. 2008; 47(1):25-30.
170. Gabbi TV, de Lacerda DA, Maruta CW, de Almeida Pimentel ER. Giant superficial basal cell carcinoma treated with cryosurgery. *Dermatol Surg*. 2008; 34(10):1441-2.
171. Telfer NR, Colver GB, Morton CA; British Association of Dermatologists. Guidelines for the management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2008; 159(1):35-48.
172. Abramovits W. A cryosurgeon's viewpoint of excision vs. cryosurgery or basal cell carcinomas. *Dermatol Surg*. 2008; 34(4):582.
173. Mitropoulos P, Norman R. Nevoid basal cell carcinoma syndrome (Gorlin syndrome): updated review of minimally invasive treatments. *Cutis*. 2008; 81(1):53-60.
174. Peikert JM. Prospective trial of curettage and cryosurgery in the management of non-facial, superficial, and minimally invasive basal and squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol*. 2011; 50(9):1135-8.

175. Terushkin V, Braga JC, Dusza SW, Scope A, Busam K, Marghoob AA, et al. Agreement on the clinical diagnosis and management of cutaneous squamous neoplasms. *Dermatol Surg.* 2010; 36(10):1514-20.
176. Ruiz Santiago H, Morales-Burgos A. Cryosurgery as adjuvant to Mohs micrographic surgery in the management of subungual squamous cell carcinoma. *Dermatol Surg.* 2011; 37(2):256-8.
177. Sakurai H, Nozaki M, Takeuchi M, Kono T, Hori K, Sasaki K. Squamous cell carcinoma arising in a port-wine stain with a remote history of cryosurgery. *Dermatol Surg.* 2007; 33(9):1142-4.
178. Pustynski IN, Paches AI, Tkachev SI, Kropotov MA. Cryoradiation therapy of the patients presenting with locally advanced auricular skin cancer. *Vestn Otorinolaringol.* 2012; (3):56-7.
179. Neville JA, Welch E, Leffell DJ. Management of nonmelanoma skin cancer in 2007. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007; 4(8):462-9.
180. Gonçalves JC. Fractional cryosurgery for skin cancer. *Dermatol Surg.* 2009; 35(11):1788-96.
181. Lee DA, Miller SJ. Nonmelanoma skin cancer. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2009; 17(3):309-24.
182. Lindemalm-Lundstam B, Dalenbäck J. Prospective follow-up after curettage-cryosurgery for scalp and face skin cancers. *Br J Dermatol.* 2009; 161(3):568-76.
183. Lourari S, Paul C, Meyer N. [Non-surgical treatment of skin carcinomas and their precursors]. *Presse Med.* 2011; 40(7-8):690-6.

184. Murchison AP, Walrath JD, Washington CV. Non-surgical treatments of primary, non-melanoma eyelid malignancies: a review. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2011;39(1):65-83.
185. Almeida Gonçalves JC. Advanced cancer of the extremities treated by cryosurgery. *G Ital Dermatol Venereol.* 2011; 146(4):249-55.
186. Yang F, Wang W, Li J, Haines S, Asher G, Li C. Antler development was inhibited or stimulated by cryosurgery to periosteum or skin in a central antlerogenic region respectively. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 2011; 316(5):359-70.
187. Bassukas ID, Gamvroulia C, Zioga A, Nomikos K, Fotika C. Cryosurgery during topical imiquimod: a successful combination modality for lentigo maligna. *Int J Dermatol.* 2008; 47(5):519-21.
188. Adeniran AJ, Prieto VG, Chon S, Duvic M, Diwan AH. Atypical histologic and immunohistochemical findings in melanocytic nevi after liquid nitrogen cryotherapy. *J Am Acad Dermatol.* 2009; 61(2):341-5.
189. Schirmang TC, Davis LM, Nigri PT, Dupuy DE. Solitary fibrous tumor of the buccal space: treatment with percutaneous cryoablation. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007; 28(9):1728-30.
190. Ray CE. Cost analysis of cryotherapy for metastatic disease. *J Vasc Interv Radiol.* 2012; 23(6):778-9.
191. De Queiroz GF, Matera JM, Zaidan Dagli ML. Clinical study of cryosurgery efficacy in the treatment of skin and subcutaneous tumors in dogs and cats. *Vet Surg.* 2008; 37(5):438-43.
192. Ameerally PJ, Colver GB. Cutaneous cryotherapy in maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 65(9):1785-92.

