

11236



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

**CONCENTRACIÓN DE
HIDROXICLOROQUINA EN TEJIDO
ADENOIDEO Y EN PLASMA DE
PACIENTES INFECTADOS POR VIH:
ESTUDIO CLÍNICO PILOTO, ABIERTO**

T E S I S

QUE PRESENTA :

DR. CARLOS FORTUNY LÓPEZ

PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN OTORRINOLARINGOLOGÍA
Y

CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO

ASESOR:

DR. GUSTAVO REYES TERAN

COASESOR Y PROFESOR TITULAR DEL CURSO:
DR. ANTONIO SODA MÉRIZ

INER

MÉXICO, INSTITUTO NACIONAL DE SEPTIEMBRE 2005

ENFERMEDADES RESPIRATORIAS



SET. 15 2005



SUBDIRECCION DE
ENSEÑANZA

0350661



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

A Ximena y Mariela por ser lo más importante de mi vida y por quienes seguiré adelante y les dedicaré el resto de mis logros y esfuerzos

A mi mamá por ser el ejemplo de madre que siempre ha sido.

A mi papá por ser un ejemplo a seguir de trabajo y constancia

A mis hermanos, Luis Pedro por el equipo que hemos formado y que seguiremos siendo y Alvaro por estar conmigo en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Al DR. ANTONIO SODA MERHY, por darme la oportunidad de formarme como otorrinolaringólogo en la mejor sede de residencia del país.

Al DR. GUSTAVO REYES TERAN por dejarme formar parte de su excelente equipo de trabajo, por el apoyo y el tiempo dedicado a este proyecto.

A mis maestros DR. MARIO HERNANDEZ PALESTINA, DR. ARTURO RAMIREZ, DRA. MA. LIDIA SANCHEZ, DRA. LISSETTE CRISTERNA, DRA. CARMEN TIRADO, DR. BERNARDO DAVILA, DR. ALEJANDRO JIMENEZ, por todos los conocimientos y principios, que ayudaron a mi formación como especialista.

A ELOISA, por estos cuatro años de amistad y ayuda, a Nacho, Alberto, Leonardo, Elvira, Gabriel, Luis, Ivette, Nidia, Fernando, Yuria, Iohannan, Miriam y Rosd Berto por todo lo que aprendimos juntos y sobre todo, por su amistad

A Cristina, Klinty, Stanley, Akio, Zeidy y el resto del grupo del CIENI, por su tiempo y ayuda, son un excelente equipo de trabajo.

A la Dra. Aguirre, Dra. Helgy y Eder por ayudarme tanto en el procesamiento de las muestras.

ÍNDICE

I.	Antecedentes	3
II.	Justificación.....	10
III.	Hipótesis	11
IV.	Objetivos	11
V.	Materiales y Métodos	11
VI.	Resultados	18
VII.	Discusión	21
VIII.	Conclusiones	24
IX.	Tablas	25
X.	Anexos.....	26
XI.	Bibliografía.....	30

ANTECEDENTES

La diseminación mundial del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) durante las últimas cuatro décadas es uno de los ejemplos más catastróficos del surgimiento, transmisión y propagación de un genoma microbiano.⁽¹⁾ En la actualidad existen más de 40 millones de personas infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-1) con más de 20 millones de defunciones por el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (SIDA).⁽²⁾ Se estima que en países de escasos recursos, 1600 lactantes adquieren el VIH-1 cada día, principalmente por transmisión de madre a hijo ya que la lactancia materna es una costumbre y es esencial para poder prevenir la morbi-mortalidad infantil por enfermedades infecciosas y por desnutrición, por lo que es un problema de salud pública universal y se considera una de las pandemias más grandes de la historia.^(3,4)

El virus se propaga a los tejidos linfoides regionales en las primeras horas después de su adquisición a través de las mucosas.⁽⁵⁾ Las amígdalas y los adenoides infectados por VIH contienen células dendríticas que son capaces de transferir la infección por VIH a células CD4+.⁽⁶⁾ Las células CD4+ funcionan como receptores de gran afinidad para la glicoproteína de la envoltura viral, gp120.⁽⁷⁾ En biopsias de tejidos animales y humanos con infección aguda se han descrito células CD4+ activadas y en reposo. Las células en reposo se infectaron mientras estaban activas y luego regresaron

a un estado de reposo. Mientras que estas células en reposo no contribuyen activamente a la viremia, representan el mayor reto para la terapia curativa. Se ha visto que los inhibidores de enzimas virales no tienen efecto sobre el material genético viral que se encuentra en las células en reposo.^(8,9)

Se cree que las células T, que son el blanco principal del VIH que se encuentran en la sangre periférica circulante, pero éstas representan del 1% al 2% del total particularmente de células T, por lo que la gran mayoría de éstas se localizan en tejidos linfoides. Aunque estas células T pueden existir en cualquier tejido del cuerpo, los tejidos linfoides siguen siendo las principales contribuyentes para la replicación viral.^(5,10)

Se ha descrito que los centros germinales de tejidos linfoides, como los adenoides, son reservorios importantes del VIH-1. Fox et al demostraron, por medio de RNA radio-marcado para hibridización in situ, la presencia de concentraciones altas de RNA de VIH-1 en centros germinales de tejido linfoide de pacientes infectados con VIH-1.⁽¹¹⁾

