



112361
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIDADES MÉDICAS

Instituto Mexicano del Seguro Social
Centro Médico Nacional Siglo XXI
Hospital de Cardiología

Factor de transferencia en el tratamiento de
pacientes con neuralgia postherpética y
herpes zoster: participación de beta endorfinas.

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MÉDICO ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTA:

DRA. LETICIA PIEDRAS REYES

ASESORES:

Dr. Rudyard Cortez Gómez
Dr. Sergio Estrada Parra
DC. Patricia Guevara Salazar
Dra. Reyna Gabriela Sánchez Barrera

Profesor Titular del curso
Dra. Rosa María García Escamilla

MÉXICO, D. F. FEBRERO 2004





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Dr. Rubén Argüero Sánchez
Director del Hospital de Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Dr. Juan Carlos Necochea Alva
Jefe de la División de Investigación y Enseñanza
Hospital de Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Dra. Rosa María García Escamilla
Titular del curso de posgrado en Patología Clínica
Hospital de Cardiología
Centro Médico Nacional Siglo XXI



Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Pedro Reyes Leizaola

FECHA: 04 - febrero - 04

FIRMA:

Agradecimientos

A mi familia (Luisa , Guillermo, Jorge, Cristina, Guillermo, Vanesa, Cintia, Cipriano)

A mis amigos y compañeros

A mis asesores y personas que intervinieron en la realización de esta tesis .

A todas las personas que de alguna manera intervinieron en las rotaciones que tuve durante estos tres años que duró la especialidad.

ÍNDICE

| | Página |
|-------------------------------|--------|
| 1- Antecedentes | 1 |
| 2- Justificación | 8 |
| 3- Planteamiento del problema | 8 |
| 4- Objetivos | 9 |
| 5- Criterios | 10 |
| 6- Variables | 11 |
| 7- Material y métodos | 12 |
| 8- Resultados | 13 |
| 9- Discusión | 19 |
| 10- Referencias | 23 |

ANTECEDENTES

Tratamiento de herpes zoster y neuralgia postherpética con factor de transferencia.

De la enorme diversidad de virus existentes en la naturaleza, solo un número reducido es patógeno para el ser humano, el desarrollo de infecciones con importancia clínica depende de la interacción hospedero-parásito, determinada por la respuesta inmunitaria innata y adaptativa del hospedero, así como los mecanismos patogénicos del virus y su capacidad para evadir dicha respuesta inmunitaria.⁽¹⁾

Los mecanismos inmunológicos que participan en el control de las infecciones virales pueden ser clasificados como innatos y adaptativos. De los primeros destacan los interferones tipo I y las células asesinas naturales (NK), los cuales participan en las etapas iniciales de la interacción entre los virus y el hospedero, mientras que las respuestas adaptativas humoral (anticuerpos neutralizantes, opsonización, activación del complemento) y celular requieren de mayor tiempo para establecerse, pero son más efectivas para el control de la replicación viral. De los mecanismos inmunológicos responsables del control de las infecciones virales, el más importante es la respuesta adaptativa celular, cuyas células efectoras son los linfocitos T citotóxicos.^(1,2,3)

Las respuestas inmunitarias adaptativas tienen ciertas características generales, entre las que destacan la especificidad, diversidad y memoria, así como la posibilidad de ser *transferidas* de un individuo a otro. Las respuestas inmunitarias humorales dependen de anticuerpos, producidos por linfocitos B y pueden ser transferidas de un individuo inmunizado a otro no inmunizado mediante por medio del suero del primero, mientras que las respuestas inmunitarias celulares son transferibles mediante la inyección de leucocitos del individuo inmunizado, lo cual se puede demostrar experimentalmente en modelos de animales singénicos, pero está enormemente limitado para su utilización clínica debido al rechazo de dichas células por el receptor hacia el donador y viceversa. De hecho, los productos sanguíneos utilizados actualmente para las

transfusiones deben ser depletados de leucocitos para evitar los efectos adversos ocasionados en el receptor. ^(2,3)

En la década de 1940 Landstainer y Chase describieron por primera vez la capacidad inmunomoduladora de la transfusión sanguínea, caracterizada por transferencia de respuestas celulares específicas en receptores no inmunizados transfundidos con sangre de donadores inmunizados. ^(4,5)

En la década de 1950, ^(6,7,8) el Dr. Sherwood Lawrence descubrió que para transferir respuestas de hipersensibilidad tardía específica para ciertos antígenos de un individuo a otro no es indispensable la utilización de leucocitos completos y describe un extracto dializable con esta capacidad obtenido a partir de los linfocitos al cual denominó *Factor de Transferencia* (FT). Aunque la estructura del FT no está totalmente caracterizada, se sabe que su PM es de 4000 a 6000 daltons, es resistente a diversas enzimas como las nucleasas (RNAasa, DNasa), tripsina, quimotripsina y aminopeptidasa, mientras que es sensible a proteasas (carboxipeptidasa A y proteasa K). Recientemente se ha caracterizado una secuencia polipeptídica común (LLYAQDL/VEDN) capaz de inhibir respuestas específicas de hipersensibilidad retardada previamente adquiridas en animales receptores de FT, pero incapaz de transferir dichas respuestas específicas, lo que sugiere que esta secuencia es parte de una estructura conservada común a las moléculas de FT, las cuales deben presentar regiones variables con especificidad para una enorme variedad de antígenos. ⁽⁷⁾ El FT tiene la propiedad de transferir de un individuo a otras respuestas específicas de hipersensibilidad tardía, *in vitro* aumenta la proliferación de linfocitos y estimula la producción de linfocinas como el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF). ^(6, Estrada, P S y cols trabajo no publicado)

El FT se ha utilizado en el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas virales como la hepatitis B y C, papilomatosis laríngea ⁽³⁾, así como en otras enfermedades infecciosas no virales

con defectos inmunológicos celulares como la tuberculosis y la leishmaniasis . De los padecimientos virales en los que se ha utilizado el FT destacan las infecciones causadas por el Virus Varicela Zoster (VVZ), como son la varicela (incluso casos graves en pacientes con leucemia aguda)^(11,12) y el herpes zoster ^(8,9). Ha demostrado utilidad como inmunomodulador también en enfermedades no infecciosas como en ciertos padecimientos alérgicos (asma bronquial y dermatitis atópica) ^(10,13), enfermedades neoplásicas, lupus eritematoso. El factor de transferencia puede administrarse por vía oral, subcutánea, intramuscular e incluso intravenosa y no se han reportado hasta ahora efectos colaterales en los pacientes en los que se ha utilizado⁽³⁾.

