

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE LA SERTRALINA EN EL
TRATAMIENTO DE LA CRIPTOCOCOSIS MENÍNGEA
EN PACIENTES CON VIH”**

Por

DR. HIRAM VILLANUEVA LOZANO

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA**

FEBRERO, 2017

“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE LA SERTRALINA EN EL
TRATAMIENTO DE LA CRIPTOCOCOSIS MENÍNGEA
EN PACIENTES CON VIH”

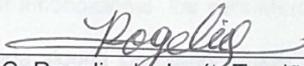
Aprobación de la Tesis:



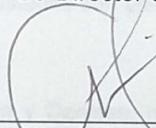
Dr. Michel Fernando Martínez Reséndez
Director de Tesis



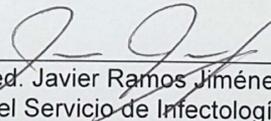
Dra. C. Gloria María González González
Co-Director de Tesis



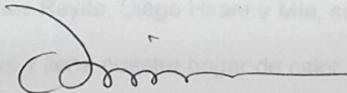
Dr. C. Rogelio de Jesús Treviño Rangel
Co-Director de Tesis



Dr. Pedro Alberto Hernández Rodríguez
Coordinador de Posgrado del Servicio de Infectología



Dr. med. Javier Ramos Jiménez
Jefe del Servicio de Infectología



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA

A DIOS...cuyo amor me acompaña todo el tiempo, me fortalece y me guía. Y aun cuando yo tropiezo, aun cuando yo abandono, el en su mano me sostiene y me levanta. Gracias por darme la fuerza para servir a mi hermano el hombre en estos 6 años de residencia médica, gracias por poner en mi camino a todos aquellos que me apoyaron en esta gran aventura, todo lo que hago es en tu nombre y en tu gloria.

A mis padres, mi más grande fuente de admiración e inspiración, su entrega y su sacrificio son el más grande ejemplo de vida, me enseñan cada día con su labor y su amor incondicional los verdaderos valores que guían y rigen mi camino. Son sin duda alguna los responsables de mis éxitos y mi felicidad. Mi gratitud y mi amor para ustedes son eternos.

A mis hermanos Iván y Denisse, mis hermanos mayores, y que como hermanos mayores, siempre me han protegido y apoyado y quienes también dictan en mí el ejemplo que mis padres nos han heredado, y a quienes amo y admiro incondicionalmente.

A mis sobrinos Rayito, Diego Hiram y Mía, su existencia es un Sol que ilumina nuestras vidas y llena nuestro hogar de calor y de risas. Los amo y espero tener la oportunidad de apoyarlos siempre en cualquier meta que su imaginación los lleve a buscar.

A Rogelio, mi compañero...quien es capaz de infundir paz en un corazón que no encuentra sosiego, silencio en una mente con un millón de voces, y armonía en un espíritu en constante cambio, gracias por ser mi faro que me permite viajar y mi roca que me recuerda donde esta el hogar.

A mis maestros y amigos Pedro y Michel, su esfuerzo constante por sus pacientes es el mejor ejemplo de lo que un médico debe ser, su preocupación por la formación de sus alumnos es el ejemplo de lo que un maestro es, agradezco su ejemplo, su enseñanza y su amistad.

Agradecimientos

A la Dra. Sandra Gabriela Galindo Alvarado, compañera, colega y amiga quien me apoyo incondicionalmente en la elaboración de esta Tesis y, cuya amistad y sabio consejo, hicieron de estos dos años de estudios de sub-especialización una aventura compartida.

A la Dra. C. Gloria María González González, tutora e investigadora incomparable, quien siempre tuvo espacio en su apretada agenda para ofrecerme su sincera opinión y consejo.

A todos los excelentes Químicos que conocí durante mi formación en Infectología y de quienes aprendí tanto (Hugo Sánchez Alanís, Denisse Zamarripa García, Lorena Salazar Cavazos, Irasema Moyar Chávez, Lydia Oviedo y Alberto Moreno Cortés), gracias por siempre apoyarnos e instruirnos sobre el maravilloso mundo del laboratorio de Microbiología. Gracias por ser nuestros maestros y aliados en el esfuerzo constante por conservar y preservar la vida de los pacientes.

“A la segunda estrella a la derecha y de frente hasta el amanecer”

-James Tiberius Kirk-

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESUMEN	01
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN	02
2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS.....	02
2.2 CUADRO CLÍNICO Y RESPUESTA INMUNE.....	06
2.3 EPIDEMIOLOGÍA	11
2.4 TRATAMIENTO.....	13
2.5 AVANCES	17
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS	21
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS	22
Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS	23
5.1 LUGAR DEL ESTUDIO.....	23
5.2 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	23
5.2.1 ADMINISTRACIÓN DEL MEDICAMENTO.....	24
5.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	26

5.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE MUESTRAS.	26
5.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE MUESTRAS.	27
5.6 APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA	27
5.7 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.	27
5.7.1 ANTIGENEMIA PARA CRIPTOCOCO.	27
5.7.2 CARGA FÚNGICA.	28
5.7.3 ID DE LOS AISLAMIENTOS CLÍNICOS.	29
5.7.4 SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA	29
Capítulo VI	
6. RESULTADOS.	31
6.1 ESTUDIO CLÍNICO.	31
6.2 SUSCEPTIBILIDADES <i>IN VITRO</i>	37
Capítulo VII	
7. DISCUSIÓN	38
Capítulo VIII	
8. CONCLUSIONES	42
Capítulo IX	
9. BIBLIOGRAFÍA	43
Capítulo X	
10. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Especies propuestas del complejo <i>C. neoformans</i> / <i>C. gatii</i>	05
2. Variables demográficas basales.....	34
3. Carga fúngica en LCR.....	34
4. Susceptibilidades de las cepas aisladas.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. <i>Cryptococcus</i> spp. visto en diferentes medios y tinciones.....	05
2. Invasión y diseminación de <i>Cryptococcus</i> spp.....	08
3. Carga fúngica en tejido cerebral de ratones infectados.....	19
4. Elaboración del medicamento del protocolo.....	25
5. Distribución de pacientes reclutados.....	33
6. Gráfica de regresión lineal del grupo control.....	36
7. Gráfica de regresión lineal del grupo experimental.....	36
8. Comparación de la Actividad Antifúngica Temprana entre grupos	38

LISTA DE ABREVIATURAS

AMB: Anfotericina B

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CFI: Concentración Mínima Inhibitoria

C.R.C.E.I: Centro Regional de Control de Enfermedades Infecciosas

EFA: Actividad Fungicida Temprana

FLC: Fluconazol

LCR: Líquido Ceforraquídeo

ml: Mililitros

µg: Microgramos

SRT: Sertralina

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

°C: Grados Celsius

CAPÍTULO 1

RESUMEN

Dr. Hiram Villanueva Lozano

Febrero, 2017

Universidad Autónoma de Nuevo León, Hospital Universitario

Título: "Evaluación del Efecto Antifúngico de la Sertralina en el Tratamiento de la Criptococosis Meníngea en Pacientes con VIH

Número de páginas: 46

Candidato al grado de MEDICO ESPECIALISTA en Infectología

Área de Estudio: Infectología y Microbiología Clínica.

Justificación y Método de Estudio: *Cryptococcus* spp. es un género de hongos del filo basidiomiceto compuesto por 70 especies, de las cuales el complejo *Cryptococcus* spp. formado por *C. neoformans* var. *neoformans*, *C. neoformans* var. *grubii* y *C. gatii* representan la gran mayoría de las infecciones clínicas en humanos. Actualmente, a pesar de los avances en el tratamiento de las infecciones fúngicas, la meningitis por criptococo sigue siendo una de las causas principales de meningitis en pacientes con VIH, confiriendo a este grupo de pacientes una alta mortalidad y morbilidad, sobre todo en países en vías de desarrollo, donde la disponibilidad de los medicamentos de primera línea es prácticamente nula. En las últimas décadas, ante la ausencia de nuevos compuestos antimicrobianos, el estudio del reposicionamiento de moléculas ya conocidas ha permitido explorar el uso de estos medicamentos en la lucha contra las infecciones fúngicas, destacándose en este segmento el efecto antifúngico de la sertralina, un medicamento aprobado para su uso en el trastorno de la ansiedad. **Objetivo:** Comprobar las propiedades antifúngicas de la sertralina, midiendo el aclaramiento de *Cryptococcus* spp. en líquido cefalorraquídeo en pacientes con meningitis por este patógeno y VIH.

Resultados: Se incluyeron para el estudio estadístico final 10 pacientes, de los cuales 6 correspondieron al brazo de Tratamiento Estándar + Sertralina y 4 pacientes al grupo de Tratamiento Estándar + Placebo. Se obtuvo en cada grupo un cálculo promedio del decremento logarítmico de la carga fúngica por día, encontrándose para cada grupo los siguientes datos: EFA= -0.2868 ± 0.08275 y -0.2496 ± 0.08340 , respectivamente con una $P= 0.5261$.

Conclusiones: En nuestro estudio no se encontró una diferencia estadísticamente significativa, ni una tendencia en el aclaramiento de líquido cefalorraquídeo entre los grupos. Sin embargo, la diferencia en la tasa de aclaración es mínima, lo que nos indica que el tamaño de la muestra es limitado, lo cual imposibilita el establecimiento de tendencias.

CAPÍTULO 2

INTRODUCCIÓN

2.1 Antecedentes Históricos

La criptococosis es una enfermedad de distribución mundial con diversas presentaciones clínicas y cuyo agente patógeno es una levadura encapsulada del género *Cryptococcus*. Actualmente existen dos especies dentro de este género que tradicionalmente se han asociado a infección clínica: *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gatii* (1).