193. Barlow JO. Quick saturation of a cotton tip applicator using a handheld cryosurgical spray device. *Cutis*. 2011; 87(5):230-1.
194. Ghosh AK. Cryosurgery of genital warts in cases in which podophyllin treatment failed or was contraindicated. *British Journal of Venereal Diseases*, 1977; 5(3): 49-53.
195. Díaz de la Rocha QA, Collazo CS, Sagaró DB, Rodríguez GMA, Pavón HA, Pérez AT. Valor terapéutico de la criocirugía en algunas afecciones dermatológicas. *Dermatología venezolana*. 1990; 28(2):81-4.
196. Abdullah AN, Walzman M, Wade A. Treatment of external genital warts comparing cryotherapy (liquid nitrogen) and trichloroacetic acid. *Sex Transm Dis* 1993; 20: 344–5.
197. Fernández-Vozmediano JM, Armario HJC. Importancia de la Criocirugía para el dermatólogo. *Criocirugía y Dermatología*. 2001; 4(5): 281-4.
198. Ferrer BJ. Criocirugía en lesiones por Virus de Papiloma Humano. *Dermatología Venezolana*. 2005; 43(1):12-4.
199. Alfonso-Trujillo I, Castillo OAC, Rodríguez GMA, Caballero CS. Criocirugía en dermatología. Experiencia en el Hospital Clínico Quirúrgico Universitario Hermanos Ameijeiras. *Dermatol Perú* 2007; 17(3): 161- 9.
200. Isaacs A, Lindenman J. Virus interference. The interferon. *Proc R. Soc. Lon. Biol.* 1957; 147: 258-67.
201. Oppenheim JJ. Cytokines. In *Basic and Clinical Immunology*. Seventh edition. Chapter 7. Appleton & Lange, Connecticut, 1991: 78-100.
202. Vilcek J. Fifty Years of Interferon Research: Commentary Aiming at a Moving Target. *Immunity*. 2006; 25: 343–8.

203. Paucker K, Cantell K, Henle W. Quantitative studies on viral interference in suspended L cells. III. Effect of interfering viruses and interferon on the growth rate of cells. *Virology*. 1962; 17:324-34.
204. Wheelock EF. Interferon-like virus-inhibitor induced in human leukocytes by phytohemagglutinin. *Science* 1965; 149: 310-1.
205. Gresser I, Bourali C, Levy JP, Fontaine-Brouty-Boye D, Thomas MT. Increased survival in mice inoculated with tumor cells and treated with interferon preparations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1969; 63, 51-57.
206. Lindahl P, Leary P, Gresser I. Enhancement by interferon of the specific cytotoxicity of sensitized lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1972; 69: 721-5.
207. Havell EA, Berman B, Ogburn CA, Berg K, Paucker K, Vilcek J. Two antigenically distinct species of human interferon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1975; 72: 2185-7.
208. Gresser I, Tovey MG, Maury C, Chouroulinkov I. Lethality of interferon preparations for newborn mice. *Nature* 1975; 258: 76-8.
209. Riviere Y, Gresser I, Guillon JC, Tovey MG. Inhibition by anti-interferon serum of lymphocytic choriomeningitis virus disease in suckling mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1977; 74: 2135-9.
210. Taniguchi T, Saka M, Fujii-Kuriyama Y, Muramatsu M, Kobayashi M, Sudo T. Construction and identification of a bacterial plasmid containing the human fibroblast interferon gene sequence. *Proc. Jpn. Acad.* 1979; 55B: 464-9.
211. Nagata S, Taira H, Hall A, Johnsrud L, Streuli M, Ecsodi J, et al. (). Synthesis in *E. coli* of a polypeptide with human leukocyte interferon activity. *Nature*. 1980; 284: 316-0.

