



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
SERVICIO DE DERMATOLOGÍA  
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O. D.

**“Concentraciones plasmáticas de Lactato en sujetos con  
Pénfigo Vulgar en el servicio de Dermatología del  
Hospital General de México”**

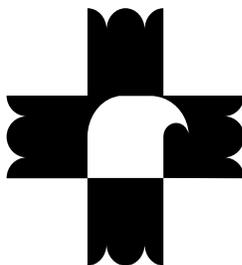
Tesis de Posgrado para obtener el título de:  
**Especialista en Dermatología**

Presenta:

**Dra. Cecilia Eugenia Pulido Collazos**

Tutor de Tesis: Dr. Andrés Tirado Sánchez

Cotutor de Tesis: Dra. Rosa María Ponce Olivera



MÉXICO D. F.

2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**“Concentraciones plasmáticas de Lactato en sujetos  
con Pénfigo Vulgar en el servicio de Dermatología del  
Hospital General de México”**

Tesis que fue revisada y aprobada para su impresión por la Dra. Rosa  
María Ponce Olivera, Titular del curso de Posgrado de Dermatología y  
Jefe del Servicio de Dermatología del Hospital General de México, O.D.

**Dr. Francisco González Martínez**  
Director de Enseñanza  
Hospital General de México, O.D.

**Dra. Rosa María Ponce Olivera**  
Jefe del Servicio de Dermatología  
Profesor titular del curso de Posgrado en Dermatología  
Hospital General de México, O.D.

Tutor de Tesis

**Dr. Andrés Tirado Sánchez**

Médico Adscrito del Servicio de Dermatología  
Hospital General de México, O.D.

Cotutor de Tesis

**Dra. Rosa María Ponce Olivera**

Jefe del Servicio de Dermatología  
Profesor titular del curso de Posgrado en Dermatología  
Hospital General de México, O.D.

Autor de Tesis

**Dra. Cecilia Eugenia Pulido Collazos**

Residente de Dermatología, 4 año  
Hospital General de México, O.D.

## **Agradecimientos**

A Dios por ser mi guía y mi sustento.

A mis padres, Hernando Alfonso y Judith,

A mis hermanos Angela María y Pablo Andrés,

A mis cuñados Alberto y Virginia,

A mis sobrinos Camilo y Gabriela,

por todo su amor incondicional y por creer y apoyar mis metas.

A mis Maestros, por sus enseñanzas.

A mis pacientes, por su confianza.

A los compañeros que me dieron su apoyo sincero, gracias.

Al personal del servicio de Dermatología, Dermatopatología, Micología y al personal general del Hospital General de México, por toda su colaboración.

Gracias por permitir mi desarrollo profesional y mi crecimiento personal.

## INDICE

Resumen Estructurado	1
Parte I. Marco Teórico	
1.1 Pénfigo Vulgar	6
1.2 Lactato	10
Parte II. Material y Métodos	
1. Planteamiento del problema	19
2. Justificación	20
3. Hipótesis	21
4. Objetivo	21
4.1 Objetivo general	21
4.2 Objetivos específicos	22
5. Diseño del estudio	22
6. Metodología	23
6.1 Lugar donde se realizó el estudio	23
6.2 Universo, muestra y tamaño de la muestra	23
6.3 Método de selección de los sujetos	24
6.4 Criterios de selección	24
6.4.1 Criterios de inclusión de casos	24
6.4.2 Criterios de no inclusión de casos	25
6.4.3 Criterios de inclusión de controles	25

6.4.4 Criterios de no inclusión controles	26
6.5 Procedimientos	26
6.6 Variables del estudio	28
6.7 Técnicas de análisis estadístico	29
7. Recursos	30
8. Aspectos éticos y de bioseguridad	30
9. Relevancia y expectativas	31
10.Resultados	31
11.Discusión	37
12.Conclusiones	43
Parte III. Anexos	
Anexo 1. Consentimiento informado	46
Anexo 2. Hoja de recolección de datos de los sujetos del estudio	55
Anexo 3. Procedimiento para la recolección de la muestra	56
Anexo 4. Documentos de aprobación de la Comisión de Ética y de Investigación del Hospital General de México O.D.	58
Parte IV. Referencias	59

# **“Concentraciones plasmáticas de Lactato en sujetos con Pénfigo Vulgar en el servicio de Dermatología del Hospital General de México”**

## **Resumen Estructurado**

### **I.I Antecedentes**

El pénfigo vulgar (PV) es una enfermedad autoinmune, ampollosa que afecta la piel y/o mucosas, de carácter crónico y severidad variable.

Su fisiopatología no está aún completamente determinada, por lo que sigue siendo objeto de estudio. Una línea de estudio en el PV es la inmunológica, basada en la presencia de auto anticuerpos IgG contra diferentes antígenos del queratinocito, de tipo desmogleina y no – desmogleina, planteada en la “hipótesis del golpe múltiple” y que se requeriría para producir el fenómeno histológico característico del PV, la acantolisis. En la práctica clínica, es la cuantificación de anticuerpos anti desmogleina, la que se utiliza más ampliamente para evaluar la actividad del PV, aunque sus valores no siempre se correlacionan en forma directamente proporcional con la severidad clínica.

Otra línea de estudio en el PV, es la teoría metabólica, la cual evidencia un predominio del metabolismo anaeróbico en la piel de sujetos con PV, con implicaciones aún desconocidas, pero cuya valoración podrían ser reflejo del grado de afectación. Estudios previos han mostrado que el daño tisular genera un incremento en el metabolismo anaeróbico como primera respuesta hacia el mismo

y adicionalmente en heridas de piel de conejos blancos de Nueva Zelanda, como reflejo del metabolismo anaeróbico, se encontraron niveles incrementados de lactato tanto a nivel tisular como en sangre periférica (plasma).

Por lo anterior se esperaría encontrar en PV, una relación directa entre el grado de afectación cutánea y el incremento del metabolismo anaeróbico y por ende en los niveles de lactato, como parámetro del mismo, inicialmente a nivel intracelular y posteriormente extracelular, a nivel intravascular, con la finalidad de tratar de preservar la homeostasia a nivel epidérmico.

## **I.II Justificación**

El encontrar niveles incrementados de lactato plasmático en sujetos con PV plantearía la posibilidad de utilizarlo como biomarcador del daño epidérmico estableciéndose una correlación clínico – bioquímica. De ser así, se constituiría como una técnica medible, accesible, económica y fácil de realizar, que permitiría evaluar objetivamente el daño epidérmico,

## **I.III Hipótesis**

Si la concentración plasmática de lactato está elevada en el PV entonces podría constituirse como biomarcador bioquímico del daño epidérmico.

## **I.IV Objetivo General**

Determinar el valor de las concentraciones plasmáticas de lactato en sujetos con PV.

#### **I.V Diseño y Duración**

Se realizó un estudio prospectivo, observacional, transversal y descriptivo en sujetos sanos y con PV que acudieron a consulta externa del servicio de Dermatología, del Hospital General de México O.D.

#### **I.VI Material y Métodos**

Se incluyeron 46 sujetos: 28 sujetos sanos y 18 sujetos con PV que cumplieron con los criterios de selección y aceptaron participar en el estudio autorizándolo a través del consentimiento informado.

Se recolectó la siguiente información: edad, género, porcentaje de superficie corporal afectada (basado en la regla del 9), presencia de infección, uso de inmunosupresor sistémico y finalmente mediante punción periférica se obtuvo 3mL de sangre venosa para la determinación plasmática de lactato.

#### **I.VII Variables**

Las variables que se determinaron fueron: edad, género, concentración plasmática de lactato, porcentaje de superficie corporal afectada, presencia de infección y uso de inmunosupresor sistémico.

#### **I.VIII Procedimiento**

Los sujetos del estudio, a través de los criterios de selección, fueron elegidos de la consulta externa de Dermatología y posterior a su aceptación y autorización a

participar en el estudio, se realizó la captura de datos, exploración física y toma de muestra de 3mL de sangre periférica.

En los sujetos con PV se realizó adicionalmente la medición del porcentaje de superficie corporal afectada, mediante la regla del 9.

### **I.IX Cronograma de actividades**

La selección, recopilación de datos y análisis de los resultados, se llevaron a cabo de Agosto 2011 a Enero 2012.

### **IX. Análisis de resultados**

Para determinar las concentraciones plasmáticas de lactato en sujetos con PV se realizó la comparación de las variaciones de las concentraciones de lactato plasmático entre sujetos con PV y sanos mediante la prueba no paramétrica de Mann Whitney y el programa SPPP versión 17 para Windows, para el análisis estadístico.

Adicionalmente mediante la prueba de correlación de Pearson se determinó la correlación encontrada entre los niveles plasmáticos de lactato y el porcentaje de superficie corporal afectada, utilizada como parámetro de severidad clínica del PV.

### **I.XI Resultados**

Los sujetos con PV cursaron con niveles incrementados de lactato plasmático, en promedio de  $3.52 \pm 0.41$  mmol/L (Intervalo 0.5 – 6.02 mmol/L) o  $31.75 \pm 3.7$  mg/dL

(Intervalo 4.55-54.32 mg/dL) con una diferencia significativa ( $p = 0.001$ ) respecto a los valores normales encontrados en sujetos sanos y con una correlación importante, del 85%, entre los valores de lactato plasmático y el porcentaje de superficie corporal afectada ( $R = 0.851$ ,  $p = 0.063$ ).

## **I.XII Conclusiones**

El lactato plasmático se encuentra incrementado en sujetos con PV como expresión del daño epidérmico y sugiere una buena correlación, clínico – bioquímica, entre el porcentaje de superficie corporal afectada y los niveles de lactato plasmático.

**I.XIII Palabras clave: Pénfigo vulgar, lactato, daño epidérmico, superficie corporal afectada, severidad.**

## Parte I. Marco Teórico

### 1.1 Pénfigo Vulgar

El Pénfigo vulgar (PV) es una enfermedad autoinmune, ampollosa, crónica, infrecuente, que puede asociarse a un incremento en la morbimortalidad del que la padece<sup>1</sup>.