El Virus Varicela Zoster (VVZ) es un virus DNA y pertenece a la familia de los herpesvirus .Se reconocen dos entidades clínicas producidas por el VVZ: la varicela y el **Herpes Zoster (HZ)**. La varicela es una enfermedad infecto-contagiosa usualmente benigna, afecta principalmente a niños y se caracteriza por un exantema vesicular que evoluciona a pústulas y costras, cura espontáneamente sin dejar secuelas en la mayoría de los casos ⁽⁹⁾.Después de la infección primaria el virus puede alojarse en forma latente en las neuronas de los ganglios nerviosos. En ciertas circunstancias que dependen de la relación entre el virus y el hospedero puede haber nuevamente replicación viral con daño neurológico periférico, generalmente de una sola rama nerviosa y se manifiesta como herpes zoster.⁽¹⁴⁾

El **HZ** es una enfermedad esporádica que se debe a la reactivación del VVZ latente en ganglios dorsales ^(8,15,16). La incidencia HZ es de 1.5 a 3 casos por 1000 personas con antecedente de varicela en E. U. con un riesgo estimado de 10-20%, a nivel mundial la incidencia reportada es de 2.0 x 1000 personas ^(15,17). Pude ocurrir a cualquier edad, pero la mayor frecuencia se observa en la 6ª década de la vida, aproximadamente 2% de los pacientes con HZ desarrollan un segundo episodio. Inicia con dolor, seguido de exantema vesicular eritematoso unilateral a nivel del mismo dermatoma , puede haber fiebre por 3 a 5 días, el cuadro dura de 7 a 10 días pero puede

prolongarse por 2-4 semanas. La complicación más importante del HZ tanto en el huésped normal como en el inmunocomprometido (VIH, enfermedad de Hodgkin y linfomas no Hodgkin)⁶ es el dolor asociado a neuritis aguda y **Neuralgia Postherpética (NPH)** que se define como el **dolor** que persiste por más de 30 días a nivel de una área de uno o más dermatomas asociado a la inflamación del nervio correspondiente en pacientes que previamente presentaron un cuadro de HZ. Esta secuela es más común en mayores de 50 años y ocurre en 9-19% de todos los casos de HZ^(14,17). El HZ en su forma aguda tiene buena respuesta con diversos antivirales, de los cuales el prototipo es el aciclovir ^(8,9), con resultados satisfactorios, pero muchas veces con evolución a neuralgia postherpética, para tratar esta complicación se han utilizado diversos tratamientos, algunos tópicos y otros por vía oral (antidepresivos, gabapentina, tramadol, corticoesteroides) ^(14,18) entre otros, la mayoría de ellos con resultados pobres y un alto costo. El grupo del Dr. Estrada-Parra y colaboradores ha utilizado el FT como una alternativa con buenos resultados en herpes zoster, en donde se observa una resolución más temprana de la infección con una proporción menor de neuralgia postherpética como secuela ^(8,9) y en neuralgia postherpética, situación en la cual se logró mejoría del dolor en más del 90% de los pacientes estudiados ^(Ondarza A.R y cols no publicado)

Dolor y péptidos opiáceos endógenos.

El **dolor** es un síntoma que está presente en una gran cantidad de entidades clínicas, se puede definir como: una sensación desagradable, displacentera consecuencia de diferentes estímulos nociceptivos procedentes de una o varias áreas u órganos corporales, asociada a daño tisular real o potencial. La percepción tiene un sustrato orgánico, que conduce el estímulo doloroso desde el lugar de actuación o receptor hasta los centros cerebrales superiores ^(19,20, Díez R.A no publicado) En este proceso participan: fibras nerviosas aferentes, vías ascendentes, centros nerviosos superiores y *receptores* (unidades funcionales del sistema nervioso periférico encargadas de captar los

estímulos sensoriales). Se conocen 3 receptores opiodes importantes: m (mu), k (kappa) y d (delta).⁽²¹⁾ El dolor se clasifica en base a su duración en: *agudo y crónico*, en cuanto a su procedencia puede ser: *periférico, central y psicógeno*. Al ser una manifestación clínica que el observador es incapaz de apreciar directamente, para el diagnóstico se puede: a) conseguir información subjetiva por manifestaciones verbales o escritas, b) observar la conducta con indicadores como agitación, intranquilidad, nerviosismo, gestos, llanto, etc., c) medirlo con instrumentos de las respuestas autonómicas (tensión arterial, frecuencia cardíaca y respiratoria) y d) evaluarlo por medio de *escalas* que ayudan a determinar el grado de dolor o incapacidad en un individuo. Este último sistema es muy útil para medir el dolor en diferentes momentos o bajo diferentes circunstancias en un mismo sujeto, pero no compara la gravedad de la afección entre distintas personas.⁽¹⁹⁾

Escala análogo-visual: en esta el paciente describirá su dolor sobre una línea de 10 centímetros dividida en milímetros que vendrá delimitada en sus dos extremos por los conceptos "ningún dolor" y "máximo dolor imaginable" esta escala es un instrumento de medición del dolor sencilla y útil sobre todo en niños y personas con alguna dificultad para comunicarse (como en el postoperatorio) y para valorar el efecto de los analgésicos y o estimulación eléctrica^(9,22,23,24). Existen otras escalas útiles como son: escalas de Valoración Verbal, (escala de Grises de Luesher), valoración mediante la relación torniquete-dolor, prueba de Libman, escala de Thierry, entre otras.^(Diez R. A no publicado)