Los primeros casos de infección en humanos asociados al hongo patógeno *Cryptococcus neoformans* fueron descritos en 1894 por Buschke y Busee, quienes presentaron un caso de osteomielitis con aislamiento de este hongo. San Felice casi al mismo tiempo aisló una levadura encapsulada del jugo de durazno y provocó lesiones al evaluar su inoculación en animales de experimentación. Años más tarde, en 1901 Vuillemin lo denominó *Cryptococcus hominis*. En 1970, Lodder y Kregger-Van Rji usaron por primera vez el nombre *Cryptococcus neoformans* (Fig.1) (2). Los primeros reportes de *Cryptococcus* se asociaron a pacientes con cáncer y en 1905, Von Hansemann presentó el primer caso de criptococosis meníngea (3).

Cryptococcus gatii fue reconocido por primera vez en 1966 al aislarse de un niño congoleño bantú con meningitis, en 1970 Vanbreuseghem y Takashio lo reconocen como un agente con características distintas de *Cryptococcus neoformans* (4, 5). *Cryptococcus gatii* típicamente se encuentra en regiones tropicales y subtropicales de Australia, Nueva Zelanda, Papúa Nueva Guinea, Sur y Sureste asiático; sin embargo, en el año 2000 esta enfermedad fue identificada en animales en la Columbia Británica y Vancouver con posterior diseminación al noroeste de los Estados Unidos (Washington y Oregon), donde fue reconocida como causante de enfermedad clínica por primera vez en el año 2006 (6).

Cryptococcus neoformans es responsable de la mayoría de las infecciones clínicas en pacientes inmunocomprometidos, *Cryptococcus gatii* se ha relacionado más con infecciones en individuos inmunocompetentes. En las últimas décadas la meningitis por criptococo se ha convertido en una infección de importancia mundial. Con más de 1 millón de nuevas infecciones anualmente y una alta morbi-mortalidad, especialmente en individuos susceptibles. En adultos, el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) es el principal factor predisponente hasta en un 80% de los casos, las palomas y otras aves son reservorio del hongo y fuentes de infección. En México se ha aislado en el 20.7% de las muestras de excremento de palomas recolectadas en áreas urbanas (2, 7).

Cryptococcus es un género de hongos basidiomicetos con más de 30 especies. Solo dos especies, *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gatii* pueden causar infecciones en individuos inmunocompetentes e inmunocomprometidos (Fig.1). Históricamente este género fue dividido en 3 variedades y 5 serotipos, nombrados de la siguiente forma: *C. neoformans* var. *grubii* (serotipo A), *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipo D), *C. gatii* (serotipos B y C) y un serotipo AD híbrido; esto basado en las características estructurales de su cápsula de polisacáridos. Bajo esta nomenclatura sus teleomorfos eran nombrados *Filobasidiella neoformans* y *Filobasidiella bacillispora*. Aproximadamente un 95% de las infecciones por *Cryptococcus* son causadas por *C. neoformans* serotipo A, mientras que el restante 4-5% son causadas por *C. neoformans* serotipo D y *C. gatii* serotipo B/C. Cambios recientes en esta clasificación han sido propuestos basados en estudios moleculares mediante Análisis de Secuencias Multilocus (MLST), donde de 115 cepas de *C. neoformans* y *C. gatii* se identificaron 7 clados, 2 dentro de *C. neoformans* y 5 dentro de *C. gatii*. Sin embargo, hasta la fecha la relevancia clínica de esta clasificación es incierta (Tabla 1) (1, 8, 9).

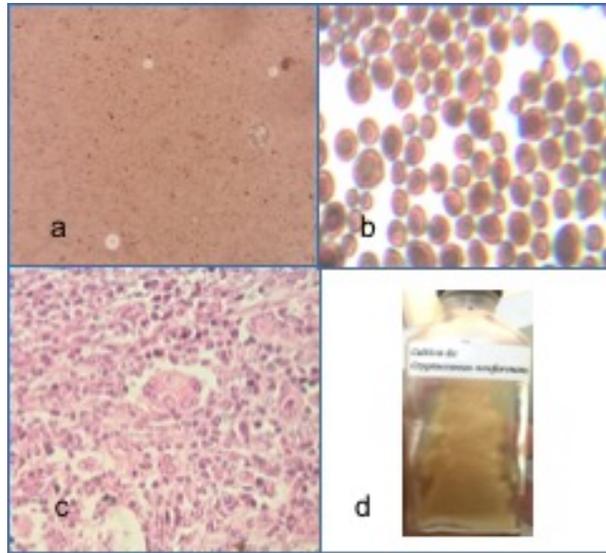


Figura 1 *Cryptococcus* spp. visto en a) Tinta china b) Tinción de gram c) Histopatología d) Agar Sabouraud Dextrosa.

Tabla 1 – Especies propuestas en el complejo *C. neoformans/C. gatii*. (Adaptado de Hagen F, Khayhan K, Theelen B, *et al.* Recognition of seven species in the *Cryptococcus gatii/Cryptococcus neoformans* species complex. Fungal Genet Biol 2015;78:17).

Nombre Actual	Tipo Molecular	Nombre propuesto
<i>Cryptococcus neoformans</i>		
Var. <i>grubii</i>	VNI/VNII/VNB (AFLP1,AFLP1A,AFLP1 B,VNB)	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Var. <i>neoformans</i>	VNIV (AFLP2)	<i>Cryptococcus deneoformans</i>
AD Híbrido	VNIII (AFLP3)	<i>C. Neoformans/C. deneoformans</i> híbrido
<i>Cryptococcus gatii</i>		
	VGI (AFLP4) VGII (AFLP6) VGIII (AFLP5) VGIV (AFLP7) VGIV/VGIIIc (AFLP10)	<i>Cryptococcus gatii</i> <i>Cryptococcus deuterogatii</i> <i>Cryptococcus bacillisporus</i> <i>Cryptococcus tetragatii</i> <i>Cryptococcus decagatii</i>
DB Híbrido	AFLP8	<i>C. deneoformans/C. gatii</i> híbrido
AB Híbrido	AFLP9	<i>C. neoformans/C. gatii</i> híbrido
AB Híbrido	AFLP11	<i>C. neoformans/C. deuterogatii</i> híbrido

2.2 Cuadro Clínico y Respuesta Inmune

Cryptococcus neoformans se asocia con más frecuencia a enfermedad en individuos inmunocomprometidos, mientras que *Cryptococcus gatii* a infecciones en individuos inmunocompetentes. Ambas especies tienen preferencia por infectar el Sistema Nervioso Central (SNC). Sin embargo, *C. gatii* se ha relacionado con mayor frecuencia a infección pulmonar con lesiones tipo masas, aunque la criptococosis puede ocurrir en cualquier persona, como ya se mencionó, la mayoría de los casos ocurren en inmunocomprometidos, siendo las condiciones predisponentes más comunes en orden de frecuencia: VIH, uso de corticoesteroides, trasplante de órganos, leucemia, linfoma, etc. (3, 10). Otras especies de *Cryptococcus* como *C. adeliensis*, *C. albidus*, *C. curvatus*, *C. humicolus*, *C. laurentii*, *C. uteolus*, *C. macerans* y *C. uniguttulatus* se han asociado a infección clínica en humanos. La aparición de casos de enfermedad asociada a estas especies ha ido en incremento (11).

La vía de adquisición de este patógeno es mediante la inhalación de células fúngicas pequeñas (células de levadura pobremente encapsuladas o basidiosporas), menores a 10 μm , ya sea en su forma de levadura o en forma de esporas, penetrando las vías respiratorias inferiores, donde los macrófagos alveolares juegan un papel central en la respuesta inmune. La respuesta inflamatoria a este patógeno involucra a las células T cooperadoras, la producción de citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), interferon- γ

e interleucina-2, lo cual resulta en una inflamación de tipo granulomatoso, lo cual puede desembocar en un estado de latencia con la célula de levadura hibernante dentro del fagolisosoma, en nódulos linfáticos torácicos o en granulomas pulmonares que pueden persistir en individuos asintomáticos por años que se reactivan al verse comprometida la respuesta inmune. La fisiopatología es muy similar a la observada en tuberculosis o histoplasmosis, con una posterior diseminación hematogena y subsecuente invasión del SNC (Fig. 2).

La diseminación al SNC a través de la barrera hematoencefálica puede ocurrir por cualquiera de dos vías, como una célula de levadura libre vía transcitosis o transporte del microorganismo dentro del macrófago (mecanismo del caballo de Troya). El neurotropismo de este microorganismo ha sido detalladamente explicado por varios mecanismos. Sin embargo, se piensa que el más importante es el aprovechamiento por parte del hongo de la dopamina en altos niveles presente en SNC, la cual ocupa para la producción de melanina, un importante factor de virulencia de este agente. Las meninges basales son preferentemente afectadas provocando un engrosamiento de las mismas y una posterior invasión de los tejidos cerebrales profundos (1, 2, 12).

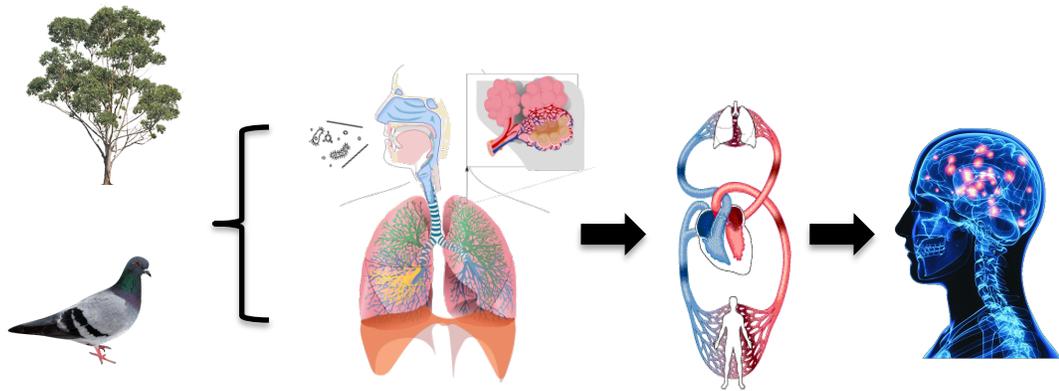


Fig. 2 – Invasión y diseminación del complejo *C. neoformans/C. gatii*.