Para el VIH, se ha descrito un período de latencia viral, como en otros tipos de retrovirus. Este proceso se define como la existencia de un provirus integrado sin transcripción activa. Durante este período, la viremia es baja con un bajo número de células infectadas en sangre periférica.⁽¹²⁾ Sin embargo, estudios han demostrado que la carga viral en los órganos linfoides

es alta durante este período de latencia clínica y la infección es activa. Pantaleo et al demostraron, por medio de reacción de polimerasa en cadena (PCR, por sus siglas en inglés), la mayor concentración de VIH en tejido linfoide (ganglios linfáticos, adenoides, amígdalas) durante este período.⁽¹³⁾ Por esta razón, la presunción basada en estudios con sangre periférica, que la carga viral total en el cuerpo durante el largo período de latencia clínica es baja, puede ser incorrecta.⁽¹⁴⁾ Este concepto ha sido la base de las indicaciones para iniciar terapia antirretroviral, aunque se ha comprobado que no existe un estado de latencia microbiológica verdadera del virus ya que la sangre periférica no refleja con exactitud el estado de la enfermedad por VIH.⁽¹³⁾

Los pacientes con infección por VIH presentan frecuentemente linfadenopatía, crecimiento amigdalino y esplenomegalia. La esplenomegalia es muy común en pacientes asintomáticos con infección temprana por VIH (prevalencia de 23% determinada por examen físico y 66% al determinarla por ultrasonido).⁽¹⁵⁾

La linfadenopatía se reporta en más del 75% de los casos de síndrome de VIH agudo, siendo ésta la segunda manifestación más reportada después de fiebre. El crecimiento de los tejidos linfoides en pacientes con infección aguda corresponde a la proliferación de linfocitos VIH específicos y también a hiperplasia folicular, aunque probablemente el

reclutamiento de células inflamatorias de la circulación también tiene un papel importante. Esto se ha asociado con los altos niveles de replicación en estos tejidos con el reclutamiento celular.⁽⁵⁾

Los primeros reportes de hallazgos otorrinolaringológicos en pacientes infectados con VIH se hicieron en 1985.⁽¹⁶⁾ Shahab et al describieron los hallazgos patológicos de nueve pacientes con VIH-1 que presentaban una masa nasofaríngea, y encontraron cambios de hiperplasia linfoide reactiva en biopsias de tejido amigdalino y de nasofaringe.⁽¹⁷⁾ Por otro lado, un estudio llevado a cabo en 12 pacientes describió la asociación entre seropositividad para VIH-1, hipertrofia adenoidea y otitis media secretora en adultos.⁽¹⁸⁾ Otros estudios han descrito una prevalencia de 34% de hipertrofia adenoidea moderada y 22% severa en pacientes infectados por VIH-1.^(19,20) En un estudio realizado en el INER se encontró una prevalencia de hipertrofia adenoidea del 74% en pacientes infectados por VIH.⁽²¹⁾

Actualmente, la erradicación completa del virus parece fuera del alcance, y los esfuerzos se están dirigiendo hacia una respuesta inmune específica en la cuál se dé supresión inmune del virus en la ausencia de terapia.⁽⁵⁾ Existen pruebas de que el tratamiento anti-VIH altamente activo (HAART, por sus siglas en inglés) logra reducir la carga viral plasmática rápidamente a niveles indetectables (<50 copias/ml) en 3 meses y además

permite que haya una recuperación relativamente rápida de los linfocitos T CD4+ especialmente después de 6 meses de tratamiento.⁽²²⁾ Esta terapia antirretroviral altamente activa logra producir una disminución importante en la carga viral plasmática acompañada de una disminución en la carga viral de tejido adenoideo. Sin embargo, ésta disminución en la carga viral del tejido adenoideo se da más lentamente que la disminución en sangre periférica.⁽²³⁾ Además, todavía se logra detectar producción de RNA viral en los tejidos linfoides a pesar de tener una carga viral plasmática negativa, y por lo tanto ésta producción continua de virus y la infección latente en las células de los tejidos linfoides pueden ser los factores esenciales para que se dé un efecto de rebote importante en la carga viral al suspender el HAART.⁽²⁴⁾

La terapia antirretroviral altamente activa ha extendido significativamente la expectativa de vida de los pacientes con VIH y ha tenido un impacto positivo en su morbilidad. Sin embargo, aunque son efectivos, se asocian a regímenes complejos de administración, altos costos y efectos secundarios importantes con afección de la calidad de vida. Por lo tanto, un agente ideal sería eficaz, de dosificación fácil, de bajo costo y con pocos efectos adversos. Una de las drogas que recientemente ha sido investigada como agente anti-VIH es la hidroxicloroquina, la cuál es una 9-aminoquinolona conocida desde 1934. Aparte de su conocido efecto antimalárico y antiinflamatorio, la droga tiene interesantes propiedades bioquímicas que pueden ser aplicadas a algunas infecciones virales.⁽²⁵⁾

La acumulación de hidroxiclороquina en los linfocitos y los macrófagos resulta en propiedades antiinflamatorias y por esto también se utiliza en otras enfermedades clínicas como artritis reumatoide, lupus eritematoso y sarcoidosis, la cuál se caracteriza por sobreproducción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) por los macrófagos alveolares. La hidroxiclороquina reduce la secreción de estas citoquinas proinflamatorias y en particular al TNF α razón por la que es utilizada en este tipo de enfermedades.⁽²⁵⁾

La hidroxiclороquina además puede tener efectos en diferentes blancos en el ciclo de vida del VIH-1.⁽²⁶⁾ Estos efectos incluyen la inhibición de la integrasa de VIH-1, la inhibición de la trans-activación mediada por Tat y la reducción de los depósitos de hierro dentro de las células que afectan la transcripción reversa.⁽²⁷⁾ Otros investigadores han demostrado que la hidroxiclороquina inhibe la replicación del VIH-1 afectando la maduración post-transcripcional de gp120, la cual es la glucoproteína de envoltura de superficie del virus que es fundamental para su infectividad.^(25,28) Por esta razón la glucosilación del VIH puede representar un nuevo objetivo para la terapia antirretroviral. Debido a que la glucosilación de la envoltura viral es mediada por enzimas celulares, su inhibición puede explicar el amplio espectro de la actividad in-vitro anti-VIH de hidroxiclороquina contra todos los subtipos mayores de VIH-1 y VIH-2. Otra de las ventajas de hidroxiclороquina

es que el efecto antiviral se lleva a cabo en enzimas celulares y no virales y esto puede llevar a un menor desarrollo de resistencia contra la droga.⁽²⁵⁾