Péptidos opiáceos endógenos. Las encefalinas y endorfinas constituyen un grupo de neurotransmisores peptídicos formados por 5-31 aminoácidos que activan receptores opiáceos^(25,26). Constituyen tres familias, cada una derivada de una molécula precursora llamada pre-propéptido: a) la **proencefalina** (PENK) produce Leu-encefalina, Met-encefalina, Péptidos E, F, y B, son las más abundantes y se localizan en sistema nervioso central y sistema nervioso

periférico. B) la **prodinorfina** (PDYN), produce leu-encefalina, y péptidos que contienen la leucoencefalina, dinorfina A, B y α , β neoendorfinas, C) la **pro-piomelanocortina** (POMC) produce betalipoproteína y beta endorfinas, neuropéptidos no opioides incluyendo ACTH, alfa MSH, beta MSH, y gamma MSH. Se localizan en ganglios basales, corteza, amígdalas lóbulos anterior posterior de la pituitaria, núcleo arcuato de hipotálamo y núcleo de tracto solitario en la médula. Se piensa que la síntesis en piel de POMC es inducida por rayos ultravioleta. ⁽²⁷⁾. Los niveles de β -endorfinas de la hipófisis son los más abundantes del organismo. Las β -endorfinas juegan un papel importante en el alivio del dolor y la generación de bienestar al elevar el umbral del dolor. Algunas regiones del SNC que se asocian al sistema límbico contienen β -endorfinas inmunorreactivas, lo que sugiere que participan en procesos de memoria, aprendizaje y emoción. ^(25,27) En un estudio realizado en pacientes con prostatitis crónica asintomáticos, el nivel de β -endorfinas y prostaglandinas E2 fue mas alto que en los controles, sin embargo en pacientes sintomáticos el nivel de prostaglandina E2 fue alto y el de β -endorfinas bajo y los autores sugieren que los agentes terapéuticos que incrementan el nivel de β -endorfinas y disminuyen los de prostaglandinas al disminuir el estrés oxidativo, disminuyendo en parte el dolor ⁽²⁸⁾. En otro estudio se demostró que los pacientes que se sometieron a electroestimulación transcraneal como método no farmacológico para el alivio del dolor mostraron niveles elevados de β -endorfinas ⁽²⁹⁾. Se han determinado Niveles bajos de β -endorfinas en pacientes con síndrome de fatiga crónica y en la fase lútea y folicular del ciclo menstrual en mujeres con desórdenes premenstruales y un umbral bajo al dolor comparadas con mujeres sin este tipo de alteraciones. ⁽³⁰⁾

Dolor y sistema inmunológico

Existe enorme evidencia de la participación del sistema inmunológico en el control del dolor. La inmunosupresión inducida en animales mediante ciclosporina A o irradiación corporal total inhibe la generación de analgesia endógena y exacerba el dolor.^(31,32) Por otro lado, la estimulación local de células inmunológicas en tejido celular subcutáneo mediante IL-1 beta o factor liberador de corticotropina (CRH) reduce el dolor mediante interacción de estas células con los nervios periféricos sensitivos.^(33,34) Los linfocitos y otras células del sistema inmunológico que residen en tejido inflamado contienen péptidos opiáceos y aparentemente pueden ser secretados y activar receptores opiodes en neuronas sensitivas.^(31,32)

Cabot et al. reportaron una expresión aumentada de mRNA de beta-endorfinas en linfocitos obtenidos del cojinete plantar inflamado en ratas con disminución del dolor, efecto revertido al inyectar simultáneamente antisuero anti beta-endorfinas, comparan esta expresión de mRNA con la de linfocitos periféricos y linfocitos de ganglios linfáticos locales y sugieren que algunos linfocitos que expresan beta-endorfinas realizan *homing* desde la circulación periférica hacia el tejido inflamado en donde secretan este péptido y posteriormente migran hacia los ganglios linfáticos.⁽²⁵⁾ Rittner et al describen el tipo de leucocitos productores de péptidos opiáceos en relación al tiempo de inflamación, siendo al inicio un 66% de granulocitos, mientras que en estadios posteriores del proceso inflamatorio (96 horas) 73% de las células son monocitos y macrófagos.⁽²⁶⁾

JUSTIFICACION

- 1) El sistema inmunológico forma parte de un sistema homeostático superior que incluye al sistema nervioso y al sistema endocrinológico, denominado sistema psico-neuro-inmuno-endocrinológico
- 2) Las beta-endorfinas son péptidos que elevan el umbral del dolor en varias condiciones fisiológicas y patológicas.
- 3) Muchas células del sistema inmunológico son capaces de producir mediadores opiáceos (incluyendo beta-endorfinas) en sitios de inflamación ejerciendo un efecto antinociceptivo local sobre terminaciones nerviosas sensitivas periféricas.
- 4) El factor de transferencia es capaz de inducir respuestas inmunológicas de tipo celular específicas en sujetos receptores, ha demostrado efectividad en un gran número de padecimientos virales y es particularmente útil para el tratamiento de infecciones causadas por el virus Varicela-Zoster.
- 5) En un estudio realizado por el Dr. Ondarza *et al* se utilizó para tratar la neuralgia postherpética observándose una mejoría clínica representada por alivio del dolor hasta en un 90% de los pacientes, sin embargo no se conoce el mecanismo ni los mediadores que están involucrados en este efecto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Se modifican los niveles de las beta endorfinas en los pacientes con herpes zoster y pacientes con neuralgia postherpética tratados con FT que presentan disminución del dolor ?

OBJETIVOS

Objetivo general: Determinar si existe modificación en el nivel de las β -endorfinas en la disminución del dolor observada en pacientes con herpes zoster y pacientes con neuralgia postherpética tratados con FT.

Objetivos específicos:

- 1) Evaluar si existe mejoría clínica en los pacientes con herpes zoster y neuralgia postherpética tratados con FT mediante escalas el dolor.
- 2) En caso de lograr mejoría clínica del dolor en los pacientes con herpes zoster y neuralgia postherpética tratados con FT, observar si esta guarda alguna **correlación significativa** con los niveles plasmáticos de β -endorfinas.

HIPOTESIS

Hipótesis alterna H1: La mejoría clínica observada en los pacientes con herpes zoster y pacientes con neuralgia postherpética, tratados con factor de transferencia presenta una correlación significativa con cambios en los niveles de β -endorfinas plasmáticas.

Hipótesis nula Ho: La disminución del dolor observada en los pacientes con herpes zoster y pacientes con neuralgia postherpética tratados con FT es independiente de los niveles de β -endorfinas plasmáticas.

TIPO DE ESTUDIO. Estudio clínico descriptivo, prospectivo.

UNIVERSO DE TRABAJO. Pacientes que acudieron a la consulta en el departamento de Inmunología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, durante los meses de julio a septiembre del 2003.