Existen varios factores que contribuyen a la virulencia del complejo *Cryptococcus neoformans/ Cryptococcus gatii*, entre ellos los más estudiados son:

1.- Crecimiento dentro del hospedero a 37°C. Sin embargo, a 41° C es eliminado o se inhibe su crecimiento.

2.- Producción de una cápsula de glucuronoxylomanano (GXMN), que se ha demostrado inhibe la fagocitosis y la producción de anticuerpos, pero es un potente activador de la vía alterna del complemento, infecciones secundarias a cepas acapsulares han mostrado una mayor respuesta inflamatoria con un curso de la enfermedad benigno.

3.- Producción de fenol-oxidasa y la síntesis de melanina, que protege a este microorganismo del daño oxidativo, la fenol-oxidasa convierte a las

catecolaminas tales como la 3,4-dihidroxifenilalanina en pigmentos oscuros, tal que se piensa que este factor es relevante en el neurotropismo de este microorganismo.

4.- Otros factores de virulencia como la secreción de proteasas han sido asociados a *C. neoformans* (3, 10).

La presentación clínica causada por este microorganismo es dependiente del sitio principal de infección, así como del estado inmunológico del hospedero. La infección ocurre más comúnmente en hombres y es muy rara en niños, el rango de afección puede ir desde la enfermedad asintomática hasta la enfermedad diseminada de múltiples órganos y sistemas. El involucro del parénquima cerebral y las meninges ocurre en un 40-86% de los pacientes, constituyendo el sitio más común de afectación. La enfermedad puede tener un inicio agudo o crónico, caracterizado por cefalea, fiebre y meningismo; sin embargo, estos síntomas no siempre están presentes y pacientes inmunocomprometidos pueden presentar letargia, estupor, coma o demencia. Las complicaciones más comunes asociadas a la infección del SNC incluyen pero no se limitan a: hidrocefalia, déficit motor, hipertensión intracraneal, disminución del estado cognitivo. Las lesiones intracerebrales vistas por imagen se presentan como lesiones redondeadas con presencia de anillo que realza con el contraste, lo cual puede confundir su diagnóstico con el de toxoplasmosis (12, 13).

El tracto respiratorio sirve como el portal de entrada principal para *Cryptococcus*. Las manifestaciones clínicas en este órgano van desde la colonización asintomática, con o sin presencia de nódulos pulmonares en las radiografías, hasta la presentación de una neumonía aguda con síndrome de distrés respiratorio severo. El involucro pulmonar varía entre el 10-55% en pacientes con SIDA y meningoencefalitis por *Cryptococcus neoformans* (4).

La infección cutánea es la tercera manifestación clínica más común (después de la afección a SNC y pulmón). La presentación puede ser variable y a menudo indistinguible de las lesiones en piel por otras patologías infecciosas, por lo que la biopsia con cultivo e histopatología es indispensable. Es importante resaltar que los pacientes post-trasplantados de órgano sólido con inmunosupresión por tacrolimus parecen más propensos a desarrollar manifestaciones cutáneas de la enfermedad, las cuales en la mayoría de los casos no son primarias, sino secundarias a enfermedad diseminada (1).

La próstata constituye un sitio no poco común de invasión por *Cryptococcus*; sin embargo, por lo general se presenta asintomática. Se piensa que esta glándula constituye un sitio reservorio para la enfermedad en pacientes con recaídas, lo cual fortalece la necesidad de tratamientos antifúngicos prolongados para la erradicación de la enfermedad en pacientes severamente inmunocomprometidos (5).

Las manifestaciones oculares más comúnmente asociadas a *Cryptococcus* son la parálisis ocular y papiledema. Otras manifestaciones incluyen daño extenso a la retina con o sin vitritis, así como pérdida visual debido a infiltración del nervio óptico por levaduras o compromiso vascular debido a hipertensión intracraneal (1, 6).

Infecciones en otros sitios, como hueso, infiltración a médula ósea, peritonitis e incluso criptococuria han sido reportados. La mortalidad de pacientes con criptococosis y VIH se estima rondaba alrededor del 63% al año antes del advenimiento del uso de la Terapia Antiretroviral Altamente Efectiva, actualmente se estima en promedio en un 15.3%. Sin embargo, en lugares como el África sub-sahariana y Asia, la mortalidad y morbilidad relacionadas a esta enfermedad continúan siendo inadmisiblemente altas (1, 14).

2.3 Epidemiología

La meningitis por criptococo es la causa más común de meningitis en el adulto en regiones con alta prevalencia de VIH, además ocurre de manera cada vez más frecuente en pacientes con otras inmunosupresiones o aparentemente inmunocompetentes tal que actualmente en E.U.A, las meningitis por criptococo no relacionadas a VIH constituyen un cuarto de las hospitalizaciones y un tercio de las muertes por criptococosis meníngea. Se estima que la incidencia global de esta enfermedad es de alrededor de un millón de casos nuevos por año, con aproximadamente 100,000 a 500,000 muertes al año en el África sub-sahariana

solamente, tal que se piensa que la meningitis por criptococo ocasiona hasta un 17% de las muertes relacionadas al SIDA (15, 16).

En un estudio llevado a cabo en la Ciudad de México, este hongo se aisló en el 20% de las muestras obtenidas de excremento de palomas en áreas urbanas, encontrándose una proporción menor en verduras, frutas y el excremento de otras aves. En México, la meningitis por criptococo, junto a la histoplamosis y neumonía por *Pneumocystis jirovecii* representan las infecciones fúngicas serias más comunes en pacientes VIH positivos. En un estudio de estimación se encontró que alrededor de 2,351 personas al año con VIH se verán afectados por esta grave enfermedad (17-19).

En nuestro estado se han reportado estudios en los que a pesar del clima extremoso, seco y cálido con temperaturas de hasta 40°C, se encontró la presencia de *Cryptococcus* spp. en hasta un 20% de muestras de heces fecales de palomas (*Columba livia*) seleccionadas al azar (20).

En 1999, en la isla de Vancouver, en la Columbia Británica Canadiense, se presentó un brote de *Cryptococcus gatii*, sorprendiendo a la comunidad internacional ya que previamente solo había sido descrito en regiones tropicales y subtropicales, desde entonces más de 200 casos en humanos han sido reportados, y se ha aislado este microorganismo del suelo, agua y aire de esta región. En el 2004 un nuevo reporte de infección por este patógeno fue reportado en Oregon, para el año 2010 un total de 60 casos humanos habían

sido reportados en los estados de California, Idaho, Oregon y Washington y, en 2011, se reportó un caso fatal en Nuevo México. La proporción de casos de meningitis por *Cryptococcus gatii* en relación a los casos por *Cryptococcus neoformans* ha sido descrita en estudios epidemiológicos como 30/73 en el sur de California a 0/62 en Japón, en México en un estudio de 20 casos 6 fueron atribuidos a *C. gatii* (30%) (9, 21-23).

2.4 Tratamiento

El número de antifúngicos actual es limitado y su penetración en SNC es deficiente en varios casos. El tratamiento estándar para la criptocosis meníngea depende de un curso de inducción con anfotericina B deoxicolato 0.7 a 1 mg/kg al día por vía intravenosa en asociación con flucitosina 100mg/kg al día, seguido por una fase de consolidación que va de 8 semanas a toda la vida con azoles dependiendo del estatus inmunológico del paciente (Fig. 5) (24). La anfotericina B liposomal recientemente se ha convertido en la alternativa de elección para este padecimiento, presentando resultados similares con una menor nefrotoxicidad, y es primera elección en pacientes con alto riesgo de falla renal (25).

La flucitosina (4-amino-5-fluoro-1,2-dihidropirimidina-2-uno), un derivado fluorado de la citosina, que impide la síntesis del ADN durante el proceso de replicación celular al convertirse en fluoruracilo por actividad de una desaminasa dentro de la célula fúngica, se encuentra fuera del mercado en

varias regiones del mundo. En este punto, es importante mencionar que este medicamento no se encuentra a disposición de la población en varias regiones del mundo, entre ellas regiones endémicas de VIH como el Africa subsahariana, donde la criptococosis meníngea representa la causa principal de meningitis y en Latinoamérica donde se lleva a cabo nuestro estudio, en este mismo entorno la anfotericina B es un recurso que, aunque efectivo, no es siempre recomendable su uso debido a su elevada toxicidad, ocasionando principalmente problemas renales, hepáticos y de médula ósea, siendo siempre necesaria la hospitalización y monitoreo de los pacientes a quienes se administra, lo cual representa una carga económica importante al sistema de salud, agravando la ya de por si emproblemada situación en salud en países en desarrollo. En México se encuentran disponibles: anfotericina B complejo lipídico y anfotericina B dispersión coloidal desde 2007 y 2009, respectivamente, mientras que la anfotericina B liposomal se encuentra disponible desde 2014 (<http://www.gob.mx/cofepris>). Estas formulaciones han sido probadas para el tratamiento, y han demostrado ser igual y en ocasiones superiores, en todas las indicaciones en las que anfotericina B deoxicolato está recomendada. Sin embargo, existen varios factores que limitan su uso, el principal es el costo de estas formulaciones, que suele ser de 10 a 50 veces mayor que el de anfotericina B deoxicolato. A este respecto, es importante mencionar que desde mediados del año 2016 no ha habido en existencia en México Anfotericina B deoxicolato debido a que la principal productora de este fármaco PiSA® ha suspendido su producción por causas no bien conocidas. Es

en este escenario el cual resulta desastroso para la salud pública, ya que esta enfermedad ocasiona una alta mortalidad en aquellos afectados, que el descubrimiento y re-propósito de fármacos es imperativo, y que además resulten baratos y de fácil acceso (26, 27).