212. Gray PW, Goeddel DV. Structure of the human immune interferon gene. *Nature* 1982; 298: 859–63.
213. Vilcek J. Adverse effects of interferon in virus infections, autoimmune diseases and acquired immunodeficiency. *Prog. Med. Virol.* 1984 30, 62–77.
214. Henko K, Brosius FJ, Fujisawa A. Structural relationship of human interferon alpha genes and pseudogenes. *J. Mol. Biol.* 1985; 185: 227-60.
215. Shows T.B, Sakaguchi A.Y, Naylor Ch. Clustering of leucocytes and fibroblast interferon genes on human chromosome 9. *Science* 1982; 218: 373-4.
216. Baron S, Coppenhaver DH, Dianzani F. *Interferon: Principles and Medical Applications.* The University of Texas Medical Branch, Galveston. 1992: 624.
217. Bekisz J, Schmeisser H, Pontzer C, Zoon KC. Interferons: Alpha, beta, omega, and tau, in *Encyclopedia of Hormones and Related Cell Regulators.* (Henry H, Norman A, eds.). Academic Press, New York. 2003: 397–405.
218. Pestka S. The interferon receptors. *Semin Oncol.* 1997; 24, S9– S40.
219. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shen M, Shan NK, et al. IFN α s mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat. Immunol.* 2003; 4: 69-77.
220. Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, Henderson K, Schlutsmeyer S, Whitmore TE. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat. Immunol.* 2003; 4: 63-8.
221. Alvarez M, Salmeron OJ, Manzano L. Alpha Interferon as an immunomodulator in the treatment of patients with tumors. *Med Oncol* 1995 Mar; 12 (1): 15-21.
222. Tying SK. Antitumor actions of interferons: Direct, indirect and synergy with other treatment modalities. *Int J. Dermatol.* 1987; 26: 549-56.

223. López P. Interferones en oncología. *Interferón y biotecnología*. 1988; 5 (2): 183-6.
224. Cirrelli R, Tyring S. Major therapeutic use of interferons. *Clin Immunother* 1995; 3 (1): 45-67.
225. Lippman S, Parkinson D, Itri L. 13-cis-retinoic acid and interferon alpha 2^a: Effective combination therapy for advanced squamous cell carcinoma of the skin. *J. Of the National Cancer Institute* 1982; 84 (4): 235-40.
226. Longer JA, Pestka S. Interferon receptor. *Immunol today*; 1998; 9: 393-400.
227. Zooboulis CC, Stadler R, Ikenberg H. Short-term systemic recombinant interferon-gamma treatment is ineffective in recalcitrant condylomat acuminata: *J Am Acad Dermatol* 1999; 24: 302-3.
228. Brodell RT. The use of natural alpha interferon in the treatment of condyloma acuminata. *Infections in Medicine*. 2000; 13: 1520-30.
229. Samuel CE. Antiviral actions of interferon: Interferon regulated cellular protein and their surprisingly selective antiviral activities. *Virology*.1996; 183: 1-11.
230. Edwards L. The interferons. *Dermatol Clin* 2001; 19 (1): 139-46.
231. Rockley P, Tyring S. Interferon alpha, beta and gamma therapy of anogenital human papillomavirus infections. *Pharmacol Ther* 1998; 65: 265-87
232. Sagaró B, Díaz de La Rocha A, Limonta B, Díaz MA, Pérez H. Uso del Interferón en los Condilomas acuminados. *Interferón y Biotecnología*. 1988; 5: 53-8.
233. Alfonso-Trujillo I, González SME, Vital AAP, Toledo GMC. Condiloma acuminado alrededor de la Ileostomía. A propósito de un caso." *Piel*. 2010; 25(10):565-7.