SELECCIÓN DE LA MUESTRA. Se realizó un muestreo no probabilístico de casos consecutivos en pacientes con diagnóstico de Neuralgia Postherpética y en pacientes con Herpes Zoster Agudo, que cumplieron los criterios de inclusión y aceptaron participar en el estudio.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1. Pacientes con neuralgia postherpética y pacientes con herpes zoster de localización en cualquier dermatoma.
2. Con o sin tratamiento previo.
3. Pacientes con neuralgia postherpética independientemente de que hayan presentado reactivación aguda en algún momento de la evolución.
4. Género indistinto.
5. Pacientes que firmaron consentimiento informado.^(anexo1)

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN.

1. Pacientes con herpes zoster oftálmico o neuralgia postherpética oftálmica
2. Pacientes diabéticos
3. Pacientes con afectación de más de un dermatoma.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

1. Abandono del tratamiento o del seguimiento
2. Pérdida de la muestra biológica

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis se realizó por medio de estadística descriptiva (variables cuantitativas con distribución normal media como medida de tendencia central con desviación estándar y rangos como medidas de dispersión y para aquellas de distribución asimétrica mediana y rango respectivamente). Estadística analítica utilizando prueba de rangos de *Wilcoxon* para comparación de dos medias de grupos dependientes; prueba de *Kruskal-Wallis* para comparación de tres medias de grupos independientes y *Rho de Spearman* para correlación.

IDENTIFICACION DE VARIABLES

A. Variables.

A.1. Independientes.

A.1.1. Tratamiento con Factor de Transferencia

A.2. Dependientes.

A.2.1 Nivel plasmático de β -endorfinas

A.2.1 Dolor

A.3. De control. El paciente será el mismo control evaluando los resultados pre y postratamiento.

B. Descripción operacional de las variables.

B.1. Tratamiento con factor de transferencia: Es la administración de FT por vía oral con las siguientes dosis: una unidad diario durante 7 días en los pacientes con HZ y posteriormente una unidad cada 4 días por 5 dosis y en los pacientes con NPH una unidad de FT diario por 10 días y posteriormente una unidad dos veces por semana durante tres meses.

B.2. Escala análogo visual. Es una línea de 10 centímetros que vendrá delimitada en sus dos extremos por los conceptos "ningún dolor" y "máximo dolor imaginable" en esta el paciente delimitara su dolor.

C.1. Nivel de beta endorfinas: cantidad de beta endorfinas por $\eta\text{g} / \text{mL}$ plasma determinadas por HPLC.

C.2. Diagnóstico de Neuralgia postherpética. Dolor que se presenta después de 30 días a nivel de un dermatoma en los pacientes que presentaron previamente un cuadro de herpes zoster agudo.

CONSIDERACIONES ÉTICAS.

La realización del estudio no modifica el tratamiento establecido a los pacientes y se solicita carta de consentimiento informado considerando la toma de muestra biológica.

El presente anteproyecto se sometió a revisión y aprobación del comité local de ética.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó una historia clínica ^(anexo 2) para cada uno de los pacientes que ingresaron al estudio, la cual incluía datos generales y la localización del dermatoma afectados. Se aplicó la escala de dolor análogo visual y una toma de muestra sanguínea antes de iniciar el tratamiento (basal), se indicó el tratamiento con factor de transferencia y se citó nuevamente a cada paciente 7 días después para aplicar nuevamente la escala análogo visual del dolor y realizar la segunda toma de muestra sanguínea.

Cada muestra se colocó en un tubo previamente enfriado con hielo con anticoagulante EDTA, para la separación del plasma las muestras fueron centrifugadas a 2500g a una temperatura de 4° C durante 10 minutos, posteriormente se hicieron alícuotas en *criotubos* y se realizó inmediatamente inmersión en nitrógeno líquido para lograr su congelamiento inmediato, posteriormente se mantuvieron congeladas a -70°C hasta la determinación de niveles de β -endorfinas mediante HPLC en el Instituto Nacional de Neurología.

Proceso de purificación del plasma

Las muestras de plasma se descongelaron y se añadió 100 μ l de TFA 10% (ácido trifluoroacético) por ml de plasma, centrifugándose a 15000rpm 10minuto para precipitar proteínas, posteriormente se tomó 1ml de plasma y se colocó en cada columna Bond-Elut para eluir las β -endorfinas.

Solvatado de columnas Bond-Elut de sílica. Cada columna se solvato (lavo) 4 veces con 1 ml de ácido ortofosforico al 2% en acetonitrilo (H₃PO₄), seguido de 1ml de H₃PO₄ al 1% en agua 4 veces.

El plasma ya purificado se colocó en cada columna, la cual se volvió a lavar 2 veces con H₃PO₄ 1% en agua permitiendo fluir solo el sorbete, el volumen vacío de la columna se eluyó añadiendo

200µl de fase móvil (acetonitrilo-KH₂PO₄ a pH 2.3) recolectando de esta manera 1ml de muestra en cada tubo eppendorf.

El lavado de la bomba del cromatógrafo de luz UV (HPLC) se realizó con ácido nítrico al 3% 10 minutos , posteriormente con agua y metanol-agua.

La columna del cromatógrafo se lavo con agua de 18 M-R a flujo de 0.2 y 0.5ml por 15 minutos, con metanol-agua a flujo de 0.5ml por 2 horas.

Una vez lavado el cromatógrafo se procedió a estabilizarlo a 210nm con una sensibilidad de 0.01 en auto zero (AZ), ya estabilizado se inyectó 50µl de cada muestra, registrando la determinación en el amplificador para después hacer la conversión a ng/ml.

Estandarización y determinación de muestras.

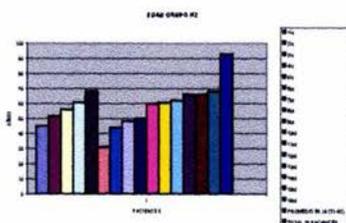
Se hicieron diversos estándares a 16,8,4,2 ng a pH diferente hasta encontrar el adecuado, el cual se obtuvo a pH de 2.79 con una concentración de 16,8 y 2 ng los cuales nos dieron un coeficiente de correlación de 0.998 ($r = 0.998$), ya estandarizada la muestra se procedió a inyectar 50µl de cada muestra registrando el tiempo de retención y el área de corrimiento a través del amplificador conectado al cromatógrafo de luz UV (HPLC).