Debido a que en algunos países del tercer mundo el VIH tiene una seroprevalencia de 20-30% y en la ausencia de opciones terapéuticas, su población trabajadora puede verse disminuida drásticamente en los próximos años. Por lo tanto, es necesario tener disponibles medicamentos de bajo costo, que se encuentren al alcance de toda la población.⁽²⁶⁾ Es por esta razón que la hidroxicloroquina debe considerarse como una opción en estos países. Dentro de las ventajas que ofrece es su buena tolerabilidad y seguridad al administrarse, su bajo costo y su gran capacidad de distribución en países del tercer mundo. Ya se han documentado la tolerabilidad y la seguridad de este medicamento a largo plazo cuando se utiliza en dosis para la profilaxis de malaria y en el tratamiento de enfermedades reumáticas.⁽²⁶⁾ En el tratamiento de este tipo de enfermedades tiene una baja incidencia de efectos adversos durante la administración crónica del medicamento por períodos de hasta unos cuantos años.⁽²⁵⁾ Los efectos adversos que más comúnmente se pueden observar son molestias gastrointestinales, prurito y mareos.⁽²⁹⁾ Un estudio reciente da resultados alentadores sobre la seguridad de la droga a dosis altas incluso durante el embarazo.⁽³⁰⁾ Otra de las ventajas de la hidroxicloroquina es que tiene un costo menor del 15% al 30% que otras drogas utilizadas en la terapia antirretroviral actualmente. Además, la hidroxicloroquina tiene la ventaja que puede ser distribuida fácilmente a una

gran población debido a su bajo costo y que algunos países la tienen dentro de su programa nacional de salud.⁽²⁹⁾

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad no existe ninguna terapia que erradique al virus del VIH del organismo. Por esta razón es necesario buscar nuevas estrategias que ayuden a las actuales a mantener su efecto por mayor tiempo y de manera más eficiente puedan convertir a la enfermedad en una infección crónica por el mayor tiempo posible. A su vez, estas alternativas deben ser económicas y con pocos efectos adversos que afecten la calidad de vida del paciente.

- Las concentraciones de VIH en los tejidos linfoides son significativamente mayores que en la sangre periférica (50 a 10,000 veces), siendo lo observado en el plasma un reflejo de los fenómenos virales e inmunológicos que ocurren en el tejido linfoide.

Se ha demostrado en estudios que la hidroxiclороquina tiene efecto anti-VIH. Por lo tanto, es importante determinar las concentraciones de hidroxiclороquina que se logran alcanzar en tejido linfoide y en plasma al ser administradas a pacientes infectados con VIH.

HIPÓTESIS

La hidroxiclороquina se concentra adecuadamente en el plasma y en el tejido adenoideo de pacientes infectados con VIH.

OBJETIVOS

General

- Determinar la concentración de hidroxiclороquina en tejido adenoideo y en plasma de pacientes infectados con VIH tratados con 8 dosis de hidroxiclороquina a diferentes concentraciones.

Específico

- Comparar las concentraciones de hidroxiclороquina encontradas en tejido adenoideo y plasma en los grupos de pacientes infectados con VIH asignados a este medicamento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del Estudio

Es un estudio piloto, experimental, prospectivo, de ciego simple

Población de Estudio

Se encuentra conformada por un grupo de 8 pacientes pertenecientes al Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas (CIENI) y la clínica

de infectología del INER con diagnóstico de VIH positivos documentados por ELISA y Western Blot que fueron referidos en el período entre Abril y Agosto del 2005 de acuerdo con los criterios de inclusión establecidos por el Departamento de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello del INER y por la clínica de infectología del INER. Los datos demográficos y los resultados fueron recolectados en una hoja de recolección de datos diseñada para el estudio (ver anexo 1).

Criterios de Inclusión

1. Pacientes VIH positivos
2. Mayores de 18 años de edad
3. Ambos géneros
4. Con o sin HAART
5. Sin criterios de infección de nariz y senos paranasales
6. Sin infecciones oportunistas activas o neoplasias
7. Sin interrupción del tratamiento con hidroxiclороquina

Criterios de Exclusión

1. Que tengan diagnóstico de SIDA

Criterios de Eliminación

1. Que retiren su consentimiento informado
2. Que no cumplan con el tratamiento

Consideraciones éticas

Este protocolo fue sometido a revisión y aprobación por el Comité Científico de la Dirección de Investigación y por el Comité de Bioética del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Se les explicó a los sujetos elegibles acerca de los procedimientos de rutina a realizar y de la toma de biopsia de adenoides y fueron informados de la justificación y objetivos de la investigación. Todos aceptaron y firmaron el consentimiento informado y así pudieron participar en el estudio y se les proporcionó una hoja con la Declaración de los Derechos de las Personas en Experimentación.

Metodología

A los 8 pacientes seleccionados se les entregó y aceptó un consentimiento informado (ver anexo 2). A seguir se les procedió a aleatorizar en dos grupos diferentes con el mismo número de individuos para recibir una de las dos dosis de hidroxiquina. Los pacientes tomaron los medicamentos durante ocho días consecutivos a dosis de 400 mg. diarios el primer grupo y 800 mg diarios el segundo grupo. Al finalizar la semana se procedió a tomar una biopsia de tejido adenoideo y una muestra de sangre periférica para cuantificar en ambas las concentraciones del medicamento y luego compararlas. Todos los pacientes fueron evaluados por un mismo médico y cada paciente por separado en el área de la consulta externa del Departamento de

Otorrinolaringología. Una enfermera estuvo presente durante la valoración para asistir al médico. Además se verificó que el material utilizado fuera adecuadamente organizado y desinfectado, de acuerdo a las normas universales para la prevención de la transmisión de enfermedades infectocontagiosas. Se utilizaron todas las medidas de protección recomendadas para el manejo de estos pacientes (guantes desechables, mascarilla, lentes protectores y campos limpios para cada paciente).