234. Wang YS, Youngster S, Grace M, Bausch J. Structural and biological characterization of pegylated recombinant interferon alpha-2b and its therapeutic implications. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54 (4): 547-70.
235. Rodríguez JL, Valenzuela C, Marin N, Ferrero J, Duconge J, Castillo R, et al. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamic of two recombinant human interferon alpha 2b formulations intramuscularly in healthy male volunteers. *Biotecnología aplicada*. 2000; 17: 166-170.
236. Isaacs A. Interferon, in *Advances in Virus Research* (Smith KM, Lauffer MA, eds). Academic Press, Inc., New York. 1963: 1-35.
237. Baron S. Mechanism of recovery from viral infection, in *Advances in Virus Research* (Smith KM, Lauffer MA, eds). Academic Press, Inc., New York. 1963: 39-64.
238. Sato M, Suemori H, Hata N. Distinct and essential roles of transcription factors IRF-3 and IRF-7 in response to viruses for IFN-alpha/beta gene induction. *Immunity*. 2000; 13, 539-48.
239. Maher SG, Sheikh F, Scarzello AJ, Romero-Weaver AL, Baker DP, Donnelly RP, et al. IFN α and IFN β differ in their antiproliferative effects and duration of JAK/STAT signaling activity *Cancer Biol. Ther.* 2008; 7: 1109-15.
240. Wells V, Malluci L, Expression of the 2-5A during the cell cycle. *Exp Cell Res* 1985; 159:27.
241. Samuel CE. Antiviral actions of interferon; interferon – regulated cellular proteins and their surprisingly selective antiviral activities. *Virology* 1991; 183: 1-4.

242. Brito PI, Betancourt RY, Valenzuela SC, López SP. Experiencia con las reacciones adversas asociadas con el interferón alfa 2b recombinante en hematología. *Rev Cubana Farm* 2005; 39(2): 14-6.
243. Balkwill F, Taylor-Papadimitriou J. Interferon affects both G1 and S+ G2 in cells stimulated from quiescence to growth. *Nature*. 1978; 274: 798–800.
244. Subramaniam PS, Cruz PE, Hobeika AC, Johnson HM. Type I interferon induction of the Cdk-inhibitor p21 WAF1 is accompanied by order G1 arrest, differentiation and apoptosis of the Daudi B-cell line. *Oncogene*. 1998; 16: 1885–90.
245. Chawla-Sarkar M, Lindner DJ, Liu YF. Apoptosis and interferons: role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis. *Apoptosis*. 2003; 8: 237–49.
246. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N. Engl. J. Med*. 1995; 333: 1757–63.
247. Izawa JI, Sweeney P, Perrotte P. Inhibition of tumorigenicity and metastasis of human bladder cancer growing in athymic mice by interferonbeta gene therapy results partially from various antiangiogenic effects including endothelial cell apoptosis. *Clin. Cancer Res*. 2002; 8: 1258–70.
248. Johnson HM, Baron S. The nature of the suppressive effect of interferon and interferon inducers on the in vitro immune response. *Cell Immunol*. 1976; 25: 106–15.
249. Betancourt BY, Valenzuela C, López-Saura P. Adverse reactions associated with Heberon alpha R. *Biotechnología Aplicada*. 2001; 18(número especial):E87.
250. Fontana RJ. Neuropsychiatric toxicity of antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Dig Dis*. 2000; 18(3):107-16.