En países desarrollados, donde la anfotericina B constituye la piedra angular del tratamiento para criptococosis meníngea, la tasa de recaída anual durante el tratamiento de mantenimiento con fluconazol es muy baja (28). Sin embargo, en países en vías de desarrollo, donde debido al costo y la disponibilidad en muchos centros se ha utilizado la monoterapia con fluconazol, se han presentado tasas de resistencia elevadas (29).

El fluconazol es un compuesto triazólico de alta biodisponibilidad y que atraviesa con facilidad la barrera hematoencefálica, actuando mediante la inhibición de la enzima lanosterol 14- α demetilasa en el complejo citocromo P-450 de los hongos, interrumpiendo la conversión de lanosterol a ergosterol y ejerciendo de esta manera su efecto fungistático (30). La Organización Mundial de la Salud recomienda el uso de altas dosis de fluconazol en regiones donde la anfotericina B no se encuentra disponible, reportando un probable efecto fungicida cuando se administra a dosis de 800-1200 mg/día (31, 32), en otros estudios dosis convencionales de fluconazol (200-400mg/día) no resultaron en resolución de la enfermedad debido a su efecto meramente fungistático (33).

En un estudio reciente en pacientes con criptococosis meníngea, la terapia de combinación de anfotericina B y flucitosina demostró una mejoría en la supervivencia comparada con anfotericina B como monoterapia, mientras que la combinación anfotericina B más fluconazol no presentó beneficio en este apartado (34).

Actualmente existen diversos reportes de resistencia antifúngica de *Cryptococcus neoformans* a anfotericina B, fluconazol, itraconazol y flucitosina durante el tratamiento. Aunque existen programas de vigilancia a resistencias en *Candida* spp., programas similares evaluando la susceptibilidad de cepas de *C. neoformans* son escasos. En un estudio realizado por Pfaller y colaboradores entre 1990 y el 2004, en 100 centros alrededor de África, Europa, Latinoamérica, el Pacífico y Norteamérica, reporta una resistencia global a los tres antifúngicos de elección (FLC, AMB, 5-FC) menor al 1%. Es importante recalcar que en este estudio se demostró una susceptibilidad reducida a flucitosina y fluconazol de solo el 35% y 75%, respectivamente comparado al 94-100% en otras regiones (35).

Debido a lo anterior es que otros compuestos, especialmente en países subdesarrollados, han sido evaluados para su uso en el tratamiento de la criptococosis meníngea, tales como: el estudio de compuestos extraídos de plantas, inmunoterapia, terapia fotodinámica, el uso de nanopartículas y el repropósito de fármacos que tienen indicaciones para otros padecimientos pero

propiedades antifúngicas demostradas o sospechadas, mostrando resultados prometedores (36, 37).

2.5 Avances

La sertralina (Fig.6) es un derivado de la naftilamina (1S)-cis-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetrahidro-N-metil-1-naftalenamina, la cual es una base débil ($pK_a=9.16$) y debido a la presencia de un segundo grupo amino es altamente lipofílica y carece de interacciones polares, propiedades que explican su fácil penetración a través de la barrera hematoencefálica (38).

La sertralina, un potente inhibidor de la recaptura de serotonina, actúa sobre el área de unión a la serotonina del receptor 5-hidroxitriptamina y en algunos estudios ha demostrado propiedades antibacterianas, antiparasitarias, antivíricas y antitumorales (39-41). Se absorbe en el tracto gastrointestinal casi completamente, alcanzando una concentración máxima en plasma en 6-8 h. La vida media después de una sola toma de 50 a 200 mg varía según el sexo y la edad de 22.4 h a 36.7 hh (42), alcanzando concentraciones estables en sangre a la semana de su administración que varían de 0.055 a 0.25 $\mu\text{g/ml}$. Además, se ha encontrado que la sertralina alcanza niveles en SNC 20-40 veces mayores que su concentración en sangre e incluso niveles más altos en tejido pulmonar (43, 44).

Lass-Flörl y cols. reportaron por primera ocasión en el 2001 la observación de un caso clínico donde se presentó mejoría en síntomas asociados a candidiasis vulvovaginal en tres mujeres tomando sertralina para el tratamiento del desorden disfórico premenstrual, tal que al discontinuar su uso recaían en su sintomatología (45).

Se han descrito en la literatura concentraciones fungicidas del compuesto sertralina para *Cryptococcus spp.* por debajo de los 10 µg/ml menores que las encontradas para otros hongos como *Aspergillus* y *Candida spp.* (39, 45, 46).

La terapia de combinación de sertralina con fluconazol se ha especulado podría tener un efecto sinérgico sobre la inhibición del crecimiento de *Cryptococcus spp.* *in vitro* e *in vivo*, basado en el resultado de estudios previos, donde se usó esta combinación (39, 40). En un modelo murino se encontró disminución estadísticamente significativa de la carga fúngica en riñón y cerebro y no estadísticamente significativa en bazo mediante el uso de sertralina, así como un efecto sinérgico con fluconazol sobre la carga fúngica en los tres órganos antes mencionados (39). A ese respecto, antecedentes previos de nuestro grupo de investigación en los cuales se evaluó la actividad antifúngica de la sertralina *in vivo* en un modelo murino e *in vitro* sobre 153 aislamientos clínicos de *Cryptococcus neoformans*, encontrando resultados altamente prometedores, tal que la sertralina a dosis de 15 mg/kg redujo en el modelo murino la carga fúngica en el cerebro y el bazo con una eficacia similar a la del fluconazol, con una reducción de 1 log en cerebro y bazo. (Fig. 3) (47).

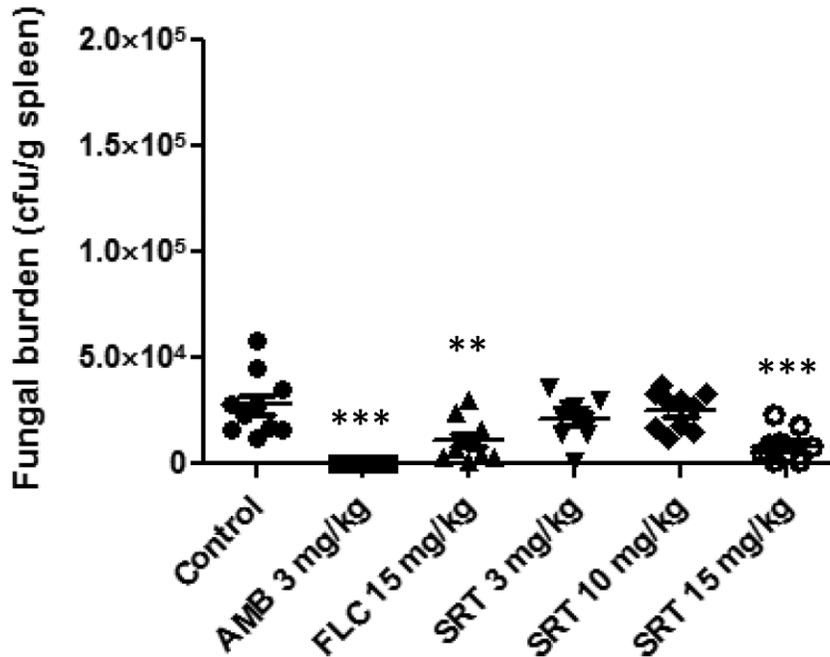


Figura 3 – Carga fúngica en tejido cerebral de ratones infectados por *Cryptococcus neoformans* siete días posteriores al reto (47).

Los resultados arrojados en investigaciones muestran que entre más resistente es una cepa a fluconazol, más probabilidades hay de que sea susceptible a la combinación de este medicamento con sertralina (40). En este escenario, la terapia de combinación podría evitar la toxicidad del uso de dosis elevadas de anfotericina B, elevar las propiedades antifúngicas del tratamiento estándar al añadir sertralina a la combinación o quizá ejercer algún efecto sobre el aclaramiento en líquido cefalorraquídeo (LCR), la resolución de la sintomatología o incluso la supervivencia.

Así mismo está demostrado que el uso de sertralina, incluso a largo plazo, se acompaña de pocos efectos colaterales y es bien tolerado (48), por lo que nosotros proponemos extender su estudio como medicamento antifúngico,

especialmente en el tratamiento de infecciones meníngeas por *Cryptococcus spp.* para sumar a la brevedad posible este compuesto al arsenal de medicamentos existentes para combatir esta infección.

CAPÍTULO 3

HIPÓTESIS

La sertralina es un compuesto que en estudios *in vitro*, incluyendo uno llevado a cabo en nuestra institución, presentó la propiedad de inhibir el crecimiento del hongo *Cryptococcus* spp. Esta inhibición se presentó a niveles que resultan de importancia clínica, ya que la sertralina, un compuesto lipofílico que atraviesa la barrera hematoencefálica con facilidad, alcanza niveles similares o aún mayores a los necesarios para la inhibición de este microorganismo en SNC, por lo mismo nuestra hipótesis enmarca que el uso de sertralina aunado al tratamiento convencional tendrá un efecto positivo sobre la eliminación del patógeno *Cryptococcus* spp., permitiendo una esterilización en LCR más rápida y efectiva medida mediante el parámetro denominado Actividad Fungicida Temprana (EFA), lo que podría redituarse en una mejoría en la evolución clínica e incluso en la supervivencia del paciente.