Su incidencia, es variable en relación a la zona geográfica. Reportándose una incidencia, por 100.000 habitantes por año, en Irán de 5 casos (en Isfahán, Irán 0.67); Estados Unidos 3.2 (en su población Judía 0.42); Grecia 0.8, Reino Unido 0.7, Túnez 0.67, Serbia, Montenegro y Sur de Voivodina 0.66, Bulgaria 0.47, Kuwait 0.46, Macedonia 0.44, Mali 0.29, Francia 0.27 al sur (0.17 en Paris), Italia 0.25, Turquía 0.24, Arabia Saudita 0.16, Rumania 0.4, Alemania 0.098 y Finlandia 0.0076 <sup>2</sup>. En México aún se desconoce tanto la prevalencia como la incidencia exacta de la enfermedad.

Clínicamente el PV se manifiesta con vesículas y ampollas flácidas de contenido seroso o serohemático, exulceraciones con costras sanguíneas y manchas hiperpigmentadas residuales en piel y/o mucosas.

El diagnóstico del PV se basa en criterios clínicos (cuadro clínico característico), histopatológicos (desarrollo de una ampolla suprabasal) e inmunológicos (depósito

de anticuerpos de tipo IgG entre los queratinocitos supra-basales o bien circulantes) dirigidos principalmente contra desmogleína 3.<sup>3</sup>

Antes del uso de los esteroides sistémicos, la evolución del PV culminaba en complicaciones que podían llevar a la muerte al paciente. En la actualidad, la mortalidad del PV es del 8 al 10%, con variaciones relativas de acuerdo al país que lo reporte. El tratamiento va encaminado a la reducción en la producción de auto anticuerpos a través del uso de esteroides sistémicos, en conjunto con ahorradores de esteroides como la azatioprina, la ciclofosfamida, la ciclosporina, el mofetil micofenolato y otros como la plasmaféresis, la Ig IV y la terapia biológica como es el caso del rituximab<sup>3</sup>.

La fisiopatología de la enfermedad aún no está del todo esclarecida, por lo que sigue siendo objeto de exhaustivo estudio. El PV se caracteriza por la presencia de auto anticuerpos IgG contra diferentes antígenos de los queratinocitos como las moléculas de adhesión (desmogleinas), proteínas mitocondriales, receptores de acetilcolina en queratinocitos, factores séricos y tisulares como el FasL, TNF $\alpha$ , citoquinas, serinas, proteasas y óxido nítrico.

La hipótesis de golpe múltiple ("*Multiple Hit hypothesis*") señala que existe una variedad de anticuerpos anti desmogleína y no - desmogleína necesarios para producir el fenómeno histológico característico del PV (acantolisis)<sup>4</sup>. El mecanismo por el cual se producen estos auto anticuerpos, no está aún esclarecido; se cree

que depende de la interacción de factores genéticos (predisposición familiar y/o racial) con factores ambientales (ocupacional, fármacos, etc)<sup>3,4</sup>.

Son principalmente los anticuerpos antidesmogleina 3 los que se han utilizado para determinar la actividad en el PV, con una correlación variable tanto en ésta como en el grado de severidad de la dermatosis<sup>5,6</sup>.

Otra línea de estudio que pretende explicar el desarrollo de la enfermedad, es precisamente mediante el metabolismo celular de la piel en los pacientes con PV. En condiciones normales el metabolismo de la piel es predominantemente anaeróbico<sup>7</sup> y se encarga de metabolizar a la glucosa, su principal fuente energética, generando a través de la glicolisis (primera respuesta ante el daño tisular), el piruvato. Una vez que se forma, este producto puede seguir diferentes vías metabólicas. Así, en condiciones anaeróbicas genera 2 moléculas de ATP, 2 lactato y 2 H<sup>+</sup> y en condiciones aeróbicas generan 38 moléculas de ATP<sup>8-12</sup>.

Específicamente en el queratinocito, el metabolismo anaeróbico se mantiene a pesar de contar éste con toda la maquinaria necesaria para realizar un metabolismo aeróbico, como son la mitocondria, enzimas mitocondriales e inclusive saturaciones normales de oxígeno<sup>7,13,14</sup>.

Esto se ha evidenciado en biopsias de piel, mediante técnicas histoquímicas, histoenzimológicas y microscopia electrónica, de pacientes con PV<sup>15</sup>.

Así, el incremento del metabolismo anaeróbico se presenta a nivel de epidermis, células de tejido conectivo, células inflamatorias, vasos sanguíneos, fibras nerviosas y corpúsculos encapsulados. Específicamente en el queratinocito, éste metabolismo anaeróbico incrementado, se corroboró por niveles bajos de NADH<sub>2</sub> – citocromo –C reductasa (enzima mitocondrial), que participa en la fosforilación oxidativa y niveles altos de lactato deshidrogenasa (LDH) (enzima citoplasmática y mitocondrial) encargada de la formación de lactato o piruvato, lo mismo que niveles altos de la ATPasa pH 9.4, enzima de membrana, que correlaciona con daños a las mismas y finalmente la disminución de las crestas mitocondriales, estos dos últimos cambios, observados por microscopia electrónica<sup>15</sup>.

La cuantificación de lactato, más que la LDH, es el parámetro que más se ha correlacionado con el predominio del metabolismo anaeróbico, ya que persisten sus niveles, aún en condiciones de hiperoxia leve, como se ha observado en heridas de piel, *in situ*, en animales<sup>16</sup>.

Por lo anterior, a mayor afectación epidérmica (daño tisular), será esperado un incremento en el metabolismo anaeróbico de la misma magnitud y por ende en los niveles de lactato inicialmente intracelular y posteriormente extracelular, en sangre periférica, estableciéndose así una correlación clínico – bioquímica de daño epidérmico en PV.

## 1.2 Lactato

El uso del lactato en la práctica clínica como biomarcador en procesos biológicos (normales o patológicos) o de respuesta terapéutica, se conoce desde hace décadas<sup>12</sup>.

El lactato sanguíneo es un biomarcador de perfusión tisular, de la disfunción aeróbica mitocondrial y del metabolismo celular anaeróbico<sup>17</sup>; adicionalmente es predictor de morbilidad y mortalidad en el paciente crítico en estados de choque, principalmente séptico<sup>18</sup>, infarto agudo de miocardio<sup>19</sup>, intoxicación por cianuro<sup>20</sup> y cáncer<sup>21</sup>. En el paciente crítico, el presentar niveles de lactato sanguíneo > 4mmol/L y persistentes por más de 24 horas, se asocian a mayor riesgo de infección, disfunción orgánica y muerte<sup>11,22</sup>. El lactato también se ha utilizado para evaluar la respuesta terapéutica en pacientes en choque por otras causas distintas a la infecciosa<sup>12,23,24</sup>.

Estudios en PV y lactato, en base a la información revisada hasta la fecha, solo está el estudio realizado por Tirado y col., donde se plantea al lactato sérico como predictor de muerte en sujetos con PV y sepsis severa<sup>25</sup>.

El lactato es un anión que se encuentra, en condiciones normales, tanto en el espacio intracelular como extracelular. Su presentación como ácido láctico (ácido débil) se da cuando se une al hidrógeno, que es un catión<sup>11</sup>. El predominio de lactato o ácido láctico depende del pH del medio. En humanos habitualmente predomina el lactato sobre el ácido láctico por las limitaciones en su pH sanguíneo. Así, en un pH fisiológico de 7.4, la relación lactato: ácido láctico es

3.548:1, mientras que en un pH de 6.8 (pH mínimo compatible con la vida), la relación lactato: ácido láctico es de 891:1<sup>12</sup>.

En los fluidos biológicos el ácido láctico se encuentra 99% disociado en lactato e hidrógeno<sup>21</sup>. A nivel de la piel, con un pH normal entre 4.5 - 5.9 se esperaría también un predominio del lactato, sin embargo, sus niveles deben ser controlados para evitar la acidificación intracelular y consecuente muerte celular<sup>21</sup>. La concentración normal de lactato en piel es de aproximadamente 1.74 mmol/L (1.63 -1.93 mmol/L)<sup>26</sup>.

El lactato se forma a partir del piruvato a través de su conversión por la enzima LDH<sup>12</sup>, la cual se encuentra en la membrana celular y la membrana mitocondrial<sup>13</sup>. Hay 5 tipos (isoformas) con predominio diferente en los distintos tejidos<sup>27</sup>. Esta conversión puede ser reversible y su dirección depende de las concentraciones intracelulares de piruvato y lactato. El exceso de piruvato lleva a la saturación de la enzima piruvato deshidrogenasa para obtener acetyl-CoA y adicionalmente incrementa el NADH a niveles que exceden la capacidad oxidativa de la cadena respiratoria, favoreciendo la reducción de piruvato a lactato. La conversión de piruvato a lactato depende de la enzima LDH-5, presente en forma variable en las células y LDH-1, presente en todas las células. El mecanismo de acción de las otras 3 isoformas aún es desconocido<sup>28</sup>.

Se han reportado hallazgos referentes a LDH y sus isoformas en el líquido de ampollas y vesículas en sujetos con eccema, dermatitis herpetiforme, penfigoide y pénfigo. En PV se observó elevación de LDH con predominio de las isoformas

LDH-3, LDH-4 y LDH-5 pero no se realizó el estudio de LDH en sangre periférica para correlacionar el hallazgo<sup>29</sup>; sin embargo, esto mismo se observó en sujetos con dermatitis exfoliativa, sin encontrar correlación con los niveles séricos de LDH. Lo anterior se puede explicar por la inestabilidad y el rápido aclaramiento en el suero de ésta enzima<sup>29</sup>. Estos mecanismos explicarían el aumento del lactato como producto del metabolismo anaeróbico con la enzima LDH como mediador del proceso.