Una vez hechas todas las determinaciones se identificó en el registro el pico de B-endorfinas y se hizo la conversión del área registrada en el tiempo de retención correspondiente a ng/ml tomando como base el estándar con un r de 0.998.

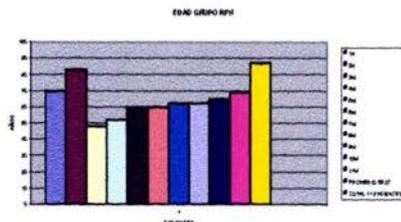
RESULTADOS

Participaron un total de 27 pacientes, 16 pacientes en el grupo de herpes zoster (HZ) y 11 en el grupo de neuralgia postherpética (NPH). El grupo HZ se constituyó por 5 hombres (31.25%) y 11 mujeres (68.75%), la edad promedio fue de 58.18 años (rango 31-93, DE=13.877) Grafica 1. El grupo NPH se constituyó por 2 hombres (18.18%) y 9 mujeres (81.81%), la edad promedio fue de 65.27 años (rango 48-87, DE=11.72). Grafica 2.

Grafica 1



Grafica 2



Grupo Herpes Zoster.

El tiempo de evolución del dolor en los pacientes con HZ fue en promedio de 12.35 días (rango 3-30) Grafica 3.

Los dermatomas afectados fueron 8 izquierdos y 8 derechos, con un predominio de pacientes con afectación de segmentos dorsales [Tabla: 1](#)

Dolor

Para el grupo HZ el grado de dolor evaluado mediante la escala análogo visual antes de tratamiento con FT presentó una mediana de 6.5 (rango 1.5-10) disminuyendo a 3.6 (rango 0.5-8), desapareciendo prácticamente en la mayoría de los pacientes a los 30 días de iniciado el tratamiento con FT (dolor promedio 0.062, rango 0.0-1.0, DE=0.25). Tabla 2 y graficas 4 y 5. Mediante una prueba de rangos de *Wicoxon* se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el nivel de dolor evaluado mediante la escala análogo visual del grupo HZ en los diferentes tiempos (dolor basal vs. dolor a los 7 días, $p=0.001$, dolor basal vs. dolor a los 30 días $p=0.0001$).

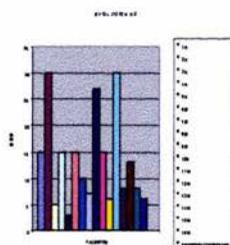
Niveles de beta-endorfinas

Para el grupo HZ los valores de beta-endorfinas obtenido mediante HPLC y expresado en nanogramos/mL presentó una mediana de 89.25 (rango 12.49-6909.0) en la determinación basal,

y a los 7 días de tratamiento con FT fue de 184.29 (rango 9.27-6819.90). Las diferencias entre los valores de beta-endorfinas entre la determinación basal y a los siete días de tratamiento mediante un análisis de Wilcoxon no fueron estadísticamente significativas ($p=0.163$). No se encontró correlación estadísticamente significativa entre los niveles de beta-endorfinas y la disminución del dolor observada a los 7 días de tratamiento (Rho de Spearman $p=0.263$). Grafica 5

Graficas Grupo Herpes Zoster

Grafica 3



Grafica 4

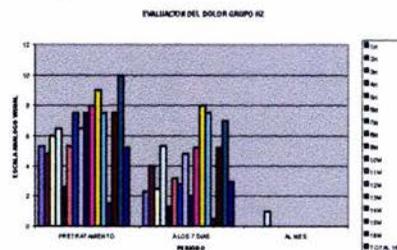


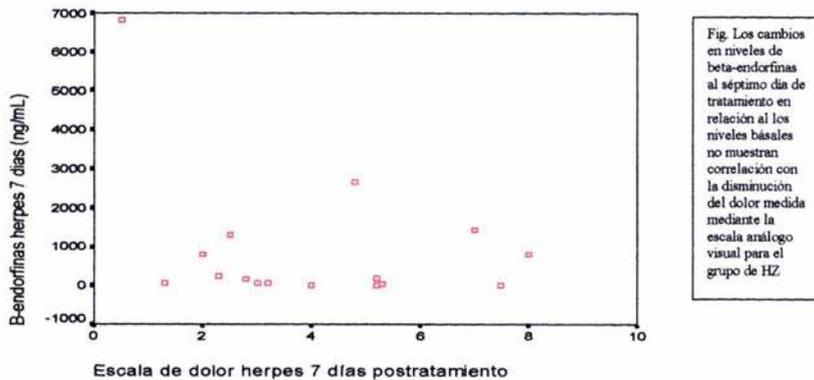
Tabla 1. Dermatomas afectados

| Derecho | Izquierdo | Derecho | Izquierdo |
|---------|-----------|---------|-----------|
| C3 (1) | D4 (1) | C3 (1) | C4 (1) |
| D1 (1) | D5 (1) | D1 (2) | C7 (1) |
| | D7 (1) | D3 (1) | C8 (1) |
| | | L2 (1) | D4 (1) |
| | | L4 (1) | D5 (1) |

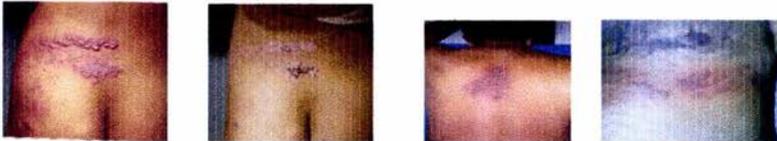
Tabla 2. Evaluación del dolor según escala análoga visual

| Dolor | Pretratamiento | | A los 7 días | | Al mes | |
|----------------|----------------|---------|--------------|---------|---------|---------|
| | Hombres | Mujeres | Hombres | Mujeres | Hombres | Mujeres |
| 0 -Ninguno | | | | 1 | 4 | 11 |
| 1-2 Ligero | 1 | 1 | 3 | 2 | 1 | |
| 3-4 Moderado | 1 | | 1 | 3 | | |
| 5-6 Severo | 3 | 3 | 1 | 2 | | |
| 7-8 Muy severo | | 5 | | 3 | | |
| 9-10 El Peor | | 2 | | | | |
| Total | 5 | 11 | 5 | 11 | 5 | 11 |

Grafica 5



Fotos de pacientes afectados con Herpe Zoster.- Se pueden observar las lesiones vesiculares del cuadro agudo y la fase de cicatrización posterior al tratamiento.