CAPÍTULO 4

OBJETIVOS

3.1 Objetivo primario

Medir el aclaramiento de LCR en pacientes afectados por criptococosis meníngea, mediante la medición de la EFA, lo cual se espera ocurra más eficientemente ante la presencia del compuesto estudiado como adyuvante al tratamiento estándar “sertralina”.

3.2 Objetivos Secundarios

1.- Evaluar la seguridad del uso de sertralina junto al tratamiento estándar en los pacientes reclutados.

2.- Determinar la supervivencia de los pacientes y su evolución clínica a 28 días.

CAPÍTULO 5

MATERIAL Y MÉTODOS

5. Material y Métodos

5.1 Lugar del Estudio

Este estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, adscrito a la Universidad Autónoma de Nuevo León, un centro hospitalario de tercer nivel con 450 camas, en la ciudad de Monterrey, Nuevo León, México. Se tiene un registro histórico de 10-15 pacientes al año hospitalizados con diagnóstico de criptococosis meníngea.

5.2 Diseño del estudio

Este es un estudio prospectivo, experimental, doble ciego, aleatorizado por sobre cerrado 1:1, en el cual se asignó al paciente a uno de 2 grupos: al grupo 1 se le suministrará un tratamiento de inducción con anfotericina B (1 mg/kg) más fluconazol 800mg/día más sertralina 200mg/día por 14 días. Por otra parte, los pacientes pertenecientes al grupo 2 recibieron el mismo

tratamiento, pero se sustituyó la sertralina por un placebo. Ambos grupos se abordaron intrahospitalariamente, se les realizaron punciones lumbares los días 0, 7 y 14, así como los exámenes de sangre que su médico a cargo consideró pertinentes para su tratamiento. Terminando la etapa de inducción al tratamiento se suspendió la intervención farmacológica del protocolo y se siguió el tratamiento estándar de mantenimiento consistente en fluconazol 800mg/día por mínimo 8 semanas y se dió seguimiento por la consulta externa, citándolos una semana después (21 días post-intervención) y 2 semanas después (28 días post-intervención), posteriormente se les dió el seguimiento regular esperado para estos pacientes.

5.2.1 Modo de administración del medicamento intervención y del placebo.

Para llevar a cabo la administración del medicamento a evaluar (sertalina) y el placebo, se utilizaron cápsulas vacías con capacidad de 500mg (Droguería y Farmacias Plaza, San Nicolás de los Garza, N.L.), las cuales para el grupo intervención fueron llenadas con dos tabletas de sertralina de 50 mg (Pfizer® Vitales, Toluca, México), tal que se administró una capsula cada 12 horas para completar una dosis total de 200 mg al día; en cuanto al grupo placebo cápsulas vacías idénticas fueron llenadas de azúcar comercial (azúcar, estándar, marca Soriana®) y se administraron igualmente a un intervalo de 12 h

para completar dos cápsulas al día. La elaboración del medicamento se realizó bajo condiciones de esterilidad en una campana de bioseguridad nivel II-A (Fig. 4).



Figura 4 – Elaboración del medicamento del protocolo.

5.3 Criterios de inclusión y exclusión

En el estudio se incluyó a pacientes con diagnóstico por antigenemia en LCR de meningitis por criptococo que sean VIH positivos, mayores de 18 años, sin antecedentes de enfermedad hepática, no embarazadas ni lactantes, que no hayan recibido anfotericina B con anterioridad para el padecimiento actual.

Se expidió un consentimiento informado y se explicó en este documento y de forma verbal el protocolo, así como sus derechos y su capacidad para abandonar el protocolo en el momento en que el así lo desee.

5.4 Criterios de inclusión de muestras

Se admitieron únicamente muestras de pacientes con diagnóstico confirmado de criptococosis meníngea. Se recibieron únicamente muestras de LCR, el volumen mínimo aceptable fue de 3 mly no se admitieron muestras con sangre, producto de una punción lumbar traumática. La muestra proporcionada se encontró debidamente rotulada y acompañada de su boleta de estudio.

5.5 Criterios de exclusión de muestras

No se admitieron para estudio muestras que no cumplieran con los criterios de inclusión previamente indicados.

5.6 Aprobación del Comité de Ética

Este estudio fue aprobado para su realización por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo el registro con la clave: **IF15-001**.

5.7 Procesamiento de las muestras

5.7.1 Antigenemia para *Cryptococcus*

Para la determinación de antígeno de *Cryptococcus* en LCR se utilizó el kit comercial CALAS[®] de Meridian Bioscience, Inc. (lote: 140100F292), el cual es un sistema de aglutinación en látex, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Brevemente, previo a la determinación antigénica se efectuó la preparación de la muestra, para esto se tomaban asépticamente 350 µl de LCR y se colocaban en un tubo Eppendorf estéril, se centrifugaba a 1000 g por 15 min para asegurar la separación de todos los glóbulos blancos y partículas y,

posteriormente, el sobrenadante se inactivaba por calor en un baño de agua hirviendo por espacio de 5 min.

A la par se inactivaba el control negativo proporcionado en el kit por calor a 56°C durante 30 min. Para la determinación se colocaban 25 µl de la muestra preparada y los respectivos controles internos del kit (control positivo, control de anticuerpo y control negativo) de manera individual en una placa oscura de titulación proporcionada en el kit y a continuación se les añadía un gota de látex de detección o látex control, se mezclaba el contenido de los círculos y se rotaba la placa en un agitador rotatorio a 125 ± 25 rpm durante 5 min. La aparición de agrupaciones pequeñas (pero definidas) o francamente grandes en un fondo débilmente nuboso o claro se consideraba prueba positiva y se procedía a su titulación mediante dilución seriada de la muestra.

5.7.2 Carga fúngica

Para la determinación de carga fúngica se utilizó la técnica microbiológica estándar de cuenta viable en placa. Brevemente, previa homogenización de la muestra se transfería asépticamente 1 ml de LCR a un tubo estéril y se centrifugaba a 14,000 rpm por 8-10 min para concentrar el paquete celular, se decantaba cuidadosamente el sobrenadante y la pastilla resultante se reconstituía en 350 µl de solución salina estéril y de esta suspensión se realizaban 2-4 diluciones seriadas

1:10 y se sembraban por duplicado alícuotas de 100 µl en placas de agar dextrosa de Sabouraud, las cuales se incubaban a 37°C por hasta 14 días con monitoreo periódico de crecimiento microbiano. El número de colonias discretas encontradas en la dilución más alta se multiplicaba por el factor de dilución correspondiente para establecer las unidades formadoras de colonia (UFC)/ml de LCR analizado.

5.7.3 Identificación de los aislamientos clínicos

Todo aislamiento clínico recuperado de cultivo se identificó fenotípicamente en el Laboratorio de Micología del Centro Regional de Control de Enfermedades Infecciosas (CRCEI) del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina, UANL como *Cryptococcus neoformans* con base en su característico crecimiento colonial mucoide, así como por su fuerte actividad ureasa y la incapacidad de la misma de inhibirse en presencia de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). La identificación definitiva de los aislamientos se efectuó por análisis de secuencias multilocus (MLST). Todos los aislamientos recuperados se guardaron como suspensiones celulares en agua destilada estéril y se almacenaron a temperatura ambiente con un duplicado en placa hasta su posterior utilización.

5.7.4 Susceptibilidad antifúngica

Los ensayos de susceptibilidad antifúngica *in vitro* de las cepas aisladas se efectuaron utilizando el método de microdilución en caldo, acorde a los

lineamientos estipulados en el documento M27-A3 del CLSI de los Estados Unidos de América. Los fármacos probados en este trabajo fueron obtenidos de sus respectivas casas comerciales, siendo los siguientes: fluconazol (Flucoxan[®]; PiSA, México), anfotericina B (Anfotericina B ;PiSA, México) y sertralina (TCI Chemicals Inc., Tokio, Japón). Las concentraciones finales de los fármacos fueron: 0.125 a 64 µg/ml para fluconazol y sertralina y de 0.03 a 16 µg/ml para anfotericina B. La concentración mínima inhibitoria (CMI) se definió como la concentración más baja de fármaco que no presentó crecimiento del organismo ensayado. Para el control de calidad de cada corrida se emplearon las cepas: *Candida parapsilosis* ATCC 22019 y *Candida krusei* ATCC 6258. Un aislamiento se considera resistente a anfotericina B con una CMI \geq 16 µg/ml y resistente a fluconazol con una CMI \geq 64 µg/ml.

CAPITULO 6

Resultados

6.1 Estudio Clínico

Este fue un estudio doble ciego, aleatorizado, controlado, que se realizó en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en donde se reclutaron pacientes en el periodo comprendido entre Junio de 2015 y Noviembre de 2016.

Se estudiaron para su inclusión en este estudio a un total de 14 pacientes con signos y síntomas compatibles con criptococosis meníngea y con estudio de tinta china positiva, de estos sólo 12 entraron en el grupo de intención a tratar y se corroboró su diagnóstico mediante antigenemia para criptococo en LCR, los otros dos se descartaron debido a que al momento de su diagnóstico no había existencia de anfotericina B deoxicolato en el hospital. De los pacientes en el grupo de intención a tratar se realizó aleatorización 1:1 mediante sobre cerrado y sin conocimiento del equipo tratante, ni del paciente. De estos pacientes, 5 pertenecieron al grupo Control a los cuales se administró el tratamiento estándar y 7 al grupo experimental en el cual se añadió al tratamiento estándar la administración de sertralina 200mg por vía oral. Un paciente falleció al tercer día de iniciado tratamiento, uno más se excluyó del

estudio debido a que no se le administró el fluconazol a las dosis adecuadas y otro más se descartó debido a que a pesar de tener un estudio de tinta china positiva y antigenemia para criptococo positiva, no se pudo aislar el hongo mediante cultivo (Fig. 5).