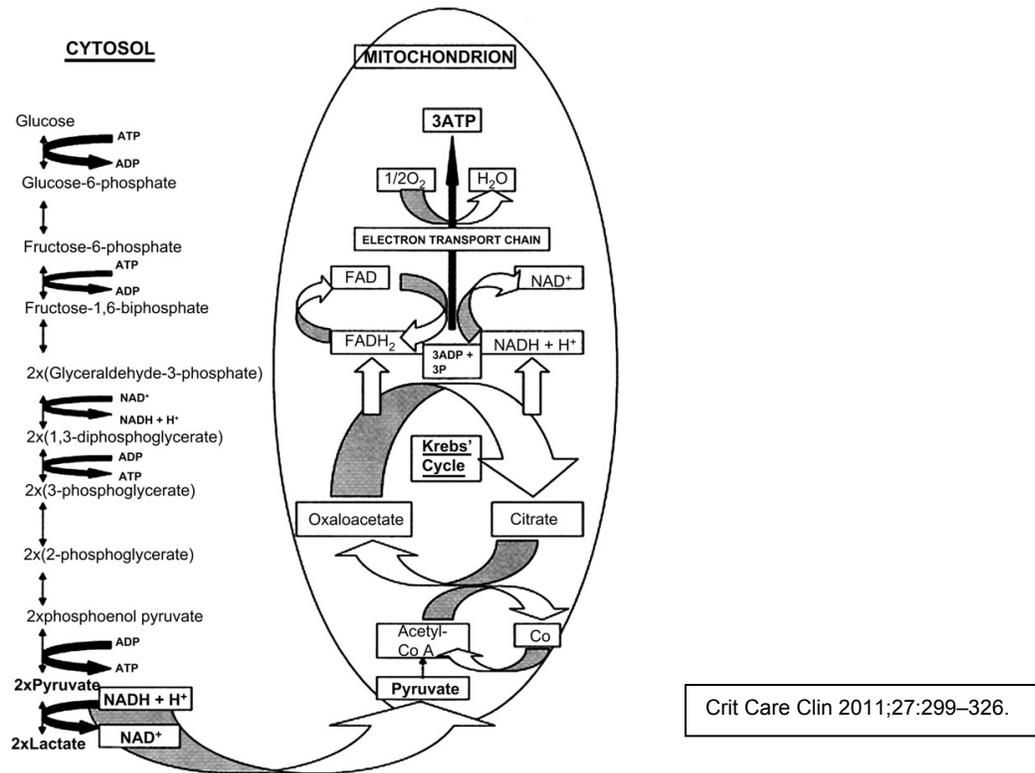
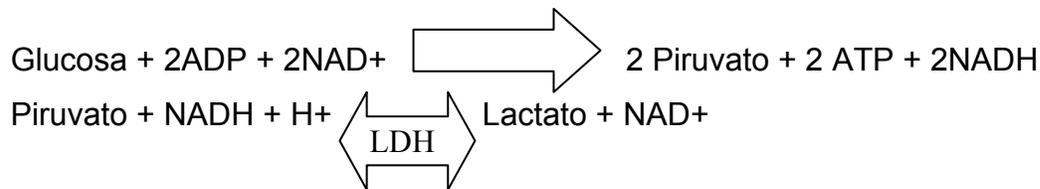
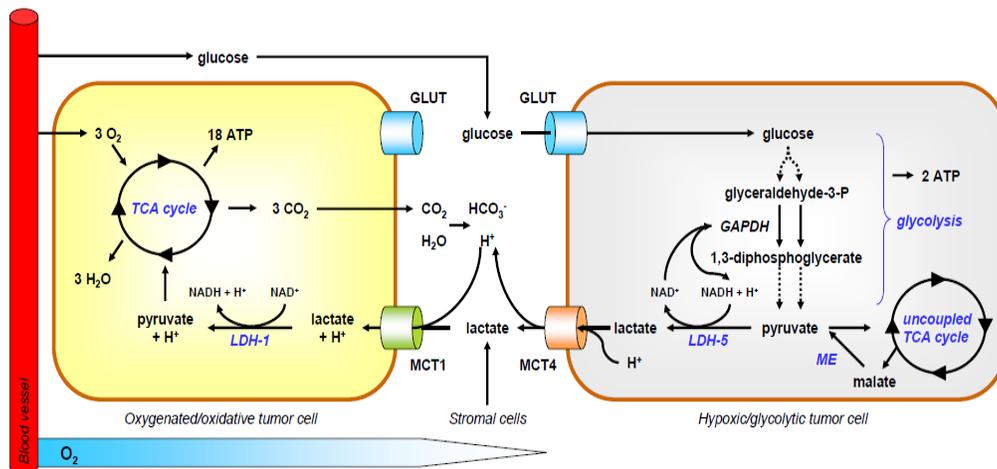


Figura 1. Vía glicolítica (Izquierda) y Ciclo del Ácido Tricarboxílico o Ciclo de Krebs (Derecha)

En condiciones fisiológicas, el lactato es producido en el citosol de células de tejidos altamente metabólicos como la piel (25%), el músculo esquelético (25%), el cerebro (20%), el intestino (10%) y los glóbulos rojos (20%). La producción diaria normal es de 1400mmol (0.8 mmol/kg por hora) <sup>30</sup>. En condiciones patológicas puede producirse inclusive en otros órganos como pulmón y órganos esplácnicos, además de leucocitos<sup>12</sup>.

Una vez producido el lactato, este se mueve por gradientes de concentración tanto de lactato como de H<sup>+</sup> (pH), transportados en forma conjunta, en la misma dirección<sup>31</sup>, a través de transportadores: proteínas transportadoras monocarboxilato (MCT), localizados en la membrana celular y en la mitocondria. Así, la función de estos transportadores de acuerdo a la “hipótesis de transportadores de lactato,” es actuar como facilitador del intercambio de lactato entre células y tejidos productores de lactato, con la finalidad de distribuir el potencial energético de los carbohidratos, mediante la distribución del flujo del lactato hacia el interior de la mitocondria o fuera de la célula para ser transportado por sangre a otros órganos<sup>13,17</sup>. Estos estudios de transportadores se han hecho en musculo cardiaco y esquelético; se propone que estos mecanismos ocurren también entre el citosol - la mitocondria, la piel - la sangre, el músculo - la sangre, la sangre - el hígado, el intestino - la sangre portal y entre zonas del hígado<sup>13</sup>. Adicionalmente transportan hidrógeno para mantener el pH intracelular<sup>31</sup>, exportando desde la célula el ácido láctico<sup>21</sup>.

Se han realizado algunos estudios de transportadores en las células tumorales, cuyo modelo se aplicaría a los mecanismos de transporte de lactato en la piel así:



**Figura 2. Modelo de transportadores de lactato en Cáncer**  
 LDH: Deshidrogenasa láctica                      ME: enzima málica.  
 GLUT: transportador de glucosa                      MCT: transportadores monocarboxilato  
 Current Pharmaceutical Desion 2012: 18(10):1319-1330.

Los mecanismos de depuración del lactato en la mitocondria son a través de su MCT y LDH-1<sup>13</sup>. Su metabolismo principalmente es en hígado (60%), riñón (30%) y corazón (10%) para la formación de glucógeno (gluconeogénesis), por ser substrato gluconeogénico<sup>12</sup>, glicogénesis y finalmente su transaminación mediante la formación de cetoácidos (intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico) y aminoácidos, siendo el predominante la alanina, la cual es un sustrato gluconeogénico. Una pequeña porción de lactato puede salir de la sangre a la piel a través de las glándulas sudoríparas y el resto se queda circulando<sup>32</sup>.

El lactato se puede excretar en orina cuando se supera el umbral de 5–6 mmol/L, por lo que no se excreta por esta vía en condiciones fisiológicas<sup>12</sup>.

Es posible cuantificarlo en sangre; en piel mediante micro diálisis dérmica<sup>33</sup>; y en sudor por cromatografía líquida<sup>34</sup>.

En sangre, las muestras pueden ser arteriales o venosa, ya que no se han encontrado diferencias significativas en los valores de lactato en pacientes críticos, sépticos, con lesión pulmonar aguda, insuficiencia respiratoria aguda, así como en pacientes con hipoxemia leve<sup>12</sup>. Los valores normales de lactato, variables según el método de medición, se pueden obtener del plasma con valores normales en forma general inferiores a 2.5 mmol/L<sup>35</sup> o en suero con valores inferiores a 2 mmol/L<sup>17</sup>.

Hiperlactatemia se define como niveles de lactato entre 2-4 mmol/L, encontrados en sangre en forma persistente y continua. Generalmente cuando los niveles de lactato son >4 mmol/L el músculo esquelético se vuelve un consumidor ávido de lactato. La hiperlactatemia puede ocurrir con perfusión y oxigenación adecuada de los tejidos, y sistemas *buffer* intactos<sup>11</sup>.

La acidosis láctica se define como niveles de lactato > 5mmol/L<sup>11</sup>. Se presenta por el incremento de lactato e hidrógeno que se forma por la disociación del ácido láctico (Lactato + hidrógeno) al salir al espacio extracelular<sup>21</sup>. No siempre que existe acidosis láctica, se presenta acidemia ya que depende de los mecanismos de compensación *buffer* del organismo y de condiciones que produzcan alcalemia y taquipnea.

Así la hiperlactatemia o acidosis láctica puede asociarse a pH normal, acidótico o alcalémico<sup>11</sup>.

Las elevaciones en el lactato se darían por alteraciones en el balance entre la producción y/o una disminución de su depuración/consumo <sup>12,13,17</sup>. Lo anterior principalmente relacionado a:

- Incremento de su precursor, el piruvato, saturando la capacidad de la enzima piruvato deshidrogenasa, que ocurre en respuesta a la liberación de citoquinas, incrementos en los niveles de catecolaminas circulantes o acumulación de leucocitos en el sitio de inflamación o infección.
- Disfunción mitocondrial que desviaría la entrada del piruvato al ciclo del ácido tricarboxílico.
- Alteración de la actividad de la enzima piruvato deshidrogenasa, esencial para la conversión de piruvato en acetil coenzima A.
- Hipo perfusión sistémica o regional <sup>12</sup>.

Así el lactato se ha encontrado elevado en condiciones fisiológicas durante la realización de ejercicio, por incremento en la producción del mismo, reflejo del incremento en el metabolismo anaeróbico ante el aumento en la intensidad de la actividad física<sup>36</sup>, adicionalmente el consumo de bebidas alcohólicas por alteración de la actividad de la enzima piruvato deshidrogenasa y el consumo de cigarrillo el cual puede incrementar la producción de lactato y su conversión a glucosa <sup>37</sup>.