Biopsia de Adenoides

El procedimiento de la toma de biopsia de adenoides fue el siguiente:

Se realizó una rinoscopia anterior a cada paciente para comprobar la permeabilidad de la fosa nasal para realizar endoscopia rígida. Se colocó al paciente en decúbito supino y se procedió a colocar anestesia en cavidad nasal con taponamiento nasal anterior con algodones embebidos en oximetazolina y lidocaína al 2%. Con esto se logró vasoconstricción de los cornetes y la anestesia local se dejó por 5 minutos y luego se retiró.

Se realizó una revisión endoscópica rígida de nasofaringe para comprobar la presencia de tejido adenoideo. Se realizó la endoscopia con un endoscopio de 4mm a 0° (Kart Storz/Hopkins II/BWA 28721). Luego se introdujo endoscópicamente un hisopo impregnado con lidocaína al 2% sobre el tejido adenoideo para aplicarlo tópicamente y se dejó por 3 minutos y luego se retiró. Se procedió a tomar la biopsia guiada por

endoscopio del tejido adenoideo con una pinza para biopsia endoscópica de copas de 3 mm (Xomed-Treace 18-80213). Luego de la toma de biopsia se comprobó que no hubiera sangrado y en caso de dolor se dejó antiinflamatorio por 3 días posteriores a la toma de biopsia. El tejido obtenido se colocó en pequeños contenedores plásticos a los cuales previamente se les había determinado el peso exacto en una báscula especial, y luego ya con el tejido nuevamente se volvieron a pesar y al obtener la diferencia entre los dos se pudo obtener el peso exacto del tejido adenoideo biopsiado. Estos contenedores plásticos fueron congelados inmediatamente después en nitrógeno líquido en espera de ser enviados para su determinación de concentración de hidroxiclороquina.

Toma de muestra de sangre periférica

El procedimiento para la toma de sangre periférica fue el siguiente:

Se procedió a limpiar el área del pliegue del brazo con una torunda con alcohol. Se colocó una liga y se localizó la vena a puncionar. Se puncionó la vena con una jeringa de 10 ml. con aguja No. 21 y se obtuvieron 2 frascos de sangre con anticoagulante EDTA de 5 ml. de capacidad. Se retiró la liga y se retiró la jeringa. Se colocó apósito y se dobló el brazo durante 5 minutos. Estos 2 tubos con la muestra de sangre fueron llevados al laboratorio para centrifugarlos y obtener únicamente el plasma para luego este plasma colocarlo en otros tubos y congelarlo

inmediatamente en nitrógeno líquido en espera de ser llevados al laboratorio para su determinación de concentración de hidroxiclороquina.

Homogenado de tejido adenoideo

El procedimiento para el homogenado del tejido adenoideo fue el siguiente:

Se le adicionó a cada biopsia de adenoides (10 mg aproximadamente) 200 μ l de solución amortiguadora de fosfatos a 15 mM, con pH de 2.5 y se homogenizó durante 5 minutos en homogenizador Fisher Scientific con pistilo para tubo Eppendorf.

Procesamiento de las muestras biológicas para la HPLC (del inglés, high performance liquid chromatography)

Se le adicionó a cada mililitro de plasma u homogenado de tejido adenoideo 2 ml de hidróxido de sodio a 1M. Esto se agitó vigorosamente durante 2 minutos y luego se le añadió 6 ml de cloroformo. A esta mezcla se le agitó durante 30 minutos y luego se centrifugo durante 10 minutos a 4000 rpm. Se procedió a separar la fase orgánica y se le añadió 100 μ l de solución amortiguadora de fosfatos a 15 mM con un pH de 2.5. Esta mezcla se volvió a centrifugar durante 10 minutos a 4000 rpm y por último

se procedió a inyectar la fase acuosa en el cromatógrafo para la medición de hidroxyclorequina.

Determinación de concentración de hidroxyclorequina en adenoides y en plasma

El procedimiento para la determinación de concentraciones de hidroxyclorequina en tejido adenoideo y en plasma fue a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y fue el siguiente:

La HPLC es una técnica analítica utilizada para la separación de muestras a partir de una matriz biológica o mezcla de muestras. Esta consta de una fase móvil (mezcla de disolventes en distintas proporciones) que en este caso consta de fosfatos 0.1 M y acetonitrilo (75:25) y de una fase estacionaria (relleno de la columna), las cuáles interaccionan para desplazar a la muestra de interés hacia el detector.

El detector fue elegido de acuerdo a las propiedades del compuesto a analizar, en este caso la hidroxyclorequina. La molécula de hidroxyclorequina absorbe la luz ultravioleta (UV) y por ello se realizó un barrido en el espectrofotómetro para determinar la longitud de onda a leer la cuál fue de 333 nm.

La medición de hidroxicloroquina se realizó haciendo pasar la fase móvil y la muestra a través de la fase estacionaria de la columna de detección a un flujo constante de 0.8 ml., lo cuál nos ayudó para optimizar el tiempo de retención de hidroxicloroquina. Luego, la fase móvil y la muestra debieron llegar hasta el detector UV para poder detectar la molécula y poder realizar la medición de la hidroxicloroquina.