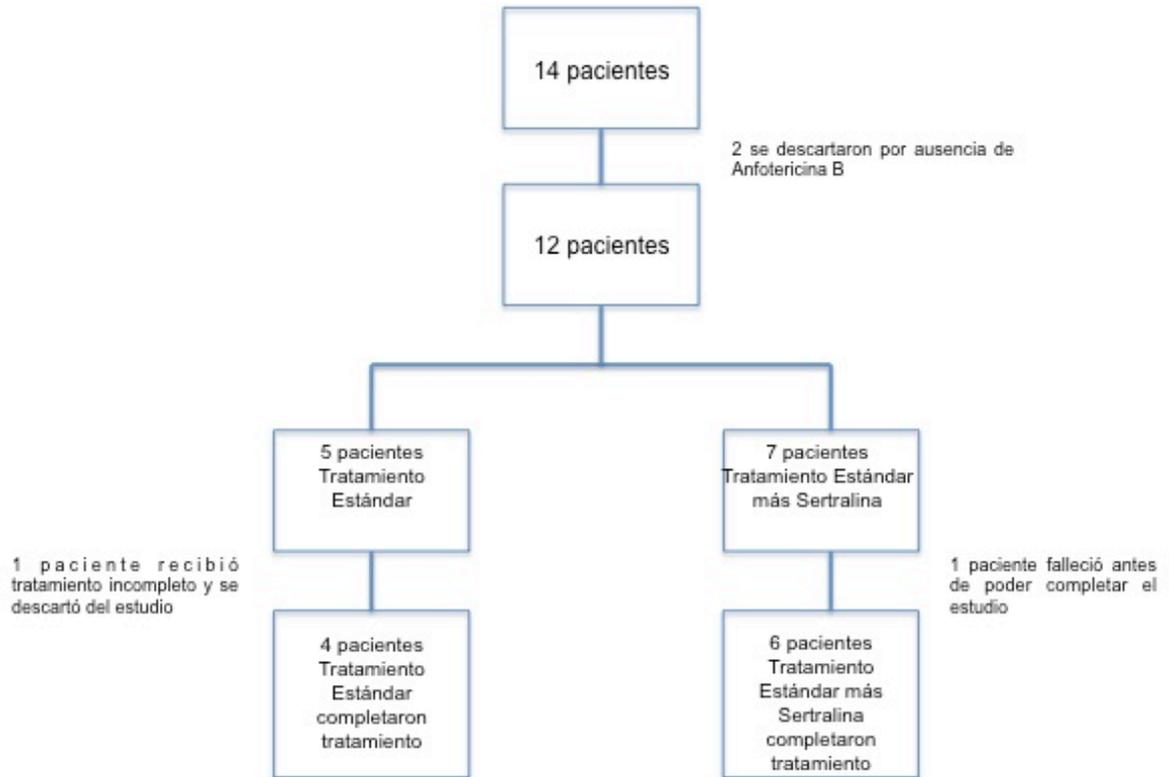


Figura 5 – Distribución de pacientes reclutados al protocolo.

De los pacientes incluidos en el grupo de intención a tratar, 11 fueron hombres y sólo una mujer, las características basales de los pacientes se presentan a continuación (Tabla 2):

Tabla 2 – Variables demográficas basales de los sujetos del protocolo.

Variables Demográficas	Tratamiento Estándar (n=5)	Tratamiento Estándar + Sertralina (n=7)
Hombres	5 (100)	6 (85)
Mujeres	0 (0)	1 (14)
Creatinina	0.85 (0.6-1.4)	0.68 (0.5-0.8)
AST	31.3 (19-61)	27.2 (10-55)
ALT	40.6 (21-67)	32.6 (10-83)
Presión de Apertura	28.6 (10-48)	38 (28-58)

Se midieron las cargas fúngicas en LCR en los días 0, 7 y 14 de los pacientes ingresados que completaron tratamiento tanto en el brazo experimental (Tratamiento Estándar + Sertralina), como en el brazo control (Tratamiento Estándar = Placebo), encontrándose los siguientes resultados (Tabla 3):

Tabla 3 – Carga fúngica en LCR, grupo con Placebo y grupo con Sertralina.

Grupo	DÍA 0 (UFC/mL)	DÍA 7 (UFC/mL)	DÍA 14 (UFC/mL)
Tratamiento Estándar			
Paciente 01	128,500	4340	79
Paciente 02	50200	0	0
Paciente 03	1700000	22000	2300
Paciente 04	1340000	2540	7

Grupo Tratamiento Estándar + Sertralina	DÍA 0 (UFC/mL)	DÍA 7 (UFC/mL)	DÍA 14 (UFC/mL)
Paciente 01	3000	73.5	10.5
Paciente 02	168000	15000	2990
Paciente 03	728000	6760	28
Paciente 04	602000	207000	721
Paciente 05	1310000	45.5	0
Paciente 06	109000	73.5	10.5

Con los datos obtenido se calculó la EFA, la cual es la tasa de decremento logarítmico de la carga fúngica equivalente a la pendiente en la curva de regresión lineal (Fig. 6 y 7).

Tratamiento Estándar

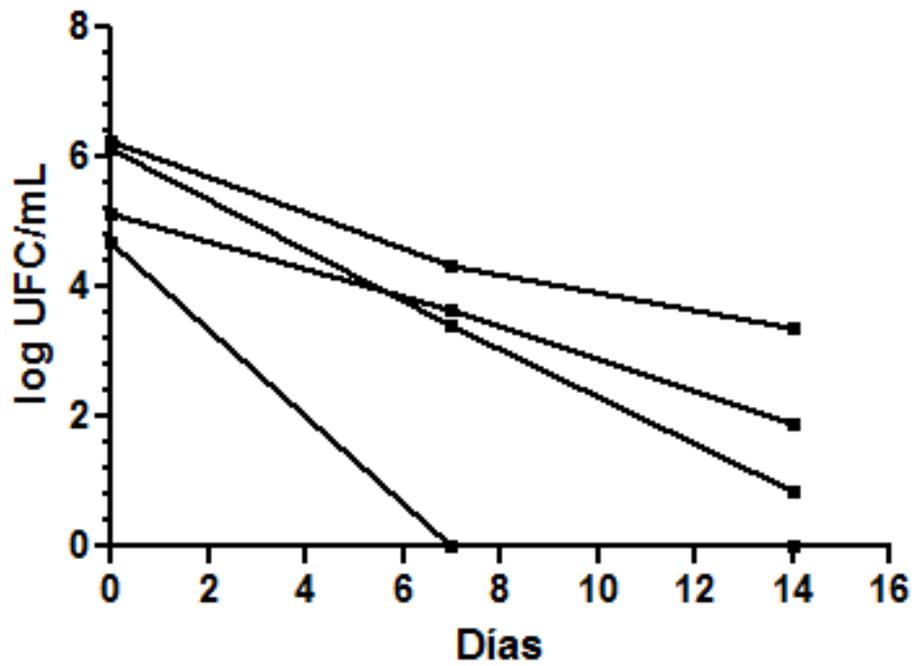


Figura 6 – Gráfica de regresión lineal del Grupo Control.

Tratamiento Estándar + Sertralina

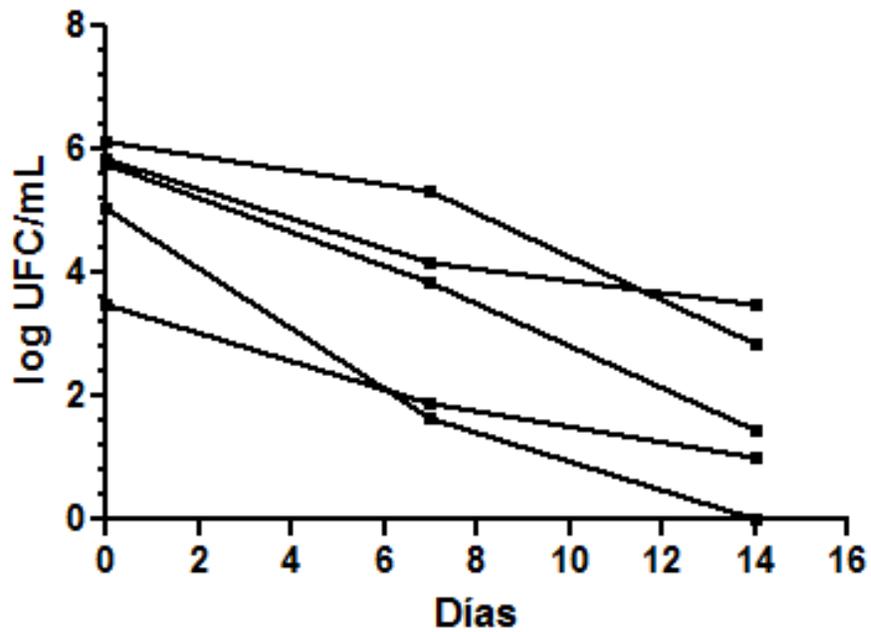


Figura 7 – Gráfica de regresión lineal del Grupo Experimental.

De estos datos obtenemos que la EFA del grupo Sertralina es: -0.2496 ± 0.08340 log UFC/mL por día, mientras que en pacientes con tratamiento estándar el resultado obtenido fue de: -0.2868 ± 0.08275 log UFC/mL por día. Se calculó significancia estadística de las EFAs de ambos grupos mediante la prueba *T* de Student, encontrando una $P= 0.5261$, resultando una diferencia no significativa (Fig. 8).