El lactato se encuentra elevado en diversas patologías como:

- En el paciente crítico, por alteración en su metabolismo. En sepsis y toxicidad por medicamentos (acetaminofén, hierro, beta adrenérgico, 5 FU, isoniazida, salicilatos, sulfazalacina y metformina) debido a disfunción mitocondrial, que desviaría la entrada del piruvato al ciclo del ácido tricarboxílico.
- En alcoholismo y estados de deficiencia (beriberi), por alteración de la actividad de la enzima piruvato deshidrogenasa y en otras patologías: como estados de cetoacidosis, enfermedad hepática, malignidad, falla renal, convulsiones, golpe de calor, pancreatitis entre otros<sup>11</sup>.

En los pacientes con PV, se esperaría un incremento en el lactato por las altas concentraciones de piruvato y la disfunción mitocondrial.

La primera como respuesta a la liberación de citoquinas, como IL-1,IL-5,IL-6,IL-8,IL-10, TNF $\alpha$ <sup>38,39,40</sup> y en escasa proporción por la acumulación de leucocitos, que se evidencian en estudios histopatológicos, de pacientes con PV, a nivel peri vascular, estos tienen poca capacidad (por la disfunción mitocondrial) para la generación aeróbica de ATP<sup>12</sup>, con lo que se desvía a la formación a lactato y finalmente, la disfunción mitocondrial, por los hallazgos descritos en estudios previos<sup>15</sup>.

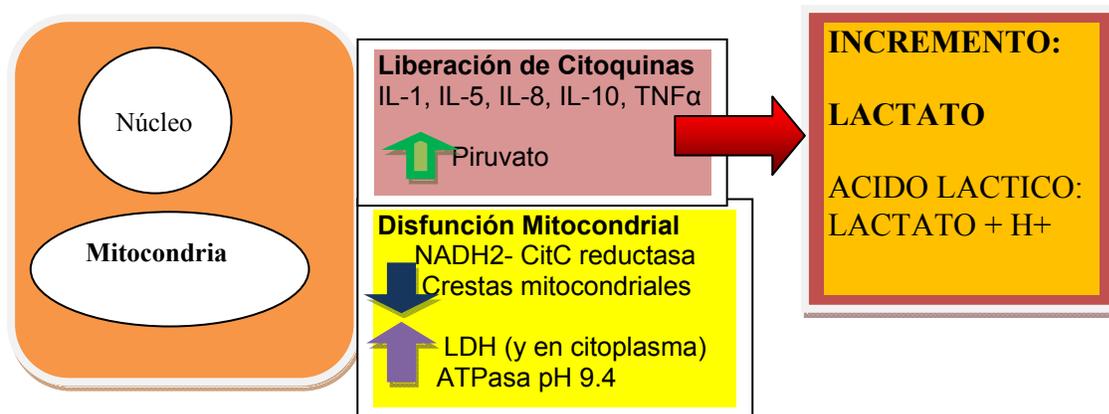


Figura 3. Probables mecanismos de producción de Lactato en el queratinocito de sujetos con Pénfigo Vulgar

Se desconoce si el lactato influye en el desarrollo y severidad del PV. Estudios del lactato en heridas crónicas, han reportado que niveles incrementados de lactato, favorecen la cicatrización mediante la estimulación de la angiogénesis a través de la secreción aumentada de VEGF por parte de los macrófagos, incremento en la migración de células endoteliales progenitoras actuando en la morfogénesis vascular. Adicionalmente, aumenta el depósito de colágeno, la producción de TGF $\beta$  y la proliferación de fibroblastos<sup>21</sup>.

Estudios en queratinocitos in vitro de ácido láctico han demostrado que induce la apoptosis mediante vías dependientes de caspasas y de sustancias no caspasas y produce un efecto anti proliferativo, mediante la inhibición de G1/S<sup>41,42</sup>.

En base a todo lo expuesto, la medición de lactato en plasma, podría ser un biomarcador del grado de piel desnuda o daño epidérmico, en pacientes con PV y objeto de estudio por sus posibles implicaciones en la fisiopatología del mismo.

## **Parte II. Material y Métodos**

### **1. Planteamiento del problema**

En estudios previos, se han encontrado niveles de lactato elevados tanto en piel como en sangre periférica de conejos con úlceras crónicas, como reflejo del metabolismo anaeróbico predominante.

Otros estudios en patología no cutánea, han reportado elevaciones del lactato en piel asociado a síndromes dolorosos, llegando a niveles de lactato en piel de hasta 2.95 mmol/L, pero sin incrementos en sangre periférica aún sin explicación de una posible causa.

En sujetos con PV, se han realizado estudios del metabolismo epidérmico, encontrándose un predominio del metabolismo anaeróbico, lo que implicaría un incremento hipotético del lactato a nivel de la piel y posiblemente en sangre periférica. Recientemente, Tirado y col., realizaron un estudio de lactato sérico en sujetos con PV y sepsis severa como predictor de muerte, observando que en pacientes con PV puede servir como predictor de muerte en pacientes con sepsis aún sin daño orgánico irreversible.

Se plantea que el incremento teórico del lactato en PV podría deberse a las altas concentraciones de piruvato y la disfunción mitocondrial, alteraciones conocidas en la patogenia del PV. La primera por respuesta a la liberación de citoquinas, como IL-1,IL-5,IL-6,IL-8,IL-10,TNF $\alpha$  y en menor proporción por la acumulación de

leucocitos, que se evidencian en estudios histopatológicos de pacientes con PV, a nivel peri vascular. Estos se caracterizan por tener escasas mitocondrias y por ende mayor producción de lactato y finalmente la disfunción mitocondrial del queratinocito por disminución de las crestas mitocondriales, encontradas en biopsias de piel de pacientes con PV.

Adicionalmente, es importante resaltar que ante el daño tisular, la primera respuesta metabólica es la glicolisis anaeróbica.

Por todo lo anterior, podría explicarse el incremento del lactato plasmático, reflejo del daño epidérmico en sujetos con PV, sin embargo se desconoce si esta elevación se produce en sujetos con PV sin sepsis y si esta elevación hipotética se correlaciona con el daño epidérmico en la enfermedad, por lo que planteamos las siguientes preguntas de investigación: ¿Se encuentra elevado el lactato plasmático en sujetos con PV? Y ¿se correlacionan estos niveles con la severidad cutánea de la enfermedad?.

## **2. Justificación**

El encontrar niveles incrementados de lactato plasmático en sujetos con PV plantearía la posibilidad de utilizarlo como biomarcador del daño epidérmico estableciéndose una correlación clínico – bioquímica.

Actualmente la determinación de anticuerpos antidesmogleina 3 y antidesmogleina 1 por inmunofluorescencia indirecta o ELISA (*Enzyme – Linked Immuno Sorbent Assay*) son utilizados para valorar la actividad e indirectamente la severidad del PV, pero no se realiza de rutina por controversias en cuanto a su correlación clínico – inmunológica, pudiéndose encontrar niveles elevados del anticuerpo a pesar de la mejoría clínica además de su alto costo, lo que limitan aun más su aplicación específicamente en nuestra población.

Por lo anterior, el lactato plasmático, se constituiría como una técnica medible, accesible, económica y fácil de realizar, que permitiría evaluar objetivamente el daño epidérmico.

### **3. Hipótesis**

Si la concentración plasmática de lactato está elevada en el PV podría constituirse como biomarcador bioquímico del daño epidérmico y si se correlaciona con el porcentaje de superficie corporal afectada, severidad del PV, podría utilizarse como biomarcador de la misma.

### **4. Objetivos**

#### **4.1 Objetivo general**

Determinar el valor de las concentraciones plasmáticas del lactato en sujetos con PV.

## 4.2 Objetivos específicos

- A) Comparar las variaciones en la concentración plasmática de lactato en PV y en sujetos libres de la enfermedad.
- B) Determinar si los niveles plasmáticos de lactato correlacionan con la severidad de la enfermedad.

## 5. Diseño del estudio

### 5.1 CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Prospectivo.

### 5.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Observacional

### 5.3 CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

#### 5.3.1 Con relación al Método de Observación

Transversal

### 5.4 TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO GENERAL

Descriptivo.

La duración del estudio, de acuerdo con el cronograma de actividades, fue de 6 meses contados a partir de la autorización del proyecto de investigación por el comité de Investigación y Ética de nuestra Institución.

## **6. Metodología**

### 6.1 Lugar donde se realizó el estudio

Consulta externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México O.D.

Laboratorio de Inmunología del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE)

### 6.2 Universo, muestra y tamaño de la muestra

El universo de estudio fueron los sujetos que acudieron a la consulta externa del servicio de Dermatología del Hospital General de México O.D. sanos y con diagnóstico previo de PV cuya selección final se realizó en base a criterios de selección.

Los datos, mediante la unidad de análisis y observación fueron pareados por edad y sexo entre los sujetos sanos y los sujetos con PV.

Para el tamaño de la muestra se aplicó la fórmula de diferencias de medias considerando una probabilidad de aumento en las concentraciones de lactato en pénfigo en 3 veces la medida de la varianza en relación a la población mundial, con un valor  $\beta$  de 10% y un valor  $\alpha$  de 5%. Estimando lo siguiente:

$$\begin{aligned}
 P_1 &= 75\%, 0.75. \\
 P_2 &= 25\%, 0.25. \\
 Z\alpha &= 1.96 (0.05) \\
 Z\beta &= 1.28 (0.1) \\
 n &= \frac{[ Z\alpha \sqrt{2 \cdot P_2(1-P_2)} - Z\beta \sqrt{P_1 \cdot (1-P_1) + P_2 (1-P_2)} ]^2}{(P_1 - P_2)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{1.96 \sqrt{2 (0.25)(1-0.25)} - (- 1.28) \sqrt{[0.75 (1-0.75) + (0.25 (1-0.25))]}^2}{(0.75-0.25)^2} \\
 n &= \frac{(1.20024997 + 0.783836718)^2}{0.25} \\
 n &= 3.93659995 \\
 n &= 15.74 = 16 \text{ sujetos por grupo}
 \end{aligned}$$

### 6.3 Método de selección de los sujetos

Se llevó a cabo un método de muestreo no probabilístico, a conveniencia, de casos consecutivos que cumplieron con los criterios de selección, hasta alcanzar el tamaño de la muestra.