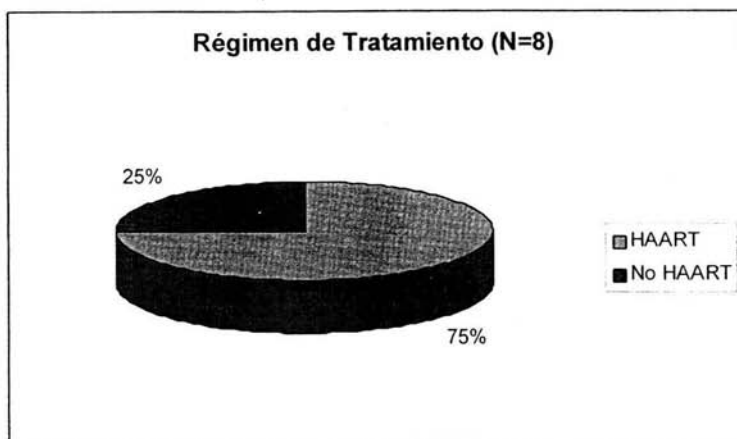
Análisis estadístico

El análisis estadístico de este trabajo se llevó a cabo utilizando el análisis de varianza (ANOVA) para la edad, conteo de linfocitos T CD4+, carga viral y concentraciones de hidroxicloroquina en plasma y en adenoides. Para comparar entre la concentración de hidroxicloroquina en plasma y adenoides y para analizar las diferencias en la concentración en plasma y adenoides a diferentes concentraciones entre cada uno de los dos grupos se utilizó la prueba de t pareada. El programa que se utilizó para el análisis completo fue el programa Stat View versión 4.5 para Windows.

RESULTADOS

La población estudiada quedó conformada por un total de 8 pacientes VIH-1 positivos de los cuáles 6 tenían tratamiento con HAART y dos no tenían tratamiento con HAART. Los 8 (100%) pacientes correspondían al sexo masculino.

Figura 1



Los 8 pacientes fueron infectados por el VIH-1 mediante una ruta de transmisión sexual. El promedio de edad fue de 36.8 años (intervalo de 26 a 47). Los pacientes se dividieron en dos grupos iguales y entre ellos existió una diferencia estadísticamente significativa en la media de edad entre el grupo de pacientes que tomó 400 mg y el de 800 mg (ver tabla 1).

Los pacientes presentaron un conteo de linfocitos T CD4+ con una media de 162 células/ μ L (intervalo de 30 a 419). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre las medias de ambos grupos. (ver tabla 1).

La carga viral plasmática de los sujetos tuvo una media de 202.75 (5.3 Log) copias/mL (intervalo de indetectable a >750,000). La media de la carga viral plasmática entre los dos grupos de pacientes no tuvo una diferencia estadísticamente significativa (ver tabla 1).

La concentración plasmática de hidroxiclороquina entre los dos grupos también fue comparada y analizada y se encontró que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las medias (ver tabla 1).

Al realizar el análisis estadístico entre los dos grupos de pacientes para la concentración de hidroxiclороquina en tejido adenoideo no se encontró diferencia estadísticamente significativa en las medias de dichos grupos (ver tabla 1).

También se comparó la concentración de hidroxiclороquina entre el plasma y la concentración de hidroxiclороquina en el tejido adenoideo de todos los pacientes. Los resultados que se obtuvieron muestran que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos con un valor de p de 0.0021.

Se compararon a los dos grupos por dosis administrada y al realizar el análisis entre concentración de hidroxiclороquina en plasma y tejido adenoideo en el grupo con dosis de 400 mg/día se obtuvo una media de

337.25 +/- 68.67 para el primer grupo y una de 87,209.50 +/- 8,908.64 para el segundo grupo. Utilizando la prueba de t pareada para el análisis estadístico se obtuvo un valor de p de 0.0023 lo cuál es estadísticamente significativo. Al realizar la misma comparación entre los grupos de 800 mg/día se obtuvo una media de 285.75 ng/ml +/- 34.79 ng/ml en la concentración plasmática de hidroxiclороquina y una media de 167,472.25 ng/ml +/- 46,896.75 ng/ml en la concentración adenoidea de hidroxiclороquina. Utilizando la t pareada se obtuvo un valor de p de 0.0377 lo cuál es estadísticamente significativo.

DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo indican que existe una diferencia significativa en cuanto a la edad entre los dos grupos, lo cual no es relevante debido a que la distribución en plasma o en tejido adenoideo de la hidroxiclороquina no dependen de la edad.

En cuanto a la concentración de linfocitos T CD4+ se observó que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos de pacientes. Esto indica que el estado inmunológico de los pacientes fue semejante durante el tiempo en el que se realizó el trabajo.

La diferencia en la carga viral en estos dos grupos de pacientes tampoco fue estadísticamente significativa, lo que muestra que su estado virológico (replicación de VIH) fue semejante en ambos grupos.

Al realizar la comparación de la concentración de hidroxicloroquina entre los dos grupos que tomaron diferente dosis del medicamento se observó que la hidroxicloroquina sí se concentra en el plasma de los pacientes pero que independientemente de la dosis que se administró no hubo diferencia entre los dos grupos. La importancia de este hallazgo es que la dosis que se puede utilizar en un futuro puede ser de 400 mg/día lo cuál es suficiente para adquirir buenas concentraciones en el plasma de los pacientes.

Se observó que la hidroxicloroquina sí se concentra adecuadamente en el tejido adenoideo de pacientes infectados por VIH. Las concentraciones de hidroxicloroquina que se alcanzaron en los dos grupos de pacientes en tejido adenoideo fueron comparadas estadísticamente y no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa. Por esta razón la dosis necesaria para que la hidroxicloroquina alcance el tejido adenoideo puede ser de 400 mg/día y no es necesario dar dosis tan altas como de 800 mg/día. Esto es favorable evitando que el medicamento pueda producir efectos adversos en los pacientes si lo utilizan por largos períodos de tiempo a dosis más altas. En el presente estudio no se observó ningún efecto adverso en los pacientes independientemente de la dosis administrada, aunque el período de tiempo por el cuál se administró la hidroxicloroquina fue solamente de una semana y al considerar la utilización de hidroxicloroquina como adyuvante en el

tratamiento anti-VIH, el tiempo de administración seguramente deberá ser más prolongado.