251. Alfonso-Trujillo I, Collazo CS, Rodríguez GMA, Arteaga HE, Blanco GO, Arguello MJ. Liquen plano lineal secundario a Interferón alfa recombinante. *Dermatología Peruana* 2008; 18(4):350-3.
252. Friedman-Kien AE, Eron LJ, Conant M, Growdon W, Badiak H, Bradstreet PW, et al. Natural interferon alfa for treatment of condylomata acuminata. *JAMA* 1988; 259:533-8.
253. Petersen CS, Bjerring P, Larsen J, Blaakxr J, Hagdrup H, From E, et al. Systemic interferon alpha-2b increases the cure rate in laser treated patients with multiple persistent genital warts: a placebo-controlled study. *Genitourin Med* 1991; 67:99-102.
254. Reid R, Greenberg MD, Pizzuti DJ, Omoto KH, Rutledge LH, Soo W. Superficial laser vulvectomy. V. Surgical debulking is enhanced by adjuvant systemic interferon. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 815–20.
255. Shimomaye S. Recent Developments in the Treatment of Human Papillomavirus. *WJM*. 1994; 160(4):365-6.
256. Fleshner PR, Freilich MI. Adjuvant interferon for anal condyloma. A prospective, randomized trial. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 1255–9.
257. Cardamakis E, Kotoulas IG, Metalinos K, et al. Treatment of urethral condylomata acuminata or flat condylomata with interferon-alpha 2a. *J Urol*. 1994; 152: 2011–3.
258. Cardamakis EK, Kotoulas IG, Relakis K. Comparative study of systemic interferon alfa-2a plus isotretinoin versus isotretinoin in the treatment of recurrent condiloma acuminatum in men. *Urology* 1995; 45: 857–60.
259. Cardamakis EK, Kotoulas IG, Dimopoulos DP, Stathopoulos EN, Michopoulos JT, Tzingounis VA. Comparative study of systemic interferon alfa-2a with oral

- isotretinoin and oral isotretinoin alone in the treatment of recurrent condylomata acuminata. *Arch Gynecol Obstet* 1996; 258: 35–41.
260. Gross G, Roussaki A, Baur S, Wiegand M, Mescheder A. Systemically administered interferon alfa-2a prevents recurrence of condylomata acuminata following CO₂-laser ablation. The influence of the cyclic low-dose therapy regimen. Results of a multicentre double-blind placebocontrolled clinical trial. *Genitourin Med* 1996; 72: 71.
261. Relakis K, Cardamakis E, Korantzis A. Treatment of men with flat (FC) or acuminata (CA) condylomata with interferon alpha-2a. *Eur J Gynaecol Oncol* 1996; 17: 529–33.
262. Syed TA, Lundin S, Ahmad SA. Human leukocyte interferon-alpha for 3day against 4 day in 150 patient of condylomata acuminata in women. A placebo-controlled, double-blind study. *Dermatology* 1994; 189: 142–5.
263. Syed TA, Cheema KM, Khayyami M, Ahmad SA, Ahmad SH, Ahmad S. Human leukocyte interferon-alpha versus podophyllotoxin in cream for the treatment of genital warts in males. A placebo-controlled, double-blind, comparative study. *Dermatology* 1995; 191: 129–32.
264. Syed TA, Khayyami M, Kriz D, Svanberg K, Kahlon RC, Ahmad SA. Management of genital warts in women with human leukocyte interferon-alpha vs. podophyllotoxin in cream: a placebo-controlled, double-blind, comparative study. *J Mol Med* 1995; 73: 255–8.
265. Syed TA, Ahmadpour OA. Human leukocyte derived interferon-alpha in a hydrophilic gel for the treatment of intravaginal warts in women: a placebo-controlled, double-blind study. *Int J STD AIDS* 1998; 9: 769–72.

266. Yildirim M, Inaloz HS, Baysal V, Kesici D, Candir O. A case of condyloma acuminatum treated successfully with low-dose isotretinoin and interferon. *Int J Clin Pract.* 2004; 58(9):889–91.
267. Scheinfeld N, Lehman DS. An evidence-based review of medical and surgical treatment of genital warts. *Dermatol Outline J.* 2006; 12: 5.
268. Friedman RM. Clinical uses of interferons. *Br J Clin Pharmacol.* 2007; 65(2): 158–62.
269. Tindle RW, Frazer IH. Immune response to human papillomaviruses and the prospects for human papillomavirus-specific immunisation. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1994; 186:217-53.
270. Hauer-Jensen M. Herramienta informática 2N para el cálculo o aleatorización de la muestra desarrollado por la universidad de ciencias médicas de Arkansas. 2009. Disponible en www.uark.edu.
271. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gotzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 Explanation and Elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* 2010; 340:c869 doi: 10.1136/bmj.c869.
272. Smiles KA, Peets EA, Tanner DJ. Treatment of genital warts with a combination of liquid nitrogen and recombinant DNA human alpha interferon. Treatment of genital warts with a combination of liquid nitrogen and recombinant DNA human alpha interferon. 1990. Available in: http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?IA=WO1990004977&wo=190004977&DI_SPLAY=DESC.
273. Handley JM, Homer T, Maw RD, Lawther H, Dinsmore WW. Subcutaneous interferon alpha 2a combined with cryotherapy vs cryotherapy alone in the