### 6.4 Criterios de selección

#### 6.4.1 Criterios de inclusión de casos

6.4.1.1 Sujetos con PV diagnosticados por criterios clínicos, histológicos e inmunológicos (IF).

6.4.1.2 Sujetos que acudieron a la Consulta Externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México durante el periodo de estudio.

6.4.1.3 Género masculino o femenino.

6.4.1.4 Mayores de 18 años de edad.

6.4.1.5 Los sujetos que aceptaron incluirse en el estudio, previa información detallada del mismo, confirmándose su decisión mediante la firma del Consentimiento Informado que se les proporcionó por escrito, ya sea al sujeto o su representante legal.

#### 6.4.2 Criterios de no inclusión de casos

6.4.2.1 Sujetos que no aceptaron participar en el estudio.

6.4.2.2 Sujetos que de forma concomitante cursaban con otra enfermedad autoinmune (Lupus eritematoso generalizado, psoriasis, artritis reumatoide, liquen escleroso y atrófico, dermatitis herpetiforme, artritis reumatoide juvenil, dermatomiositis, etc.).

6.4.2.3 Sujetos con choque o estado de salud crítico (datos de hipoperfusión tisular que no revierte adecuadamente a medidas de reposición de fluidos o aminas vasoactivas).

6.4.2.4 Sujetos que 12 horas previas al estudio hubieran practicado ejercicio, fumado cigarrillo o consumido bebidas alcohólicas.

#### 6.4.3 Criterios de inclusión de controles

6.4.3.1. Acompañantes que acudían a la consulta externa del servicio de Dermatología del Hospital General de México.

6.4.3.2. Pareados por edad y sexo con los casos de PV.

6.4.3.3. Autorización del consentimiento informado por escrito del Sujeto o su representante legal.

#### 6.4.4 Criterios de no inclusión de controles

6.4.4.1. Individuos que no aceptaron participar en el estudio.

6.4.4.2. Sujetos que de forma concomitante cursaban con alguna enfermedad o tenían antecedentes familiares de alguna enfermedad autoinmune (Pénfigo vulgar, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, artritis reumatoide, liquen escleroso y atrófico, dermatitis herpetiforme, artritis reumatoide juvenil, dermatomiositis, etc.).

6.4.4.3. Sujetos que 12 horas previas al estudio hubieran practicado ejercicio, fumado cigarrillo o consumido bebidas alcohólicas.

#### 6.5 Procedimientos

##### 6.5.1 Enrolamiento de sujetos

Los sujetos fueron seleccionados de la consulta externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México O.D. en base a los criterios de selección.

##### 6.5.2 Interrogatorio, Toma de muestra y procesamiento de la misma.

A todos los sujetos captados en la consulta externa de Dermatología del Hospital General de México O.D., se verificó que cumplieran con los criterios de selección. Solo los sujetos que cumplieron estos criterios fueron invitados a participar en el estudio, el cual se explicó verbalmente y por escrito mediante el consentimiento informado (Anexo 1). Únicamente a los sujetos que aceptaron participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado se les realizó la toma de sangre para determinar el lactato (Anexo 3).

La muestra de sangre, fue venosa y se obtuvo por punción periférica, de manera aséptica. Se extrajeron 3mL, los cuales se centrifugaron en un lapso inferior a 15 minutos, obteniendo el plasma. Este se almacenó y transportó a una temperatura entre 2-8°C para la determinación de los niveles de lactato plasmático en el laboratorio de Inmunología del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE).

#### 6.5.3 Valoración de los sujetos

Se llevo a cabo mediante el interrogatorio y el examen físico.

En sujetos con PV se realizó adicionalmente la medición de la superficie corporal afectada según regla del 9 (Anexo 2)

#### 6.5.4 Determinación del lactato plasmático

A los sujetos seleccionados que aceptaron participar en el estudio y posterior a la firma del consentimiento informado se les realizo la punción periférica venosa para la obtención, por sujeto, de 3mL de sangre venosa que se recolectó en un tubo heparinizado. La muestra fue centrifugada para la obtención del plasma y almacenada a 2-8° C hasta su análisis en el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) donde se procedió con la determinación de lactato plasmático, por un método enzimático colorimétrico cuantitativo mediante el uso de un espectrofotómetro (longitud de onda de 490-550nm). Este midió los niveles de lactato, a través de la cuantificación del producto que se forma por reacciones enzimáticas así: El lactato se oxida por la lactato oxidasa (LO) y

forma el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) este reacciona posteriormente con las enzimas peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 4-clorofenol formando la quinona, que es de color rojo y cuya intensidad es proporcional a la concentración de lactato. Los niveles de lactato se reportaron en mmol/L, con valores de referencia normales de 0.5 – 2.2 mmol/L.

## 6.6 Variables del estudio

### 6.6.1 Concentración plasmática de lactato.

- ✓ Categoría.- Cuantitativa.
- ✓ Escala de medición.- continua, de razón.
- ✓ Unidad de medición.- mmol/L
- ✓ Operacionalización.- La determinación del lactato en plasma se realizó en mmol/L

### 6.6.2 Severidad cutánea del Pénfigo vulgar.

- ✓ Categoría.- Cuantitativa.
- ✓ Escala de medición.- Discreta.
- ✓ Unidad de medición.- Porcentaje.
- ✓ Operacionalización.- porcentaje de la superficie corporal afectada mediante la regla del 9. (Anexo 2)

### 6.6.3 Presencia de infección.

- ✓ Categoría.- Cualitativa.
- ✓ Escala de medición.- Nominal.

- ✓ Unidad de medición.- Dicotómica.
- ✓ Operacionalización.- Si/No. En base a reporte de cultivos.

#### 6.6.4 Uso de inmunosupresor sistémico.

- ✓ Categoría.- Cualitativa.
- ✓ Escala de medición.- Nominal.
- ✓ Unidad de medición.- Dicotómica.
- ✓ Operacionalización.- Si el paciente tiene ingesta de inmunosupresor sistémico (Si/No).

#### 6.7 Técnicas de análisis estadístico

Para determinar diferencias entre las concentraciones plasmáticas de lactato en sujetos con PV y sanos se utilizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney. Se utilizó el programa SPSS version17 para Windows para el análisis estadístico.

Adicionalmente se determinó la correlación encontrada entre las concentraciones plasmáticas de lactato y el porcentaje de superficie corporal afectada, como indicador de severidad del PV, mediante la prueba de correlación de Pearson que evaluó la relación entre los dos parámetros.

## **7. Recursos**

Los recursos (el reactivo y materiales de recolección de la muestra de sangre como jeringas, tubos de Vacutainer y resto de material para toma de muestra de sangre y papelería necesaria para las hojas de colección de datos, lápices y plumas), fueron financiados por el Investigador responsable. El procesamiento y almacenamiento de las muestras, requirió de la centrifuga y refrigerador del laboratorio de micología ubicado en la unidad de dermatología y para el análisis final de la muestra del espectrofotómetro del Instituto de Referencia Epidemiológica (InDRE).

Adicionalmente se requirió la exención del pago, por paciente, de una consulta, para la toma de la muestra, por parte del Hospital General de México.

## **8. Aspectos éticos y de bioseguridad**

Se garantizó la autonomía del sujeto solicitando la firma de una carta de consentimiento, así como la confidencialidad de los datos obtenidos y su derecho a no participar en el estudio sin que esto redundara en la calidad de su atención.

La investigación se clasificó como de riesgo mínimo. La venopunción se efectuó con técnica de asepsia para evitar contaminación e infecciones; El proyecto se sometió a consideración y fue aceptado tanto por el Comité de Investigación como por el Comité de Ética del Hospital General de México.

Las muestras de sangre fueron tomadas con material subsidiado por el investigador garantizando su uso una sola vez, asegurando además la correcta eliminación del material punzocortante de acuerdo a las normas de higiene en salud vigentes.

## **9. Relevancia y expectativas**

De encontrarse elevado el lactato plasmático en sujetos con PV se plantearía el uso de lactato como biomarcador de daño epidérmico con correlación clínico –bioquímica.

Adicionalmente si se encontrará correlación entre sus niveles y el porcentaje de superficie corporal afectada, severidad del PV, se plantearía su utilización como biomarcador de severidad y adicionalmente podría estudiarse su correlación con la de anticuerpos anti-desmogleína 3 que determinan actividad en PV.

## **10. Resultados**

Sujetos Sanos y con PV

Se incluyeron en total 46 sujetos, 28 sanos y 18 con PV, con las siguientes características:

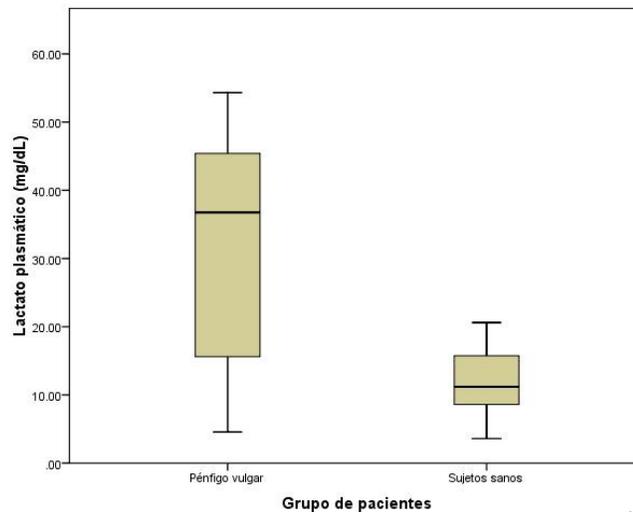
Sujetos sanos: edad promedio de  $33.38 \pm 11.33$  años (intervalo 19-79 años), con predominio del género masculino 13 sujetos vs 11 sujetos del femenino. Niveles plasmáticos de Lactato, en promedio,  $1.33 \pm 0.1$  mmol/L. (Tabla 1) (Gráfico 1)

Sujetos con PV: edad promedio de  $30.95 \pm 6.95$  años (intervalo 22-67 años), con un predominio del género femenino de 13 sujetos vs 9 sujetos del masculino. Niveles plasmáticos de Lactato, en promedio,  $3.52 \pm 0.41$  mmol/L. (Tabla 1) (Gráfico 1)

Tabla 1. Variables evaluadas tanto en sujetos con PV como en Sanos.