Al realizar el análisis comparativo entre la concentración de hidroxiclороquina en plasma y en tejido adenoideo se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, lo que indica que la hidroxiclороquina alcanza niveles mayores en el tejido adenoideo que en el plasma de pacientes infectados por VIH. Se observó el mismo resultado al comparar entre la concentración plasmática y de tejido adenoideo dependiendo de la dosis administrada (400 mg/día ó 800 mg/día), demostrando que la hidroxiclороquina obtiene buenas concentraciones en el tejido adenoideo de pacientes con VIH.

Según estos hallazgos, si la replicación viral en el tejido persiste a pesar de que los pacientes se encuentren con HAART, la hidroxiclороquina puede ser una buena opción de tratamiento para combatir al virus en los tejidos linfoides en donde el HAART no es capaz de penetrar y erradicar al virus. Sin embargo, es necesario realizar estudios en el futuro en los cuáles se compruebe el efecto que tiene la hidroxiclороquina sobre la carga viral de pacientes infectados por VIH en el tejido adenoideo para poder comprobar su eficacia como un medicamento efectivo y revolucionario en el tratamiento anti-VIH.

CONCLUSIONES

- 1) La hidroxiclороquina se concentra adecuadamente en el plasma y en el tejido adenoideo de pacientes infectados por VIH.
- 2) Las concentraciones de hidroxiclороquina que se obtienen en plasma y en tejido adenoideo no son dependientes de la dosis administrada.
- 3) La hidroxoclороquina obtiene mejores y mayores concentraciones en tejido adenoideo que en el plasma de pacientes infectados por VIH.
- 4) La dosis de hidroxiclороquina que se debe administrar a los pacientes infectados por VIH no debe ser tan alta para que alcance buenas concentraciones en el plasma y en el tejido adenoideo de estos pacientes.

TABLAS

Tabla 1. Características de los grupos y concentraciones de hidroxiclороquina en pacientes infectados por VIH.

Grupos (Dosis)	Grupo 1 (400 mg/d)	Grupo 2 (800 mg/d)	p
n	4	4	
Dosis Administrada	400 mg/día	800 mg/día	
Media edad (años +/- ES)	30.2 +/- 1.436	43.5 +/- 1.7	0.0011
Media niveles de células T CD4+ (células/uL +/- ES)	141,000 +/- 92.7	183,250 +/- 60.6	0.7162
Media CV (log copias RNA VIH/mL +/- ES)	3.639 +/- 1.8	1.368 +/- 1.3	0.3538
Media concentración de HCQ en plasma (ng/mL +/- ES)	337.25 +/- 68.67	285.75 +/- 34.79	0.5284
Media concentración de HCQ en adenoides (ng/mL +/- ES)	87,209.50 +/- 8,908.64	167,472.25 +/- 46,896.75	0.1437

ANEXO 1

Hoja de Recolección de Datos

Datos Generales

Iniciales del paciente		
Sexo		
Edad		
Registro		
Número asignado		
HAART/medicamentos		
Llamadas telefónicas	1era-Fecha:	2da-Fecha:

Concentración de HCQ

Sitio	Concentración	Fecha
Adenoides		
Plasma		

Efectos adversos reportados

- 1)
- 2)
- 3)
- 4)

ANEXO 2

FORMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO DE INVESTIGACION DEL INER TITULADO:

CONCENTRACION DE HIDROXICLOROQUINA EN TEJIDO ADENOIDEO Y EN PLASMA DE PACIENTES INFECTADOS POR VIH: ESTUDIO CLINICO PILOTO, CONTROLADO, ABIERTO

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

El SIDA es un problema de salud pública internacional y nacional ocasionado por el virus de VIH. Después de más de 20 años y más de 20 millones de defunciones tras el primer diagnóstico oficial de SIDA en 1981, unos 40 millones de personas (intervalo 38 – 44 millones) están viviendo con VIH. En el 2004, más de cinco millones de personas se infectaron por el VIH, y más de tres millones murieron por causa del SIDA. En México, el SIDA es una de las principales causas de muerte en personas jóvenes y en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) es una de las primeras causas de mortalidad en pacientes hospitalizados y la primera causa de muerte en personas jóvenes.

Muchos de los aspectos de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) son aún desconocidos. Por ello, mi médico, el Dr. Gustavo Reyes Terán y su grupo de investigación en el INER, están interesados en aprender tanto como sea posible sobre este síndrome y me han enviado con el Dr. Carlos Fortuny López, médico residente de 4to. año de la especialidad de Otorrinolaringología, para una evaluación completa de mis oídos, nariz y garganta.

Este documento me lo han dado a leer por cualquiera de las siguientes razones:

1. Soy una persona que vive con VIH, que nunca ha recibido tratamiento antirretroviral.
2. Soy una persona que está interesada en participar en las investigaciones clínicas y básicas del grupo del Dr. Gustavo Reyes Terán.

Se sabe bien y así me lo han hecho saber, que las personas infectadas por VIH tienen con mayor frecuencia Adenoides Grandes. Me han explicado que las "adenoides" son tejidos linfoides que se encuentran al fondo y atrás de la nariz (por dentro), similares a las "anginas", que normalmente desaparecen en las personas adultas. Sin embargo, hasta 30 de cada 100 personas que viven con VIH, tienen crecimiento de las adenoides. No se sabe bien la causa de este crecimiento, pero podría causar problemas en el oído al obstruir un conducto que lo comunica con la garganta (Trompa de Eustaquio) y ocasionar "Otitis Media Serosa" que significa inflamación del oído medio (cavidad limitada por la membrana timpánica) provocando la acumulación de líquido en su interior, que puede ser imperceptible o poco perceptible. En ocasiones puede manifestarse como disminución de la audición u ocasionar molestias de garganta parecidas a las de una infección de la garganta y/o sinusitis. Me han informado que una causa posible del aumento de tamaño de las adenoides sea porque su tipo de tejido es de los preferidos por el VIH para permanecer escondido de la respuesta de defensa que una persona infectada puede generar en su contra. Como el tratamiento antirretroviral es muy potente y elimina una gran cantidad de VIH en la sangre y en las adenoides, los investigadores suponen lo siguiente:

1. Que una persona sin tratamiento tendrá más posibilidades de tener las adenoides grandes.
2. Que las diferentes combinaciones de medicamentos contra el VIH pueden tener un diferente efecto contra el virus que se encuentra "escondido" en los tejidos como los adenoides.