treatment of primary anogenital warts: a randomised observer blind placebo controlled study. *Genitourin Med* 1991; 67: 297-302.

274. Eron JL, Alder MB, O'Rourke JM, Rittweger K, DePamphilis J, Pizzuti DJ. Recurrence of condylomata acuminata following cryotherapy is not prevented by systemically administered interferon. *Genitourin Med* 1993; 69:91-3.
275. Bonnez W, Oakes D, Bailey-Farchione A, Choi A, Hallahan D, Corey L, et al. A randomized, double-blind trial of parenteral low dose versus high dose interferon-b in combination with cryotherapy for treatment of condyloma acuminatum. *Antiviral Research*.1997 (35): 41–52.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado para participar en el ensayo Clínico.

El (A) que suscribe,

está de acuerdo con participar en el siguiente ensayo clínico “Interferón alfa recombinante subcutáneo asociado a criocirugía en el condiloma acuminado”. Para brindar este consentimiento he recibido una explicación amplia de mi médico el (la) Dr.

(a): _____ quien me ha informado que:

1. Mi enfermedad ha sido diagnosticada como condiloma acuminado, enfermedad que consiste en lesiones de tipo verrugosa en genitales, producida por la infección por virus del tipo papiloma en el área genital, la cual evoluciona con frecuentes recaídas.
2. Los tratamientos disponibles para estas lesiones consisten en la aplicación de productos irritantes como la podofilina, ácido tricloroacético y otros como 5 fluoracilo, electrofulguración. Estos tratamientos pueden eliminar las lesiones pero generalmente éstas se reproducen de nuevo ya que no tienen efecto sobre el virus que la produce.
3. La criocirugía en esta enfermedad constituye, en la actualidad, un tratamiento reconocido, destruye las lesiones, pero en ocasiones existen recidivas. En este estudio se propone evaluar el efecto de la criocirugía asociado a interferón alfa recombinante.
4. El uso del interferón en esta enfermedad constituye, en la actualidad, un tratamiento reconocido, pues representa una aplicación registrada para este producto. Se suele emplear inyectado o combinando la crema con las inyecciones. En este estudio se propone evaluar el efecto del interferón por vía subcutánea asociado a criocirugía

5. Con la unión de ambas terapéuticas (criocirugía e interferón alfa recombinante, subcutáneo) se aprovecharía el gran efecto destructivo de las lesiones de la criocirugía y el poder antiviral e inmunomodulador del interferón.
6. Como consecuencia de este padecimiento puedo evolucionar hacia formas más graves, la introducción de este tratamiento en estudio puede mejorar la evolución de la enfermedad.
7. Se me ha informado que el objetivo de este estudio es definir parámetros de respuesta biológica y la eficacia y seguridad terapéutica de la criocirugía asociada a interferón alfa.
8. Que podré pertenecer al primer grupo de tratamiento que recibirá criocirugía de las lesiones cada 15 días durante 6 semanas, asociada a una aplicación por vía intramuscular 3 veces por semana de 3×10^6 UI de interferón durante 6 semanas, o al segundo grupo que recibirá solamente criocirugía de las lesiones cada 15 días durante 6 semanas
9. Que mi asignación a un grupo de tratamiento es totalmente al azar y que de cualquier forma podré recibir beneficios con la terapia indicada.
10. Que en todo momento conoceré el esquema de tratamiento bajo el cual me encuentro.
11. El uso de la criocirugía me puede producir ardor y dolor en el momento de la aplicación y edema o ampollas en el área tratada de pocos días de duración.
12. El uso de interferón me puede provocar efectos secundarios adversos como: fiebre, malestar general, artralgias y mialgias que usualmente desaparecen en las primeras semanas. Se tomarán las medidas para que estos efectos sean mínimos, incluyendo la suspensión total del tratamiento si es necesario.
13. Que las evaluaciones clínicas se realizarán antes del tratamiento y dos semanas después de que finalice el mismo.