Variable	Sujetos (n = 46)	
	PV (n= 18)	Sanos(n= 28)
Edad (años $\pm$ EE)	$30.95 \pm 6.95$ (22-67)	$33.38 \pm 11.33$ (19-79)
Género (Masc/Fem)	9/13	13/11
Lactato plasmático (mmol/L o mg/dL $\pm$ EE)	$3.52 \pm 0.41$ mmol/L ( 0.5 – 6.02) $31.75 \pm 3.7$ mg/dL (4.55-54.32 mg/dL)	$1.33 \pm 0.1$ mmol/L (0.39 -2.28) $12.05 \pm 0.92$ mg/dL (3.6-20.6 mg/dL)

Gráfico 1. Niveles de lactato plasmático (mg/dL) en sujetos con PV y Sanos



Conversión mg/dL a mmol/L = mg/dL x 0.1109

Se observó un predominio de niveles de lactato en plasma de sujetos con PV con una media de  $3.52 \pm 0.41$  mmol/L (Intervalo 0.5 – 6.02 mmol/L) o  $31.75 \pm 3.7$  mg/dL (Intervalo 4.55-54.32 mg/dL) en comparación con los sujetos sanos cuya media fue de  $1.33 \pm 0.1$  mmol/L (Intervalo 0.39 – 2.28 mmol/L) o  $12.05 \pm 0.92$ mg/dL (Intervalo 3.6-20.6 mg/dL) ( $p= 0.001$ ).

Se compararon las concentraciones plasmáticas entre sujetos con PV y sanos, encontrando una diferencia estadísticamente significativa, con lo que se corrobora un incremento en los niveles de lactato plasmático en sujetos con PV, superior al de la población sana.

Otras características encontradas y evaluadas en sujetos con PV fueron el porcentaje de superficie corporal afectada, utilizada ésta como parámetro de severidad clínica, cuyo promedio encontrado fue de  $41.11 \pm 6.31\%$  (15-74%), en ningún paciente se encontró clínicamente infección. La afección a mucosas encontradas fue de 66% y de piel cabelluda del 34%.La edad de inicio del PV, en años, fue en promedio de  $30.4 \pm 8.26$  años, con un tiempo desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico en promedio de  $6 \pm 5.33$  meses y con una evolución de la enfermedad en promedio de  $10.11$  meses  $\pm 3.73$  (intervalo 3-24 meses). (Tabla 2)

Todos los sujetos con PV estaban en tratamiento inmunosupresor sistémico, durante un tiempo promedio de 10.1meses (3 - 24 meses) y con una dosis promedio de prednisona acumulada hasta alcanzar el control de 6.39 g (5.2 – 8.8

g). Sin embargo no se encontró correlación entre el uso de inmunosupresor y niveles de lactato plasmático ( $R= 0.222$ ,  $p= .215$ ).

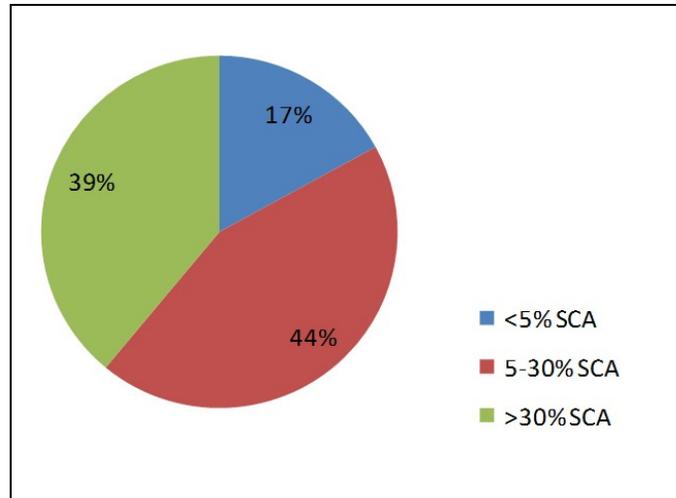
Tabla 2. Variables evaluadas en sujetos con PV

<b>Variable</b>	<b>PV n= 18</b>
Superficie corporal afectada SCA (% $\pm$ EE)	41.11 $\pm$ 6.31 (15-74)
Infección	Ningún paciente
Con afección inicial a mucosa	12 (66 %)
Con afección inicial a piel cabelluda	6 (34 %)
Uso de inmunosupresor sistémico (%)	18 (100)
Edad de inicio (años)	30.4 $\pm$ 8.26
Tiempo de inicio de síntomas hasta el diagnóstico (meses)	6 $\pm$ 5.33 meses
Evolución de la enfermedad (meses $\pm$ EE)	10.11 $\pm$ 3.73 (3-24)

La superficie corporal afectada, calculada mediante la regla del 9, fue utilizada, como se describió anteriormente, como parámetro de severidad clínica en sujetos con PV y se estableció una graduación de la misma de acuerdo al porcentaje de superficie corporal afectada. (Gráfico 2, Tabla 3,).

Con una distribución de sujetos de acuerdo al porcentaje de superficie corporal afectada de 3 sujetos con PV leve, 8 sujetos con PV moderado y 7 sujetos con PV severo. (Gráfico 2, Tabla 3)

Grafico 2. Porcentaje de sujetos con PV distribuidos según el porcentaje de superficie corporal afectada



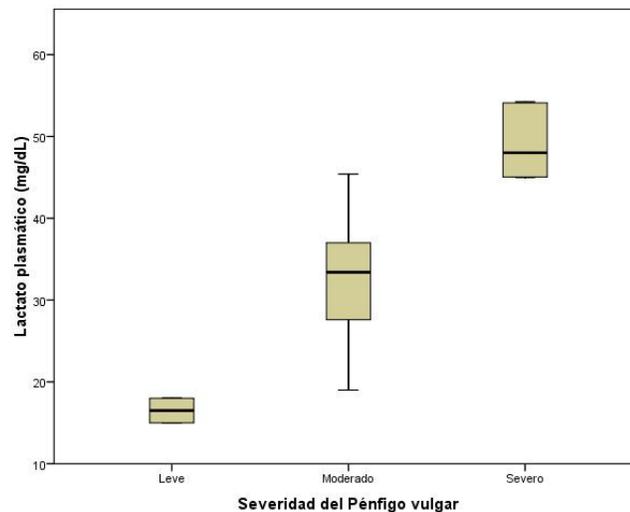
Los niveles de lactato plasmático promedio encontrados para PV Leve fueron de  $12.67 \pm 2.33$  mg/dL ( $1.40 \pm 0.25$  mmol/L), para el PV moderado de  $32.55 \pm 2.87$  mg/dL ( $3.6 \pm 0.31$  mmol/L) y para el PV severo de  $49.79 \pm 1.66$  mg/dL ( $5.52 \pm 0.18$  mmol/L). (Tabla 3)

Tabla 3. Grados de severidad del PV y niveles de lactato plasmático

Variable	Leve <5% de SCA (n = 3 sujetos, 17%)	Moderado 5 – 30% de SCA (n = 8 sujetos, 44%)	Severo > 30% de SCA (n = 7 sujetos, 39%)
Lactato plasmático mínimo mg/dL o (mmol/L)	8 (0.88)	19(2.10)	45(4.99)
Lactato plasmático máximo mg/dL o (mmol/L)	15 (1.66)	45(4.99)	54(5.98)
Promedio mg/dL o (mmol/L)	$12.67 \pm 2.33$ ( $1.40 \pm 0.25$ )	$32.55 \pm 2.87$ ( $3.6 \pm 0.31$ )	$49.79 \pm 1.66$ ( $5.52 \pm 0.18$ )

Los valores mínimos de lactato plasmático para PV leve fueron de 8 mg/dL (0.88 mmol/L) para PV moderado de 19 mg/dL(2.10 mmol/L) y de PV severo de 45 mg/dL(4.99 mmol/L) y los valores máximos de lactato plasmático para PV leve fueron de 15 mg/dL (1.66 mmol/L), para PV moderado de 45 mg/dL (4.99 mmol/L) y de PV severo de 54 mg/dL (5.98 mol/L). (Tabla 3, Gráfico 3)

Gráfico 3. Grados de severidad del PV y niveles de lactato plasmático (mg/dL)



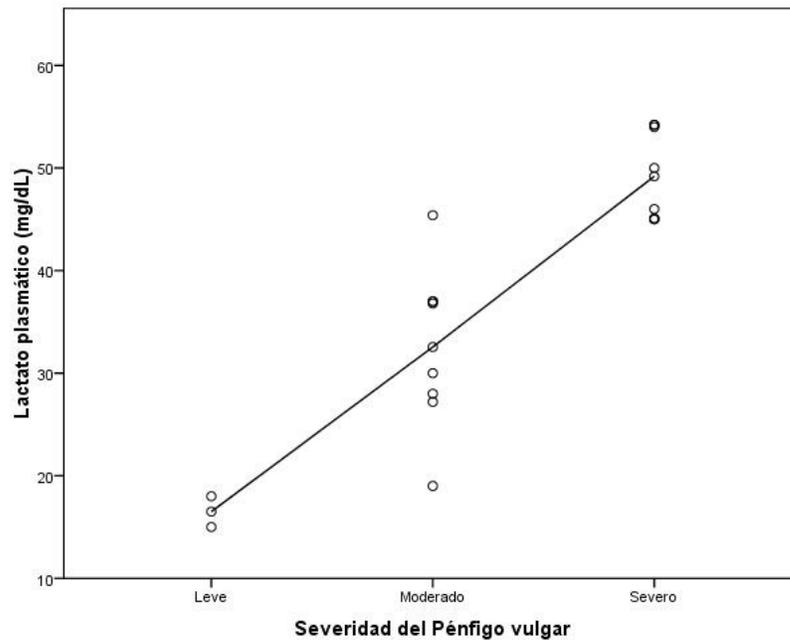
Conversión mg/dL a mmol/L = mg/dL x 0.1109

Al determinar la correlación entre los niveles de lactato plasmático y la severidad (porcentaje de superficie corporal afectada) del PV, se encontró una buena correlación del 85% ( $R = 0.851$ ,  $p = 0.063$ ).