Por todo lo anterior, el Dr. Carlos Fortuny López y el Dr. Gustavo Reyes Terán, están particularmente interesados en saber lo siguiente:

Si algunos medicamentos antimaláricos se concentran mejor en el tejido adenoideo de pacientes infectados con VIH y tienen efecto anti-VIH.

Las respuestas a estas interrogantes podrían obtenerse si:

1. Se realiza una valoración endoscópica de la nasofaringe en pacientes infectados por el VIH
2. Se toma una biopsia del tejido adenoideo para determinar la concentración de hidroxycicloroquina en las adenoides
3. Se toma una muestra de sangre periférica para valorar la concentración de hidroxycicloroquina en plasma

Se me ha explicado y he comprendido que el VIH destruye las defensas de la persona infectada y que es probable que el tratamiento contra el virus restaure las defensas. Además se me ha informado y he comprendido que la infección puede, con cierta frecuencia, expresarse con cuadros clínicos en cabeza y cuello. También que la nasofaringe (tejido adenoideo), es un sitio donde se pueden expresar los efectos directos o indirectos del virus. Inclusive, podrían desarrollarse, por ejemplo, tumores asociados a la infección. Por tanto, una valoración completa y

sistemática por un especialista en el área, podría ser de beneficio para identificar oportunamente los potenciales problemas de oídos, nariz y garganta.

Actualmente, existen pocos estudios en los cuales se haya probado que alguno de estos medicamentos antimaláricos se concentren en los tejidos linfoides como las adenoides. Si este fuera el caso, los resultados de este estudio ayudarían a decidir que medicamentos se pueden utilizar para tener un mejor tratamiento para las personas que viven con VIH/SIDA.

PROCEDIMIENTOS

Si yo acepto participar en este estudio, estoy enterado y he comprendido bien que podría ocurrir lo siguiente:

1. Que sea valorado en el departamento de Otorrinolaringología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias por el Dr. Carlos Fortuny López, quien primero me interrogará acerca de los síntomas relacionados con oídos, nariz y garganta que yo podría tener, y, después me hará una exploración física completa relacionada con su especialidad, incluyendo un procedimiento llamado endoscopia rígida nasal. La endoscopia significa que introducirán por mi nariz un aparato especial, llamado endoscopio, que tiene una cámara con la que podrán observar si mis adenoides están o no crecidas.
2. Que se tomen dos biopsias del tejido adenoideo guiado mediante la endoscopia nasal.
3. Que se tomen dos muestras de sangre periférica y se indicará tratamiento especializado en caso de requerirlo, incluso sin la consulta del servicio de Infectología.

RIESGOS

1. La endoscopia nasal rígida, puede llegar a producir dolor y molestias, aún cuando el procedimiento implica la aplicación de un anestésico local.
2. La biopsia de tejido adenoideo, puede producir dolor local y sangrado de la nasofaringe de forma leve.
3. Si existe inflamación de la mucosa nasal (revestimiento interno de mi nariz), o si hubiese deformación o un tumor podrá producirse un ligero sangrado. Si hay sangrado, en general se controla con medidas locales o, en ocasiones, requiere un taponamiento nasal por varios días.
4. Si hubiese algún problema relacionado con los procedimientos, se dispondrá por nuestra cuenta, el tratamiento para resolverlo (por ejemplo, antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios). El Instituto no proporcionará compensación por otros eventos (no relacionados con los procedimientos). Para mayor información puedo llamar a la oficina del Comité de Bioética del INER 5666-45-39 extensión 224 (Dr. Guillermo Carvajal Sandoval) o a la extensión 283 (Dr. Gustavo Reyes Terán).
5. **Confidencialidad:** mi expediente y todos los registros de mis datos que se hagan serán manejados de manera confidencial, de acuerdo a la ley. Mi nombre será reemplazado por un código (de letras y números) y se mantendrá separado de los resultados de las pruebas que me realicen. Cualquier búsqueda por computadora, o el ingreso a la base de datos en la que se encuentren los resultados de mis pruebas, se hará solamente por el código que me hayan asignado y no por mi nombre.

BENEFICIOS

Los beneficios que obtendré al participar en este estudio son que recibiré una evaluación clínica otorrinolaringológica completa, además de mis evaluaciones rutinarias por el servicio de infectología del INER. Todos los estudios de laboratorio y gabinete que se me realicen, así como el tratamiento asignado, no tendrán costo alguno. No obtendré otros beneficios directos por mi participación. Sin embargo, se espera que la información que se obtenga de los estudios, puedan ayudar a resolver la duda que existe sobre cuál es el mejor tratamiento que puede utilizar una persona con VIH/ SIDA. Sé que yo puedo disponer de los resultados de esta investigación y una explicación de su significado en cualquier momento, si lo deseo, directamente del Dr. Carlos Fortuny López o del Dr. Gustavo Reyes Terán.

PREGUNTAS

He hablado con el Dr. Gustavo Reyes Terán o con el Dr. Carlos Fortuny López quienes han aclarado mis dudas y respondido a mis preguntas. Si después surgen otras dudas o preguntas, sé que puedo llamarles por teléfono (Dr. Gustavo Reyes Terán: 5666-45-39, extensión 283, directo: 5666-7985, o al Dr. Carlos Fortuny López al 5666-4539 extensión 159).