14. Para cumplir el protocolo es necesario tomarme una muestra de sangre inicial, otra final del tratamiento y en cada consulta de seguimiento trimestral para la realización de diferentes exámenes de laboratorio.
15. Para cumplir el protocolo es necesario tomarme una fotografía inicial de las lesiones, otra final del tratamiento y en cada consulta de seguimiento trimestral para la preservar la evidencia clínica de la evolución.
16. Se mantendrá la confidencialidad de mis datos personales.
17. Se me ha explicado claramente y he comprendido los objetivos de este trabajo, así como en qué consiste el tratamiento y los procedimientos médicos.
18. Mi consentimiento con participar en el protocolo es absolutamente voluntario y el hecho de no aceptar no tendría ninguna consecuencia sobre mis relaciones con el médico o el hospital, los que me seguirán atendiendo según las normas de conducta habituales en esa institución y nuestra sociedad, donde tendré el mismo derecho a recibir el máximo de posibilidades de atención.
19. En cualquier momento puedo retirarme del protocolo, sin que sea necesario explicar las causas, y esto tampoco afectará mis relaciones con los médicos o el hospital.
20. Y para que conste y por mi libre voluntad, firmo el presente consentimiento, junto con el médico que me ha dado las explicaciones, a los ____ días del mes de ____ del 20____.

Paciente

Nombre: _____

Firma: _____

Testigo Nombre: _____

Médico

Nombre: _____

Firma: _____

Firma: _____

Anexo 2. Modelo de atención ginecológica.

| | | | |
|----------------------|---------------|---------------|------------|
| Nombre paciente | 1er. Apellido | 2do. Apellido | H. Clínica |
| | | | |
| Dirección particular | | | Barrio |
| | | | |
| Municipio | Provincia | Teléfono | Ocupación |
| | | | |

Examen Físico Ginecológico:

Presencia de verrugas en genitales internos: SI: _____ NO: _____

Prueba Citológica:

Evidencias citológicas de inclusiones virales: SI: _____ NO: _____

| | | | |
|--------------------------|---------------|---------------|---------------------------|
| Nombre del Médico | 1er. Apellido | 2do. Apellido | # de registro profesional |
| | | | |
| Institución donde labora | | | |
| | | | |

Firma, cuño médico y de la institución donde labora.

Anexo 3. Tarjeta de cumplimiento del tratamiento

Los pacientes incluidos en el estudio serán tratados durante 6 semanas, según corresponda en la lista aleatoria, por asignación aleatoria a 2 grupos de tratamiento de igual número de pacientes cada uno.

| Grupo | Intervención | Dosis y vía de administración | Frecuencia | Duración |
|-------|--------------------|-----------------------------------|----------------|-----------|
| 1 | Interferón alfa-2b | 3 x 10 ⁶ UI subcutáneo | 3 veces/semana | 6 semanas |
| | Criocirugía | Dos aplicaciones por lesión** | Cada 15 días | |
| 2 | Criocirugía | Dos aplicaciones por lesión** | Cada 15 días | |

*El bulbo de interferón líquido será usado sin agitarse ni formar espuma, no es necesario diluirlo. Se usará la técnica convencional para las inyecciones subcutáneas con una jeringuilla de 1mL y aguja No. 26. Se pueden rotar los sitios de aplicación al igual que la insulina.