Lo anterior significa que hay una correlación cercana al 100% o  $R = 1$ , con tendencia a relacionarse linealmente es decir, con un incremento en el grado de severidad (porcentaje de superficie corporal afectada) se espera que haya un

aumento en el lactato plasmático. Sin embargo el valor de  $p$  no fue estadísticamente significativo ( $p < 0.05\%$ ), probablemente explicados por limitaciones en el tamaño de la muestra, ya que ésta fue calculada para encontrar diferencias en los valores plasmáticos de lactato entre sujetos con PV y sanos. (Figura 1)

Figura 1. Coeficiente de correlación de Pearson entre Severidad del PV y niveles de lactato plasmático



## 11. Discusión

El PV es una enfermedad autoinmune ampollosa, crónica, poco frecuente que afecta la calidad de vida de los sujetos que la padecen y en casos extremos puede ser fatal.

Su órgano blanco de afectación es la piel y/o mucosas, donde el daño epidérmico, clínicamente se manifiesta con vesículas y ampollas flácidas de contenido seroso o serohemático, exulceraciones con costras sanguíneas y manchas residuales.

Su curso es variable e impredecible, puede estar activo ó en remisión ó cursar con recaídas (reciente actividad posterior al cese de la misma)<sup>1</sup> y con diferentes grados de severidad.<sup>5</sup>

En PV se ha encontrado un incremento en el metabolismo anaeróbico a nivel epidérmico<sup>15</sup>, lo que implica un incremento hipotético del lactato a nivel de la piel y posiblemente en sangre periférica.

El lactato es un biomarcador, ampliamente conocido, evaluable y medible de perfusión tisular, de disfunción aeróbica mitocondrial y del metabolismo celular anaeróbico<sup>17</sup> en diferentes procesos biológicos tanto normales como patológicos y en algunos casos se ha utilizado para evaluar respuesta al tratamiento<sup>12,23</sup>.

Así, su uso está establecido en choque, sepsis<sup>18</sup>, infarto agudo de miocardio<sup>19</sup>, intoxicación por cianuro<sup>20</sup> y cáncer<sup>21</sup> donde se ha utilizado como predictor de morbi-mortalidad y para monitoreo de respuesta al tratamiento en pacientes en choque<sup>12,17</sup>.

Adicionalmente a su papel de biomarcador de procesos, se ha reconocido su acción como favorecedor de la cicatrización, en úlceras crónicas, las cuales son característicamente hipóxicas, por ende con alta secreción de lactato y en las cuales el lactato, estimula la angiogénesis a través de la secreción aumentada de

VEGF por parte de los macrófagos, incrementa la migración de células endoteliales progenitoras, actuando así en la morfogénesis vascular. Adicionalmente, aumenta el depósito de colágeno, la producción de TGF $\beta$  y la proliferación de fibroblastos<sup>21</sup>.

Estudios de ácido láctico han demostrado que induce la apoptosis mediante vías dependientes de caspasas y de sustancias no caspasas y produce un efecto anti proliferativo, mediante la inhibición del ciclo celular G1/S<sup>41,42</sup>.

Recientemente se ha establecido su posible utilidad en el tratamiento molecular del Melanoma, mediante estudios *in vitro* de células de Melanoma humano, a través de la inhibición de proteínas transportadoras MTC (transportadores monocarboxilato) cuya función es transportar lactato e H<sup>+</sup> hacia el exterior y/o interior de la célula neoplásica para mantener el pH ácido en el tumor, con valores normales de pH de 6.9 - 7.4. La inhibición de estos transportadores MTC, disminuiría aún más el pH tumoral permitiendo una mejor acción de los antineoplásicos, ya que éstos actúan mejor en pH más ácidos<sup>43</sup>.

A pesar de este papel activo reconocido, en diferentes patologías, aún se desconoce su papel en la fisiopatogenia del PV.

Estudios de Lactato en PV son escasos, de la revisión realizada hasta la fecha, destacan dos estudios que tienen relación indirecta con los niveles de lactato. Un estudio es sobre LDH, enzima encargada de la formación reversible de lactato –

piruvato según las condiciones metabólicas (anaerobiosis o aerobiosis o exceso de lactato o piruvato). En éste, Anderson M., determinó el nivel de LDH en ampolla de un paciente con PV, donde encontró incremento de las isoformas de piel normal: LDH-3, LDH-4 y LDH-5 pero sin determinación en sangre periférica<sup>29</sup>. Así en PV el incremento de LDH en la ampolla, explicaría la producción de lactato a nivel de la piel afectada (daño epidérmico), de los sujetos con PV.

El otro artículo hace referencia al predominio del metabolismo anaeróbico en piel afectada de sujetos con PV. En éste Gheorghe y col. analizaron biopsias de piel afectada de 23 sujetos con PV, mediante técnicas de histoquímica, inmunohistoquímica, histoenzimología y microscopia electrónica, demostrando un incremento de los niveles de la enzima LDH, principalmente a nivel de la capa basal, el estrato espinoso y el endotelio de los vasos de la dermis, lo mismo que alteraciones a nivel mitocondrial del tipo funcional y estructural, evidenciada por niveles enzimáticos bajos de NADH2 – citocromo –C reductasa, enzima ubicada en la membrana interna mitocondrial, encargada del inicio en el transporte de electrones para la generación de ATP y niveles altos de LDH y ATPasa pH 9.4, esta última refleja los daños a nivel de la membrana y adicionalmente la disminución de las crestas mitocondriales evidenciados mediante microscopia electrónica<sup>15</sup>. Esto explicaría adicionalmente el incremento de la producción de lactato en la piel afectada de los sujetos con PV, a través del aumento del metabolismo anaeróbico en respuesta a las alteraciones mitocondriales tanto funcionales como estructurales encontradas.

Recientemente, el estudio realizado por Tirado y col., plantea la utilidad del lactato sérico como predictor de muerte en sujetos con PV y sepsis severa<sup>25</sup>. Este estudio incluyó un total de 37 sujetos con PV, de éstos 22 sujetos cursaban con sepsis severa, de los cuales fallecieron 8 sujetos (36%) por sepsis/choque séptico; encontrándose una asociación entre mortalidad al día 28 y niveles de lactato inicial de  $> 4\text{mmol/L}$ , con un valor  $p= 0.001$ <sup>25</sup>. Sugiriendo al lactato como biomarcador de mortalidad en sujetos con PV y sepsis severa.

Sin embargo determinaciones de lactato sanguíneo en sujetos con PV como tal no se habían determinado antes y es el objetivo de nuestro estudio.

La homeostasia del lactato sanguíneo (suero, plasma) depende del balance entre la producción de lactato - transporte - metabolismo y eliminación<sup>12,13,32,34</sup>. Por lo que la disrupción de cualquiera de estos implicaría un incremento del mismo.

En patologías diferentes al PV como úlceras crónicas, en estudios realizados en conejos, se han encontrado niveles de lactato elevados tanto en piel como en sangre periférica, como reflejo del metabolismo anaeróbico predominante<sup>16</sup> así como su participación en la cicatrización de las mismas ya descrito<sup>21</sup>. Adicionalmente en patología no cutánea, se han reportado elevaciones del lactato en piel asociado a síndromes dolorosos, llegando a niveles de lactato en piel de hasta  $2.95\text{ mmol/L}$ , pero sin incrementos en sangre periférica<sup>26</sup> aún sin explicación de una posible causa. Posiblemente, ésta se deba a una alteración en el transporte del lactato entre piel y sangre o por un metabolismo efectivo que

impidiera su incremento a nivel sanguíneo, lo que explicaría porque a pesar de elevarse en piel no se presenta esta misma elevación en sangre periférica.

En PV, el incremento del lactato estaría dado por aumento de su producción, relacionada con el incremento del piruvato, debido a la liberación de citoquinas como IL-1,IL-5,IL-6,IL-8,IL-10,TNF $\alpha$ <sup>38,39,40</sup> encontradas en piel y suero de sujetos con PV, lo que saturaría la capacidad de la enzima piruvato deshidrogenasa desviando el piruvato a la formación de lactato y en menor proporción, este incremento del lactato, se explicaría por la acumulación de leucocitos, evidenciada en la biopsia de piel de sujetos con PV, ya que éstos tienen poca capacidad de generación aeróbica de ATP<sup>12</sup>.

En nuestro estudio se encontró, un incremento en los niveles plasmáticos de lactato en promedio de  $3.52 \pm 0.41$  mmol/L (Intervalo 0.5 – 6.02 mmol/L) en sujetos con PV, comparados con sujetos sanos cuya media fue de  $1.33 \pm 0.1$  mmol/L (Intervalo 0.39 – 2.28 mmol/L) con una diferencia significativa ( $p= 0.001$ ). Por lo anterior el lactato plasmático sería el reflejo del daño epidérmico encontrado en sujetos con PV e inferido en los estudios previamente descritos de LDH en ampolla<sup>29</sup>, disfunción aeróbica mitocondrial y metabolismo anaeróbico incrementado<sup>15</sup>, siendo el lactato ampliamente conocido como biomarcador de estos últimos<sup>17</sup>.

Una vez encontrado este incremento de lactato plasmático en sujetos con PV era importante determinar si había correlación entre los niveles de lactato plasmático y el porcentaje de superficie corporal afectada.

Encontrándose una buena correlación, del 85%, entre los niveles de lactato plasmático y el porcentaje de superficie corporal afectada (severidad) de los sujetos con PV ( $R = 0.851$ ,  $p = 0.063$ ). Lo anterior significa que hay una correlación cercana al 100% o  $R = 1$ , es decir tienen la tendencia a relacionarse linealmente, sugiriendo un aumento proporcional entre el porcentaje de superficie corporal afectada (grado de severidad) y los niveles de lactato plasmático. Sin embargo el valor de  $p$  no fue estadísticamente significativo ( $p < 0.05\%$ ) probablemente explicados por limitaciones en el tamaño de la muestra ya que ésta fue calculada para encontrar diferencias en los valores plasmáticos de lactato entre sujetos con PV y sanos.