CONSENTIMIENTO

Si firmo abajo, en la línea a mi nombre, solamente acordando participar en esta investigación científica.

LA PARTICIPACION EN INVESTIGACION CIENTIFICA ES VOLUNTARIA

Yo tengo todo el derecho a negarme a participar o de suspender mi participación en cualquier momento del estudio, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Me he quedado con una copia de este documento y del de los derechos de los individuos en Experimentación.

Nombre y Firma de la persona participante

Fecha

Nombre y Firma de testigo (1) y parentesco con el paciente

Domicilio

Fecha

Nombre y Firma de testigo (2) y parentesco con el paciente

Domicilio

Fecha

Nombre y firma del médico que realizó la discusión de este documento

Fecha

Nombre y firma del Investigador principal

Fecha

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

1. Stebbing J, Gazzard B, Douek D. Where does HIV live? *N Engl J Med* 2004;350:1872-80.
2. Gallo RC, Montagnier L. Prospects for the Future. *Science* 2002; 298: 1730-1.
3. Boelarert J, Yaro S, Augustijns P, et al. Chloroquine accumulates in breast-milk cells: potential impact in the prophylaxis of postnatal mother-to-child transmission of HIV-1. *AIDS* 2001;15(16):2205-6.
4. De Cock KM, Fowler MG, Mercier E, et al. Prevention of mother-to-child HIV transmission in resource-poor countries. Translating research into policy and practice. *JAMA* 2000;283:1175-82.
5. Kilby, JM. Human immunodeficiency virus pathogenesis: Insights from studies of lymphoid cells and tissues. *Clin Inf Dis* 2001;33:873-84.
6. Frankel SS, Wenig BM, Burke AP, et al. Replication of HIV-1 in dendritic cell-derived syncytia at the mucosal surface of the adenoid. *Science* 1996;272:115-7.
7. Dalgleish AG, Beverley PC, Clapham PR, et al. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984;312:763-7.
8. Zhang ZQ, Shuler T, Zupancic M, et al. Sexual transmission and propagation of SIV and HIV in resting and activated CD4+ T cells. *Science* 1999;286:1353-7.

9. Chun TW, Stuyver L, Mizell SB, et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:13193-7.
10. Reinhart TA, Rogan MJ, Huddleston D, et al. Simian immunodeficiency virus burden in tissues and cellular compartments during clinical latency and AIDS. *J Infect Dis* 1997;176:1198-208.
11. Fox CH, Tenner-Rácz K, Rácz P, Firpo A, Pizzo PA, Fauci AS. Lymphoid germinal centers are reservoirs of human immunodeficiency virus type 1 RNA. *J Infect Dis* 1991; 164: 1051 – 7.
12. Pomerantz, RJ. Ludwik Hirszfeld Memorial Lecture: HIV-1 reservoirs: major molecular obstacles to viral eradication. *Arch Immunol Ther Exp* 2004;52:297-306.
13. Pantaleo G, Graziosi C, Demarest J, et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 1993;362:355-358.
14. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci A. Mechanism of disease: The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1993;328(5):327-34.
15. Furrer H. Prevalence and clinical significance of splenomegaly in asymptomatic HIV-1 infected adults. Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2000;30:943-5.

16. Mancusen DC, Sooy CD. Otolaryngologic and head and neck manifestations of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Laryngoscope* 1985;95:401-5.
17. Shahab I, Osborne B, Butler J. Nasopharyngeal lymphoid tissue masses in patients with human immunodeficiency virus-1. Histologic findings and clinical correlation. *Cancer* 1994;74:3083-8.
18. Desai S. Seropositivity, adenoid hypertrophy and secretory otitis media in adults – a recognized clinical entity. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992;107:755-57.
19. Barzan L, Carbone A, Tirelli U, et al. Nasopharyngeal lymphatic tissue in patients infected with human immunodeficiency virus. *Arch Otolaryngol Head and Neck Surg* 1990;116:928-31.
20. Barzan L, Carbone A, Saracchini S, et al. Nasopharyngeal lymphatic tissue hypertrophy in HIV-infected patients. *Lancet* 1989;1:42-3.
21. Zambrano R. Prevalencia de hipertrofia adenoidea en pacientes del INER infectados por VIH con y sin tratamiento antirretroviral altamente activo. UNAM Octubre 2002.
22. Chen J, Cloyd M. The potential importance of HIV-induction of lymphocyte homing to lymph nodes. *Int Immunol* 1999;11(10):1591-94.
23. Velásquez L. Efecto del tratamiento antirretroviral altamente activo sobre la hipertrofia adenoidea de pacientes adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana y su correlación con la carga viral en el tejido adenoideo. UNAM Octubre 2003.

24. Stellbrink H, Lunzen J. Lymph nodes during antiretroviral therapy. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14:17-22.
25. Savarino A, Boelaert JR, Cassone A, Majori G, Cauda R. Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases? *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 722 – 27.
26. Savarino A, Gennero L, Chen H, et al. Anti-HIV effects of chloroquine: mechanisms of inhibition and spectrum of activity. *AIDS* 2001; 15: 2221-29.
27. Fesen MR, Kohn KW, Leteurtre F, Pommier Y. Inhibitors of human immunodeficiency virus integrase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2399-2403.
28. Tsai WP, Nara PL, Kung HF, Oroszlan S. Inhibition of human immunodeficiency virus infectivity by chloroquine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1990; 6: 481-89.
29. Baird JK. Effectiveness of antimalarial drugs. *N Engl J Med* 2005; 352: 1565-77.
30. Klinger G, Morad Y, Westall CA, et al. Ocular toxicity and antenatal exposure to chloroquine or hydroxychloroquine for rheumatic diseases. *Lancet* 2001; 358: 813-14.