**La criocirugía será aplicada con un aplicador con punta de algodón con diámetro similar al tamaño de la lesión. Se realizará el tratamiento para cada lesión en dependencia del número de lesiones que presente el paciente, sin pasar de 10 lesiones por consulta.

Paciente: _____ Grupo de tratamiento: _____

| No. | Fecha | Hora | Institución donde se administró el producto | Medicamento administrado | Firma de la enfermera o el médico |
|-----|-----------------|------|---|--------------------------|-----------------------------------|
| 1 | I I I I I I I I | | | | |
| 2 | I I I I I I I I | | | | |
| 3 | I I I I I I I I | | | | |
| 4 | I I I I I I I I | | | | |

| | | | | | |
|----|-----------------|--|--|--|--|
| 5 | I I II I II I I | | | | |
| 6 | I I II I II I I | | | | |
| 7 | I I II I II I I | | | | |
| 8 | I I II I II I I | | | | |
| 9 | I I II I II I I | | | | |
| 10 | I I II I II I I | | | | |
| 11 | I I II I II I I | | | | |
| 12 | I I II I II I I | | | | |
| 13 | I I II I II I I | | | | |
| 14 | I I II I II I I | | | | |
| 15 | I I II I II I I | | | | |
| 16 | I I II I II I I | | | | |
| 17 | I I II I II I I | | | | |
| 18 | I I II I II I I | | | | |

Dr. Responsable: Dr. Israel Alfonso Trujillo

OBSERVACIONES: _____

Anexo 4. Comunicación al área de salud de un paciente en ensayo clínico.

Fecha: ____ de ____ de ____

Compañero Médico de la Familia/Director del Policlínico _____

Estimado Colega:

Se ha iniciado el siguiente ensayo clínico: DINAMIC-II. “Terapia combinada de criocirugía e interferón alfa 2b humano recombinante en el condiloma acuminado”.

Para el desarrollo de ésta investigación es necesario mantener la atención especializada por un período de 8 semanas a los pacientes incluidos en el estudio, de forma ambulatoria. Los mismos fueron previamente informados de las características del mismo y se incluyeron después de su aprobación escrita. En este estudio los pacientes pueden haber recibido alguno de los siguientes tratamientos:

- **Grupo I:** El tratamiento consiste en la administración subcutánea 3 veces a la semana de 3×10^6 UI de interferón alfa-2b humano recombinante en su formulación líquida si albúmina, asociado a la aplicación de criocirugía de las lesiones cada 15 días.
- **Grupo II:** El tratamiento consiste en la aplicación de criocirugía de las lesiones cada 15 días

La duración del tratamiento es la misma para ambos grupos (6 semanas).

Los pacientes a los que se les corresponda administrarse interferón tendrán en su poder una tarjeta de cumplimiento del tratamiento que explica el esquema terapéutico para que pueda ser administrado por cualquier enfermera en funciones.

Estos pacientes, después del período de tratamiento a ensayar, requerirán el control estricto y la dispensación por su área de atención. El seguimiento de estos pacientes

también constituye objetivo de interés, siendo necesaria la evaluación a los 3, 6 y 12 meses de haber concluido el tratamiento.

Estando consciente del papel tan importante que juega el nivel de atención primaria en el Sistema Nacional de Salud, hacemos de su conocimiento el estudio que estamos realizando con el paciente: que reside en:

Teléfonos: _____

Rogamos a Ud. se mantenga al tanto de la asistencia del paciente a la realización de las evaluaciones de seguimiento previstas, así como del cumplimiento del tratamiento.

En caso de cualquier duda comunicarse con:

Nombre del médico: Dr. Israel Alfonso Trujillo

Hospital: Hermanos Ameijeiras Teléfonos: 8761000 ext. 1300, 1301, 5121

Esperamos su cooperación,

Dr. Pedro Antonio López Saura.

Dto. De Regulaciones y Ensayos Clínicos, CIGB