Grupo Neuralgia Postherpética.

Se incluyeron 11 pacientes con neuralgia postherpética, de los cuales 6 tenían de 1-6 meses de evolución a partir del inicio del herpes zoster agudo y 5 pacientes con mas de 6 meses. Grafica 6

Los dermatomas afectados fueron derechos en 4 pacientes y derechos en 7, con un predominio de los segmentos dorsales. [Tabla 3](#)

DolorEl dolor medido mediante la escala análogo visual en el grupo de NPH presentó una mediana de 6.5 (rango 1.80-10) en la evaluación inicial y 4.5 (rango 0-8.5) a los siete días de tratamiento. Mediante un análisis de Wicoxon se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el nivel de dolor evaluado mediante la escala análogo visual del grupo

NPH en los diferentes tiempos (dolor basal vs. dolor a los 7 días $p=0.003$) (dolor basal vs. dolor a los 30 días $p=0.027$). Tabla 4, graficas 7 y 8.

Niveles de beta-endorfinas

Para el grupo NPH el nivel de beta-endorfinas obtenido mediante HPLC y expresado en nanogramos/mL. presentó una mediana de 51.90 (rango 4.38-3153.00) en la determinación basal, y a los 7 días de tratamiento con FT fue de 86.76 (rango 10.49-4495.00). Mediante un análisis de rangos de Wilcoxon las diferencias entre los valores de beta-endorfinas en la determinación basal y a los siete días de tratamiento no fueron estadísticamente significativas ($p=0.657$). No se encontró correlación entre los niveles de beta-endorfinas y la disminución de dolor observada a los 7 días de tratamiento (coeficiente de correlación de Spearman $p=0.979$).

Tabla 3. Dermatomas afectados

| Hombres | | Mujeres | |
|---------|-----------|---------|-----------|
| Derecho | Izquierdo | Derecho | Izquierdo |
| L4 (1) | D4(1) | C5 (1) | C2(1) |
| | | D4(1) | C3(1) |
| | | S2(1) | D4(1) |
| | | | D5(1) |
| | | | D9(1) |
| | | | L1(1) |

Gráfica 6

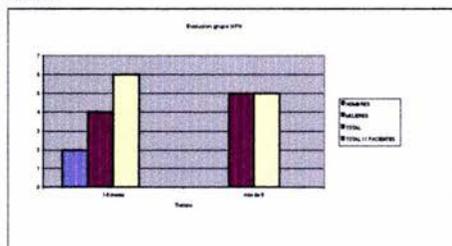
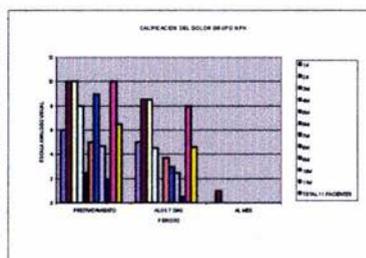


Tabla 4. Dolor / escala análoga visual

| Dolor Escala/Grado | Pretratamiento | | A los 7 días | |
|-----------------------|----------------|---------|--------------|---------|
| | Hombres | Mujeres | Hombres | Mujeres |
| 0 - Ninguno | | | | 2 |
| 1-2 Ligero | | 2 | | 1 |
| 3-4 Moderado | | 1 | | 4 |
| 5-6 Severo | 1 | 2 | 1 | |
| 7-8 Muy severo | | 1 | 1 | 2 |
| 9-10 El peor | 1 | 3 | | |
| Total | 2 | 9 | 2 | 9 |

Gráfica 7



Grafica 8

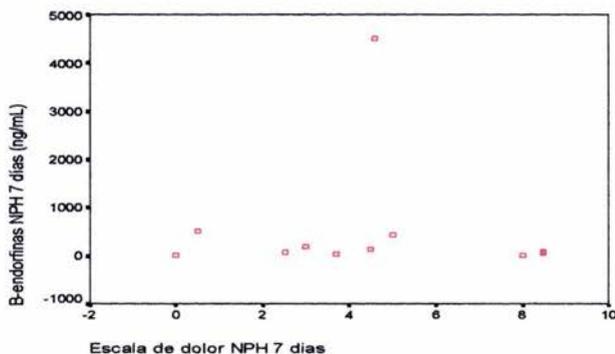


Fig. Los cambios en niveles de beta-endorfinas al séptimo día de tratamiento en relación al los niveles basales no muestran correlación con la disminución del dolor medida mediante la escala análogo visual para el grupo de NPH

Comparación de niveles de beta-endorfinas entre los grupos de estudio y el grupo control.

El grupo control fue constituido por 16 sujetos sanos (7 hombres, 9 mujeres, edad promedio 29.33 años, rango 26-40, DE=3.92) a quienes se determinó la concentración de beta-endorfinas plasmáticas exactamente del mismo modo que a los grupos de estudio. Los niveles de beta-endorfinas en el grupo control tuvieron una mediana de 49.42 ng/mL (rango 6.34-148). Con la finalidad de establecer si existen diferencias en los niveles de beta-endorfinas entre el grupo control y los grupos HZ y NPH en la medición basal, se realizó una prueba de *Kruskal-Wallis* para comparación de tres medias de grupos independientes, encontrando que las diferencias entre estos grupos no son estadísticamente significativas ($p=0.286$).

DISCUSIÓN:

Utilizando el dolor medido mediante una escala análogo-visual como parámetro clínico en los pacientes con herpes-zoster y neuralgia postherpética, en el presente estudio se demuestra una mejoría estadísticamente significativa a los 7 y a los 30 días en ambos grupos. Esto coincide con lo reportado en trabajos previos (8,9,11). Debido a los antecedentes de la eficacia reportada para el tratamiento del HZ y NPH con factor de transferencia y por razones éticas, no se diseñó el estudio con un grupo placebo, ya que los pacientes que acuden al servicio médico de Inmunología de la ENCB buscan ser tratados con FT y el foco del presente trabajo se dirigió a buscar posibles mecanismos biológicos mediante los que se logra este alivio del dolor en los pacientes con FT y NPH tratados con FT. Es interesante observar la disminución del dolor en pacientes con NPH, ya que en la literatura internacional se le considera una secuela prácticamente irreversible ⁽¹⁴⁾. Aunque en ambos grupos de estudio se encuentran algunas diferencias en los niveles de beta-endorfinas cuando se realizan comparaciones en diferentes tiempos de tratamiento para el mismo grupo (HZ antes y después, NPH antes y después), estas diferencias son mínimas y carecen de significado estadístico. Aún cuando se observan valores de beta-endorfinas aparentemente más bajos en el grupo control cuando se comparan con los grupos NPH y HZ en el tiempo basal y el grupo control, y algunos sujetos de estos dos últimos grupos presentan valores de varios miles de nanogramos/mL, pero al considerar las medianas (en vez de los promedios, por tratarse de grupos pequeños) estas diferencias no son tan grandes y estadísticamente no significativas. Los niveles muy elevados de beta-endorfinas observados en algunos pacientes individuales podrían influir otros factores probablemente relacionados con el propio padecimiento por mecanismos no reportados, ya que se sabe que los estados de estrés emocional como el que se observa en padecimientos que cursan con dolor intenso pueden elevar niveles de varios péptidos opiáceos. Al comparar los niveles de beta-endorfinas en cada grupo en diferentes tiempos no se encuentra correlación con la mejoría del dolor, lo que sugiere que el tratamiento con factor de transferencia puede inducir alivio del dolor mediante otro u otros mecanismos independientes de estos péptidos, sin descartar otros opiáceos endógenos. La propia capacidad estimulante de la respuesta celular específica para el VZV, con el consiguiente control de la infección aguda en el caso del HZ explica en parte el alivio del dolor (al controlar la infección, disminuye la inflamación y el dolor), sin embargo en NPH la replicación viral se considera escasa o nula, por lo no se explicaría en este caso el alivio del dolor solamente por este efecto. Otra gran

posibilidad es que la disminución del dolor en los pacientes con HZ y NPH que reciben factor de transferencia pudiera deberse a migración de células inmunológicas productoras de opioides endógenos incluyendo beta-endorfinas hacia el nervio sensitivo periférico inflamado en donde actuarían localmente, como se ha demostrado ampliamente en ratas en los estudios del grupo de Stein, Hassan, Przewlocki, y Herz⁽³¹⁾, sin que se modifiquen necesariamente las concentraciones de éstos mediadores en el plasma, lo que justificaría la realización de futuros estudios para investigar la posible participación de péptidos opioides endógenos *in situ* en los ganglios y los nervios sensitivos periféricos.

Anexo 1
 CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACION
 EN EL PROYECTO DE INVESTIGACION CLÍNICA.

Lugar y Fecha _____ Por medio de la presente
 acepto participar en el proyecto de Investigación titulado

*Factor de transferencia en Pacientes con Herpes Zoster y Neuralgia Posthértetica:
 Participación de Beta –Endorfinas.*

Registrado ante el Comité Local de Investigación Médica con el numero _060302/15

El Objetivo de este estudio es: *Investigar si las Beta-endorfinas participan en la mejoría clínica del dolor en pacientes con Herpes Zoster y neuralgia Posthértetica tratados con Factor de Transferencia.*

Se me ha explicado que mi participación consistirá en *La toma de una muestra sanguínea en 2 ocasiones y la administración del tratamiento como lo indique el médico tratante.*

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio que son los siguientes:

a) El factor de transferencia se ha utilizado desde hace varios años en pacientes con herpes zoster y neuralgia posthértetica en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN sin que se hayan reportado a la fecha efectos adversos.

b) La única diferencia en caso de aceptar participar en este estudio será que se me tomará una muestra de sangre venosa en dos ocasiones, una al inicio del tratamiento y la segunda a los 10 días (o a los 3 meses).

c) Los riesgos de la toma de la muestra son los habituales y consisten en *dolor* en el sitio de punción, en algunos casos *hinchazón y un moretón.*

El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevaran a cabo, los riesgos beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo del instituto.

El Investigador principal me ha dado seguridad de que nos se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Nombre y Firma del Paciente

Nombre, matrícula y firma del Investigador (es)

Testigo

Testigo

Anexo2

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Inmunología, Instituto Politécnico Nacional.

FICHA DE IDENTIFICACION PARA EL PROTOCOLO DE INVESTIGACION

Factor de Transferencia en pacientes con Herpes Zoster y Neuralgia Posthértptica: Participación de Beta-endorfinas.