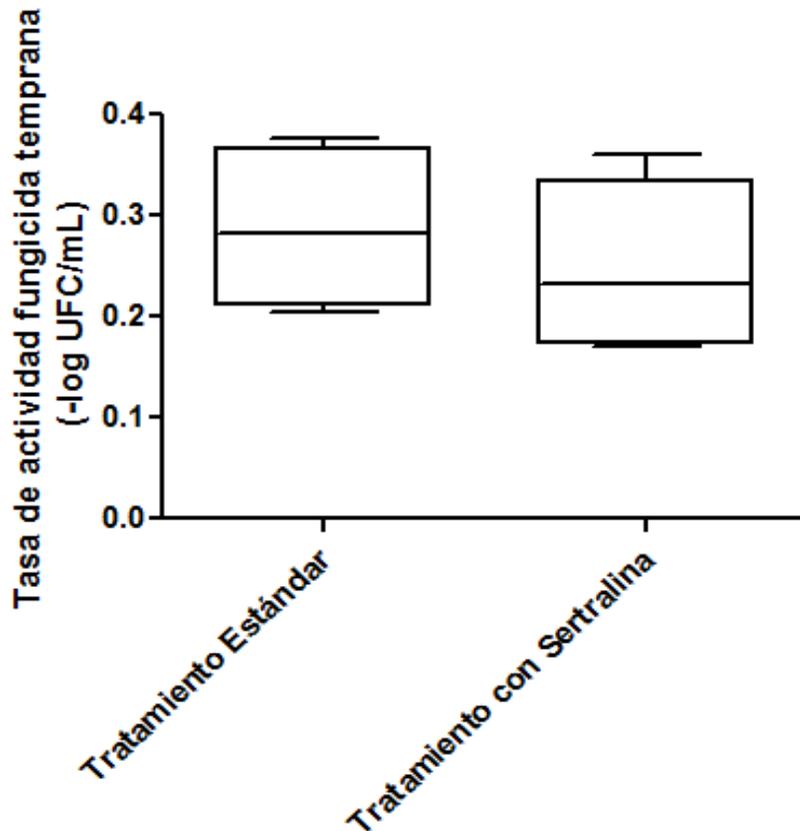


Figura 8 – Análisis comparativo de la Actividad Fungicida Temprana de ambos grupos.

6.2 Susceptibilidades de los aislamientos

Se realizaron estudios de susceptibilidad antifúngica de los aislamientos clínicos de *Cryptococcus* spp. frente a FLC, AMB y SRT, obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 4):

Tabla 4 – Susceptibilidad antifúngica de las cepas aisladas.

Aislamiento (Registro CRCEI)	Concentración mínima inhibitoria (µg/ml)		
	Fluconazol	Anfotericina B	Sertralina
Cn 226	2	1	8
Cn 227	1	1	8
Cn 228	2	0.5	8
Cn 230	1	2	4
Cn 235	1	1	8
Cn 236	2	1	8
Cn 240	1	1	8
Cn 241	2	1	8
Cn 242	1	1	8
Cn 246	1	1	4

CAPITULO 7

Discusión

El reposicionamiento de medicamentos es una tendencia que se encuentra en creciente aumento debido a varios factores, entre ellos la dificultad para el acceso a medicamentos en países subdesarrollados, la falta de interés por parte de las farmacéuticas para el desarrollo de nuevos medicamentos, la simplicidad técnica en el estudio del reposicionamiento de medicamentos al ser fármacos ya aprobados para su uso en seres humanos y, quizá el más importante de los factores, la creciente resistencia a los agentes antimicrobianos.

La meningitis por criptococo a pesar de ser una entidad conocida desde hace muchos años, sigue encontrándose asociada a una elevada mortalidad, sobre todo en países pobres donde el acceso y las condiciones del sistema de salud son difíciles y precarias, las guías de la IDSA (*Infectious Disease Society of America*) establecen que la primer y mejor línea de tratamiento para la meningitis por criptococo se basa en el uso de dos antifungicos: anfotericina B y 5-flucitosina. Sin embargo, debido a su limitada distribución mundial, el régimen de segunda elección consistente en anfotericina B y fluconazol es el más usado a nivel mundial, incluyendo a México, donde la flucitosina no es comercializada (24, 26) .

Es también de relevancia mencionar que la anfotericina B, piedra angular del tratamiento de la meningitis por criptococo es un medicamento con diversos efectos adversos, entre los que se encuentran: anemia, hipokalemia, hipomagnesemia, nefrotoxicidad, entre otros, además de que su penetración al SNC es deficiente, su elevado costo es otro de los motivos que limita su uso, el cual oscila entre los 3 a 12 dólares el ampula, lo cual constituye una barrera importante para su adquisición en países pobres. En las últimas décadas han aparecido nuevas formulaciones de este medicamento que no presentan su elevada incidencia de efectos adversos; sin embargo, el costo de anfotericina B complejo lipídico y anfotericina B liposomal ronda los 150 dólares por ampula, haciendo inaccesible su uso a las poblaciones en países en vías de desarrollo (26).

La sertralina es un medicamento concebido para el tratamiento del desorden del pánico y en diversos estudios ha demostrado ser seguro al usarse por tiempos prolongados, su penetración en SNC es 20-50 veces superior a su concentración en sangre y sus efectos adversos son generalmente limitados y de poca gravedad. En fechas recientes se han descubierto diversas nuevas propiedades de este compuesto, entre ellas su efecto antifúngico, siendo particularmente efectivo contra *Cryptococcus* spp., afirmación que es respaldada por estudios *in vitro* e *in vivo* en la literatura, de los cuales cada vez hay un número mayor (39, 40, 47, 48).

Anterior a nuestro estudio, Rhein y cols., realizaron un estudio de eficacia terapéutica de sertralina para criptococosis meníngea en Kampala, Uganda, donde se probaron diferentes dosis de este medicamento (100-400 mg), y se encontró que el uso de sertralina a cualquier dosis probada mejoraba la tasa de aclaramiento del LCR, este hallazgo junto al hecho de que la sertralina es un medicamento de amplia distribución, seguro, barato (0.05 dólares por tableta de 100 mg) y bien tolerado, lo convierten en una prometedora arma en la lucha contra la criptococosis meníngea (49).

En nuestro estudio se dividieron a los pacientes en dos grupos, un grupo en tratamiento estándar más placebo y un grupo con tratamiento estándar más sertralina. La mortalidad durante su internamiento fue menor al 10% tomando en cuenta ambos grupos lo cual es menor al porcentaje reportado a nivel mundial, lo cual se debió probablemente al monitoreo estricto que se llevó a cabo de los pacientes. Con respecto a la EFA, parámetro de medición que se utilizó en nuestro estudio y con el cual se evaluó la efectividad de la sertralina como adyuvante para lograr un aclaramiento más rápido de *Cryptococcus* en LCR, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos en el primer análisis, por lo cual se rechaza la hipótesis del efecto adyuvante de la sertralina. Debemos mencionar tras la evaluación estadística de los datos, que la diferencia en la EFA entre ambos grupos fue muy pequeña, lo cual se debió al número tan reducido de pacientes que fueron ingresados en este protocolo (debido a la súbita falta de disponibilidad de anfotericina B deoxicolato en México) o a las diferencias en las características basales entre

los pacientes de ambos grupos, las cuales no se tomaron en consideración para el análisis estadístico inicial. Si bien no podemos afirmar con estos datos que la sertralina tenga algún efecto benéfico en la evolución clínica o sobre el aclaramiento del LCR en los pacientes afectados por criptococosis meníngea, basados en la literatura reciente sobre el uso de sertralina para este fin, encontramos que es un medicamento prometedor y que estudios posteriores y con un tamaño de muestra mayor deben ser llevados a cabo en nuestra población para validar su uso en nuestro país.

CAPÍTULO 8

Conclusión

Debido a todo lo anterior, la conclusión de esta Tesis se resume en los siguientes puntos:

1. La sertralina es un medicamento seguro, económico y de amplia distribución mundial con un número creciente de evidencias que apoyan su uso en el tratamiento de la meningitis por criptococo.
2. En nuestro estudio un efecto estadísticamente significativo sobre el aclaramiento de *Cryptococcus* spp. del LCR en el grupo de pacientes a quienes se les proporciono sertralina como adyuvante al tratamiento estándar no fue demostrado.
3. La diferencia tan estrecha en la EFA entre ambos grupos nos lleva a concluir que el tamaño de muestra en nuestro estudio no permite una comparación adecuada, por lo que el efecto antifúngico de la sertralina no pudo ser debidamente estudiado.

Capítulo 9

Bibliografía

1. Maziarz EK, Perfect JR. Cryptococcosis. *Infectious disease clinics of North America*. 2016;30(1):179-206.
2. Tsuji OV, Barbabosa IM, Rivera TC. Criptococosis. Historia natural y estado actual del tratamiento. *Acta Pediatrica de México*. 2005;26(1):18-28.
3. Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS--100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clinical microbiology reviews*. 1995;8(4):515-48.
4. Brizendine KD, Baddley JW, Pappas PG, editors. *Pulmonary cryptococcosis. Seminars in respiratory and critical care medicine*; 2011: © Thieme Medical Publishers.
5. Staib F, Seibold M, L'age M. Persistence of *Cryptococcus neoformans* in seminal fluid and urine under itraconazole treatment. The urogenital tract (prostate) as a niche for *Cryptococcus neoformans*. *Mycoses*. 1989;33(7-8):369-73.
6. Rex JH, Larsen RA, Dismukes WE, Cloud GA, Bennett JE. Catastrophic visual loss due to *Cryptococcus neoformans* meningitis. *Medicine*. 1993;72(4):207-24.
7. Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *Aids*. 2009;23(4):525-30.
8. Srikanta D, Santiago-Tirado FH, Doering TL. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. *Yeast*. 2014;31(2):47-60.
9. López-Martínez R, Soto-Hernández JL, Ostrosky-Zeichner L, Castañón-Olivares LR, Angeles-Morales V, Sotelo J. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* among patients with cryptococcal meningitis in Mexico. First observations. *Mycopathologia*. 1996;134(2):61-4.
10. Bovers M, Hagen F, Boekhout T. Diversity of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2008;25(1):S4.
11. Khawcharoenporn T, Apisarnthanarak A, Mundy LM. Non-*neoformans* cryptococcal infections: a systematic review. *Infection*. 2007;35(2):51.
12. Subramanian S, Mathai D. Clinical manifestations and management of cryptococcal infection. *Journal of postgraduate medicine*. 2005;51(5):21.
13. Lin T-Y, Yeh K-M, Lin J-C, Wang N-C, Peng M-Y, Chang F-Y. Cryptococcal disease in patients with or without human immunodeficiency virus: clinical presentation and monitoring of serum cryptococcal antigen titers. *J Microbiol Immunol Infect*. 2009;42(3):220-6.
14. Calderón F, Ibañez C, González-Hernández J. Meningitis criptocócica en paciente VIH positivo: Revisión a propósito de un caso clínico. *Revista Memoriza com*. 2009;5:34-44.