Nombre del Paciente _____

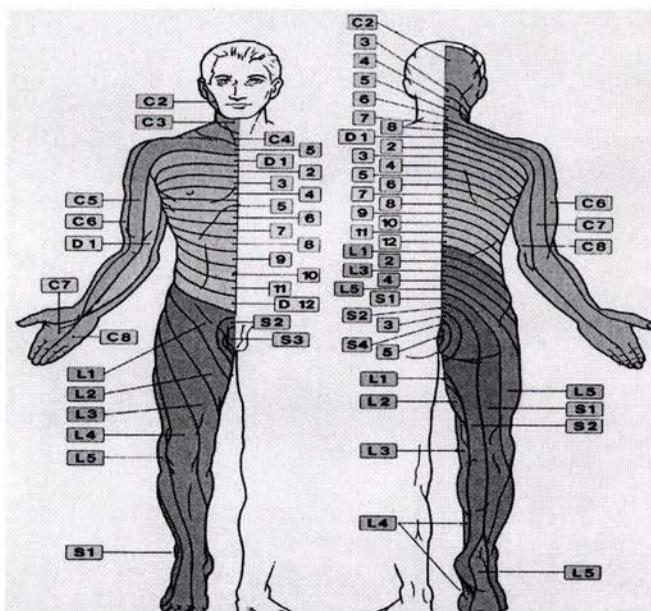
Edad _____ Sexo _____

Domicilio _____ Tel _____

Padecimiento Actual _____

Diagnóstico _____

Sitio de Lesión



Escala de dolor

0-----10
 Ningún dolor Máximo dolor imaginable

Tipo de tratamiento a administrar

Grupo de estudio _____

Tratamiento previo -----

BIBLIOGRAFÍA

1. Rouse BT, Ahmed R. Immune Response to virus. In *Clinical Immunology. Principles and practice*.2001;28: 28.1-28.9.2nd Mosby International.
2. Delves, J.P and Roitt, M.I (2000). The Immune System. *N. Engl J. Medicine*.2000; 343(1, 2): 37-49.
3. Estrada, P. S, Cabezas, Q. R, Velasco, C. O y cols. El sistema Inmune y el Uso de Factor de Transferencia. *Ciencia UANL*.1999; 11(3): 237-243.
4. Landstainer, K. Chase, MW. Experiments on Transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds .*Proc Soc Exp Biol Med*. 1942; 49:688-690.
5. Chase, MW. The cellular transfer of cutaneous hipersensitivity to tuberculin. *Proc Soc Exp Biol. MED* .1945; 59:134-135.
6. Kirkpatrick. Charles, H. Structural Nature and Functions of Transfer Factors. *Ann NY Acad Sci*.1993:362-368.
7. Kirkpatrick. Charles, H. Transfer Factors: Identification of Conserved sequences in Transfer Factor Molecules. *Molecular Medicine*.2000:6(4);332-341.
8. Cabezas, Q.R., Estrada, P. S., Padierna, L.,Padierna,J.,Fernández, C y López, P .Inmunoterapia con Factor de Transferencia en pacientes con Herpes Zoster. *Biotecnología aplicada*.1990;7(1):52-57.
9. Estrada, P.S., Nagaya, E.A., Serrano, O.E., y cols. Comparative study of transfer factor and acyclovir in the treatment of herpes zoster. *Int J.Immunopharmacology*.1998;20:521-535.
10. Cordero M.M, Flores SG, Orea SM y cols. Seguridad y eficacia en el tratamiento de la dermatitis atópica severa con ciclosporina A y factor de transferencia. *Rev Alergia Mex* 1999 ;2:49-57.
11. Ferrer, A. V. Valles, A.Y. Santiago ,A.I y cols. Inmunoterapia con Factor de Transferencia en Pacientes Inmunodeprimidos. *Rev Méd Hosp. Gral de Méx*. 1986;49(3):141-146.
12. Rusell, W.S. Martin ,G.M and Monroe M.V. Transfer Factor for the Prevention of Varicella-Zoster Infection in childhood Leukaemia. *N Engl J. Med*. 1980;303(7):355-359.
13. Rodríguez F.A. Serrano .E Flores. S.G y cols. El efecto terapéutico del factor de transferencia en el tratamiento de pacientes con dermatitis atópica grave. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*.2002:11(1):9-11.
14. Gnann, John W; Whitley, Richard. Herpes Zoster. *N Engl J.Med* .2002;347(5):340-346 .
15. Donahue, James et al. The Incidence of Herpes Zoster. *Arch Int Medicine*.1995:155(15),1605-1609.
16. Harrison. Varicela Zoster. *Principios de Medicina Interna 12^a ed* .II:805-828.
17. Opstelten, Wim . Herpes zoster and postherpetic neuralgia: incidence and risk indicators using a general practice research database. *J Family Practice*.2002;19(5):471-475.
18. Alper B.S, Lewis P.R. Treatment of Postherpetic neuralgia. *J Family Practice* .2002; 51(2):121-128.
19. Roberts. E. R et al. Ethnic Differences in Pain Tolerance: Clinical Implications in a Chronic Pain Population.2001;63(2); 316-323.
20. Machelska, Halina PhD; Stein, Christoph MD. Immune Mechanisms in Pain Control. *Anesthesia and Analgesia*. 2002 Oct; 95(4):1002-1008.
21. Bovill, J.G. Update on Opioid and Analgesic Pharmacology. *Anesthesia Analgesia* 2001;92:1-5.
22. Breau, Lynn M.; Camfield, C ; McGrath, P.J. et al. Measuring pain accurately in children with cognitive impairments: Refinement of a caregiver scale. *J. of Pediatrics*.2001; 138(5) : 721-727 .
23. Breau, Lynn M. ; Finley, G. Allen; McGrath, P.J. et al. Validation of the Non-communicating Children's Pain Checklist–Postoperative Version. *Anesthesiology*.2002; 96(3): 528-535 .

24. Bodian, Carol A. ; Freedman, Gordon ; Hossain, Sabera, et al. The Visual Analog Scale for Pain: Clinical Significance in Postoperative Patients. *Anesthesiology*. 2001; 95(6):1356-1361 .
25. Cabot J.P et al. Immune Cell-derived beta-endorphin: Production, Release, and Control of inflammatory Pain in Rats. *J. Clinical investigation*.1997;100(1);142-148.
26. Rittner, H.L et al .Opioid peptide-expressing Leukocytes: Identification, Recruitment, and Simultaneously Increasing Inhibition of Inflammatory Pain.*Anesthesiology*.2001;95(2);500-508.
27. Gambichler .T, Bader, A, Vojvodic M ,et al. Plasma levels of opioid peptides after sunbed exposures.*B.J.Dermatology*.2002 ;147(6) :1207-1211.
28. Shahed, Asha R.; Shoskes, Daniel A. Correlation of [beta]-Endorphin and Prostaglandin E2 Levels in Prostatic Fluid of Patients with Chronic Prostatitis with Diagnosis and Treatment response. *J. of Urology*.2001 Nov; 166(5): 2001 1738-1741.
29. Gabis, Lidia MD; Shklar, B.; Geva, D.Immediate Influence of Transcranial Electrostimulation on Pain and [beta]-Endorphin Blood Levels: An Active Placebo-Controlled Study. *AJ of Physical Medicine & Rehabilitation*.2003 Feb; 82(2):81-85.
30. Straneva P.A , et al. Menstrual Cycle, Beta-Endorphins, and Pain Sensitive Dysphoric Disorder. *Health Psychology*.2002;21(4);358-367.
31. Stein C, Hassan AHS, Przewlocki R, Gramsch C, Peter K, Herz A. Opioids from immunocytes interact with receptors on sensory nerves to inhibit nociception in inflammation. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:5935-9.
32. Przewlocki R, Hassan A.H.S, Lason W, Epplen C, Herz A, Stein C. Gene expresi3n and localization of opioid peptides in immune cells of inflamed tissue: functional role of antinoception. *Neuroscience* 1992; 48:491-500.).
33. Czlonkowsky A, Stein C, Herz A. Peripheral mechanisms of opioid antinoception in inflammation: involvement of cytokines. *Eur J Pharmacol* 1993; 242: 229-35.
34. Mousa SA, Shafer M, Mitchell WM, Hassan AHS, Stein C. Local upregulation of CRH and IL-1 receptors in inflamed tissue and local CRH and IL-1 beta induced antinoception. *Eur J Pharmacol* 1996; 311:221-31)