15. Morán MAR, González GV, Espinosa JP, Macías LC, Rabiela JEO. Criptococosis cerebral: análisis de 29 casos en 23 años de autopsias en el Hospital General de México. *pat.* 2009;47(3).
16. Williamson PR, Jarvis JN, Panackal AA, Fisher MC, Molloy SF, Loyse A, et al. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. *Nature Reviews Neurology.* 2016.
17. Castanon-Olivares L, Lopez-Martinez R. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon (*Columba livia*) droppings in Mexico City. *Mycoses.* 1993;37(9-10):325-7.
18. Lopez-Martinez R, Castanon-Olivares L. Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from bird droppings, fruits and vegetables in Mexico City. *Mycopathologia.* 1995;129(1):25-8.
19. Corzo-León D, Armstrong-James D, Denning D. Burden of serious fungal infections in Mexico. *Mycoses.* 2015;58(S5):34-44.
20. Canónico-González Y, Adame-Rodríguez JM, Mercado-Hernández R, Aréchiga-Carvajal ET. *Cryptococcus* spp. isolation from excreta of pigeons (*Columba livia*) in and around Monterrey, Mexico. *SpringerPlus.* 2013;2(1):632.
21. Control CfD, Prevention. Emergence of *Cryptococcus gattii*—Pacific Northwest, 2004-2010. *Annals of Emergency Medicine.* 2011;57(1):60-2.
22. Galanis E, MacDougall L, Kidd S, Morshed M. Epidemiology of *Cryptococcus gattii*, British Columbia, Canada, 1999–2007. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(2):251-7.
23. Walraven CJ, Gerstein W, Hardison SE, Wormley F, Lockhart SR, Harris JR, et al. Fatal disseminated *Cryptococcus gattii* infection in New Mexico. *PloS one.* 2011;6(12):e28625.
24. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases.* 2010;50(3):291-322.
25. Leenders AC, Reiss P, Portegies P, Clezy K, Hop WC, Hoy J, et al. Liposomal amphotericin B (AmBisome) compared with amphotericin B both followed by oral fluconazole in the treatment of AIDS-associated cryptococcal meningitis. *Aids.* 1997;11(12):1463-71.
26. Loyse A, Thangaraj H, Easterbrook P, Ford N, Roy M, Chiller T, et al. Cryptococcal meningitis: improving access to essential antifungal medicines in resource-poor countries. *The Lancet infectious diseases.* 2013;13(7):629-37.
27. Catalán M, Montejo JC. Antifúngicos sistémicos. *Farmacodinamia y farmacocinética. Revista iberoamericana de micología.* 2006;23(1):39-49.
28. Bicanic T, Harrison T, Niepieklo A, Dyakopu N, Meintjes G. Symptomatic relapse of HIV-associated cryptococcal meningitis after initial fluconazole monotherapy: the role of fluconazole resistance and immune reconstitution. *Clinical infectious diseases.* 2006;43(8):1069-70.
29. Bozzette SA, Larsen RA, Chiu J, Leal MAE, Jacobsen J, Rothman P, et al. A placebo-controlled trial of maintenance therapy with fluconazole after treatment of cryptococcal meningitis in the acquired immunodeficiency syndrome. *New England Journal of Medicine.* 1991;324(9):580-4.

30. Fica A. Tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas Primera parte: fluconazol, itraconazol y voriconazol. *Revista chilena de infectología*. 2004;21(1):26-38.
31. Rajasingham R, Rolfes MA, Birkenkamp KE, Meya DB, Boulware DR. Cryptococcal meningitis treatment strategies in resource-limited settings: a cost-effectiveness analysis. *PLoS medicine*. 2012;9(9):e1001316.
32. Longley N, Muzoora C, Taseera K, Mwesigye J, Rwebembera J, Chakera A, et al. Dose response effect of high-dose fluconazole for HIV-associated cryptococcal meningitis in southwestern Uganda. *Clinical infectious diseases*. 2008;47(12):1556-61.
33. Schaars C, Meintjes G, Morroni C, Post F, Maartens G. Outcome of AIDS-associated cryptococcal meningitis initially treated with 200 mg/day or 400 mg/day of fluconazole. *BMC infectious diseases*. 2006;6(1):118.
34. Day JN, Chau TT, Wolbers M, Mai PP, Dung NT, Mai NH, et al. Combination antifungal therapy for cryptococcal meningitis. *New England Journal of Medicine*. 2013;368(14):1291-302.
35. Pfaller M, Messer S, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis R, et al. Global trends in the antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* (1990 to 2004). *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(5):2163-7.
36. Butts A, DiDone L, Koselny K, Baxter BK, Chabrier-Rosello Y, Wellington M, et al. A repurposing approach identifies off-patent drugs with fungicidal cryptococcal activity, a common structural chemotype, and pharmacological properties relevant to the treatment of cryptococcosis. *Eukaryotic cell*. 2013;12(2):278-87.
37. Gullo F, Rossi S, de CO Sardi J, Teodoro V, Mendes-Giannini M, Fusco-Almeida A. Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2013;32(11):1377-91.
38. Mandrioli R, Mercolini L, Raggi MA. Evaluation of the pharmacokinetics, safety and clinical efficacy of sertraline used to treat social anxiety. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*. 2013;9(11):1495-505.
39. Zhai B, Wu C, Wang L, Sachs MS, Lin X. The antidepressant sertraline provides a promising therapeutic option for neurotropic cryptococcal infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(7):3758-66.
40. Nayak R, Xu J. Effects of sertraline hydrochloride and fluconazole combinations on *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *Mycology*. 2010;1(2):99-105.
41. Letendre SL, Marquie-Beck J, Ellis RJ, Woods SP, Best B, Clifford DB, et al. The role of cohort studies in drug development: clinical evidence of antiviral activity of serotonin reuptake inhibitors and HMG-CoA reductase inhibitors in the central nervous system. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2007;2(1):120.
42. Hiemke C, Härtter S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacology & therapeutics*. 2000;85(1):11-28.
43. Winek CL, Wahba WW, Winek Jr CL, Balzer TW. Drug and chemical blood-level data 2001. *Forensic science international*. 2001;122(2):107-23.

44. Tremaine LM, Welch WM, Ronfeld RA. Metabolism and disposition of the 5-hydroxytryptamine uptake blocker sertraline in the rat and dog. *Drug metabolism and disposition*. 1989;17(5):542-50.
45. Lass-Flörl C, Dierich MP, Fuchs D, Semenitz E, Ledochowski M. Antifungal activity against *Candida* species of the selective serotonin-reuptake inhibitor, sertraline. *Clinical Infectious Diseases*. 2001;33(12):e135-e6.
46. Lass-Flörl C, Dierich M, Fuchs D, Semenitz E, Jenewein I, Ledochowski M. Antifungal properties of selective serotonin reuptake inhibitors against *Aspergillus* species in vitro. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001;48(6):775-9.
47. Treviño-Rangel RdJ, Villanueva-Lozano H, Hernández-Rodríguez P, Martínez-Reséndez MF, García-Juárez J, Rodríguez-Rocha H, et al. Activity of sertraline against *Cryptococcus neoformans*: in vitro and in vivo assays. *Medical mycology*. 2016;54(3):280-6.
48. Rapaport MH, Wolkow R, Rubin A, Hackett E, Pollack M, Ota KY. Sertraline treatment of panic disorder: results of a long-term study. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2001;104(4):289-98.
49. Rhein J, Morawski BM, Hullsiek KH, Nabeta HW, Kiggundu R, Tugume L, et al. Efficacy of adjunctive sertraline for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis: an open-label dose-ranging study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(7):809-18.

CAPÍTULO 10

RESÚMEN AUTOBIOGRÁFICO

Nací en Monterrey, Nuevo León el día 06 de agosto de 1982. Ingresé a la Esc. Primaria “Prof. Pablo Cantú Villarreal” (Anexa a la Normal) en 1988, egresando en el año de 1994, tras lo cual curse estudios de nivel secundaria en la Esc. Sec. No. 7 “Margarita Maza de Juárez”, Generación 1994-1997, posteriormente entré a la preparatoria “Tec. Rómulo Garza”, donde realice estudios de Preparatoria Técnica en Sistemas Computacionales de 1997-2000 , durante este periodo inicié estudios para certificarme como Instructor de la Lengua Inglesa mismos que concluyeron en el año 2001, Realice estudios Universitarios en la UANL, primero en la Facultad de Ciencias Físico Matemáticas donde estuve matriculado desde el año 2000-2004, sin embargo trunque esta carrera y decidí transferirme a la Facultad de Medicina de la misma Universidad donde, concluí mis estudios de Médico Cirujano Partero habiéndome graduado de los mismos en la Generación 2004-2010. Llevé a cabo mi servicio social, en la comunidad de “Congregación Calles”, Montemorelos, N.L. del 2010-2011. Posteriormente ingresé a la especialidad de Medicina Interna, en el Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León, la cual cursé del año 2011-2015, y actualmente me encuentro en el segundo año de la subespecialidad en Infectología.