## **12. Conclusiones**

El PV es una enfermedad autoinmune, crónica con importante morbilidad para quien la padece y mortalidad que depende de un diagnóstico y tratamiento oportuno.

Su fisiopatología no está aún establecida por lo que sigue siendo objeto de estudio.

Una línea de estudio en PV es la metabólica, que evidencia el predominio de metabolismo anaeróbico en biopsias de piel afectada, con daño epidérmico, de sujetos con PV, mediante técnicas histoquímicas, histoenzimológicas y

microscopia electrónica y adicionalmente en sangre periférica, mediante la determinación de lactato sérico, en sujetos con PV y sepsis severa.

El lactato es un biomarcador ampliamente conocido de la disfunción aeróbica mitocondrial y del metabolismo celular anaeróbico. Y esta ampliamente establecido que la piel junto al músculo constituyen los principales órganos productores de lactato, con una concentración normal de lactato en piel de 1.74 mmol/L (1.63 – 1.93mmol/L).

El incremento en éstos valores, secundarios al daño epidérmico encontrado en sujetos con PV y explicados por un incremento en la producción de lactato debidos a un aumento en el piruvato ocasionado por la liberación de citoquinas, al metabolismos anaeróbico predominante en los leucocitos y a la disfunción mitocondrial, implicarían alteraciones en la homeostasia celular que podrían inclusive terminar en apoptosis de las mismas por lo que aquí se plantea una posible participación en su patogenia.

Por lo anterior, nuestro objetivo fue determinar los niveles de lactato plasmático en sujetos con PV y compararlas con los valores de sujetos sanos y adicionalmente determinar la correlación entre las concentraciones plasmáticas de lactato y el porcentaje de superficie corporal afectada, utilizada como parámetro de severidad clínica en los sujetos con PV.

Los hallazgos encontrados fueron:

1. El lactato plasmático se encuentra incrementado en sujetos con PV con una diferencia significativa ( $p= 0.001$ ) al compararlo con los niveles normales de lactato plasmático encontrados en sujetos sanos
2. El lactato plasmático elevado en PV, refleja el metabolismo anaeróbico incrementado encontrado en piel de sujetos con PV.
3. Las variaciones en la elevación de los niveles de lactato plasmático encontradas se explican por el mantenimiento o pérdida del balance entre la producción, el transporte, el metabolismo y eliminación del lactato.
4. El lactato plasmático se encuentra incrementado en sujetos con PV como expresión del daño epidérmico y sugiere una buena correlación 85%, clínico – bioquímica, entre el porcentaje de superficie corporal afectada y los niveles de lactato plasmático.

Este estudio constituye una base para la realización de futuros estudios ya que plantea la posibilidad de que el lactato plasmático sea utilizado como biomarcador de severidad en PV y permitiría evaluar también su utilidad como posible biomarcador de actividad, si se compara su correlación con la de anticuerpos anti-desmogleína 3. Adicionalmente el estudio de su papel en la fisiopatogenia del PV.

## Parte III. Anexos

### Anexo 1. Carta de Consentimiento Informado- Sujetos PV

Autorización para participar en el estudio de investigación titulado:

**“Concentraciones plasmáticas de Lactato en sujetos con Pénfigo Vulgar en el servicio de Dermatología del Hospital General de México”**

*Investigadores:*

Dr. Andrés Tirado Sánchez.

Servicio de Dermatología, Hospital General de México.

Dra. Rosa María Ponce Olivera.

Servicio de Dermatología, Hospital General de México.

Dra. Cecilia Pulido Collazos,

Residente del Servicio de Dermatología del Hospital General de México.

1. El proyecto de investigación corresponde a Riesgo mínimo, esto es, debido a la extracción de sangre por punción venosa, que se explicará más adelante.

2. Apartados

I. El médico del estudio lo está invitando a Usted, a participar en este estudio de investigación, debido a que Usted padece una enfermedad llamada Pénfigo Vulgar, que es una enfermedad ampollosa que afecta la piel y/o las mucosas (boca, ojos, vagina, pene, anal). En este estudio se evaluará un nuevo examen de laboratorio para saber que tan enfermo se encuentra (Pénfigo vulgar).

El examen de laboratorio es niveles de Lactato en sangre venosa y se usará para saber si nos puede indicar que tan enfermo se encuentra.

Para llevar a cabo esto se necesitará tomarle a Usted una muestra de sangre de 3mL, sin costo alguno y los resultados se compararán con sangre obtenida de personas que no tengan la enfermedad que usted padece.

II. Si Usted participa en este estudio, requeriremos que acuda una sola vez a la consulta, en la que se explicara el consentimiento informado y una vez aceptado tomaremos todos los datos necesarios para su participación. La toma de muestra de sangre de 3mL (cantidad que generalmente se toma con cualquier estudio de sangre), es el único procedimiento que se le realizará y que le dará una pequeña molestia por poco tiempo (dolor leve) en el sitio donde entra la aguja. El objetivo de esta toma de sangre es saber la cantidad de Lactato que tiene y comparar esta con la cantidad de lactato en sangre de sujetos sin la enfermedad, todo esto para saber si los valores de lactato nos pueden decir que tan enfermos está Usted.

III. Las molestias que puede usted tener por la inyección en la vena del brazo para obtener la muestra de sangre de 3mL podrían ser las siguientes:

Molestias en el sitio de la inyección como dolor leve por poco tiempo, que no le va a impedir hacer sus actividades normales ni le dejará problemas en otras partes de su cuerpo.

Debido a que la muestra de sangre se tomará con todas las medidas de higiene, evitamos cualquier tipo de contaminación en el sitio de la inyección, que si se presentara sería solo enrojecimiento e hinchazón en el sitio de entrada de la aguja, con un poco de dolor, que se quitará con el uso de medicamentos que serán proporcionados por el investigador, en caso de presentarse lo anterior en el sitio de la inyección y que se presente dentro de las dos semanas después de que se tomó la muestra de sangre.

IV. Es posible que este nuevo estudio de laboratorio nos permita determinar con exactitud qué tan enfermos se encuentra, con lo que podríamos darle un tratamiento más a tiempo. Sin embargo, es importante que conozca que este estudio podría darnos resultados no útiles y sigamos sin saber que tan enfermo se encuentra. Su participación en el estudio podría no darle ningún beneficio, pero si

podría ayudar a otras personas que tienen la misma enfermedad que Usted, todo esto, gracias a la información que obtengamos.

V. Gracias a la información que se obtenga se podría tener un estudio de laboratorio que nos permitiría detectar con mayor exactitud qué tan enfermo se encuentra y así ayudar a otras personas como usted a reducir sus gastos de hospitalización ya que no la requerirían tanto tiempo y la calidad de su vida sería mejor ya que podríamos saber con rapidez si la enfermedad tiene posibilidades de hacerse más fuerte o no.

VI. Los investigadores del estudio están para servirle y para contestarle cualquier pregunta que pueda tener acerca del estudio.

VII. Usted no renuncia a ninguno de sus derechos como paciente por el hecho de firmar esta carta de consentimiento. Su firma, indica que ha leído y comprendido la información. Además, al firmarla usted reconoce que se le ha explicado el estudio y que ha podido hacer preguntas sobre todo lo que no entendía bien, y que las preguntas han sido respondidas satisfactoriamente. Asimismo, Usted comprende que su participación en el estudio es totalmente voluntaria (no es obligado). El no desear participar en el estudio no le traerá ningún problema, nadie se enojará con Usted o con sus familiares y su decisión no tiene nada que ver con la atención médica a la que tiene derecho recibir en esta institución de salud.

VIII. Usted tiene derecho a que nadie sepa que Usted participó en el estudio y toda la información que tengamos en este estudio permanecerá confidencial, dentro de los límites que marque la ley.

Es posible que los resultados del estudio, cualquiera que sean, se publiquen en una revista seria, por lo que Usted mediante la firma de este documento lo autoriza, siempre y cuando se mantenga secreta u oculta su identidad.

IX. Usted o la persona que sea el responsable legal tendrán derecho a conocer los resultados del estudio de laboratorio practicado, también a que se les explique lo que significa dicho resultado.

X y XI. Ni a Usted ni a sus familiares se le cobrará por el marcador de laboratorio ni por la (s) consulta (s) relacionadas con el estudio. El marcador de laboratorio será gratis solo durante el estudio.

La atención de problemas de salud que no se relacionen con este estudio seguirá siendo su responsabilidad, como lo hace habitualmente.

Ni Usted ni sus familiares recibirán compensación económica por la participación en el estudio.

En caso de algún problema relacionado con la investigación y que requiera ser revisado por un médico, este servicio será proporcionado en su totalidad por los investigadores hasta su resolución. No será posible la ayuda económica (indemnización) en caso de algún tipo de complicación relacionada con el estudio debido a que no contamos con recursos suficientes.

XII y XIII.

Nombre o huella digital \_\_\_\_\_

Familiar o Responsable legal \_\_\_\_\_

Testigo 1(Nombre y Dirección) \_\_\_\_\_

Relación con el sujeto del estudio \_\_\_\_\_

Testigo 2 (Nombre y Dirección) \_\_\_\_\_

Relación con el sujeto del estudio \_\_\_\_\_

**Estudio de Investigación: "Concentraciones plasmáticas de Lactato en sujetos con Pénfigo Vulgar en el servicio de Dermatología del Hospital General de México"**

XIV. Si usted o sus familiares creen que usted tiene algún problema relacionado con este estudio, por favor contacte (n) de inmediato al Dr. Andrés Tirado Sánchez al celular 5527-44-2811 las 24hrs. La Dra. Rosa María Ponce Olivera, Tel. 5652-3999, celular 5554-03-2049 (las 24hrs), conm. 2789-2000 ext. 1055 (lunes a viernes de 8 a 16hrs), Dra. Cecilia Eugenia Pulido Collazos, Residente del Servicio de Dermatología del Hospital General de México al número celular 5541-30-3478 (las 24h).

Dr. Carlos Ibarra Pérez,  
Presidente del Comité de Ética del Hospital General de México  
conmutador. 2789-2000 ext.1164

XV. En caso de que Usted requiera atención médica acudir al Servicio de Dermatología del Hospital General de México de lunes a viernes de 8 a 16 hrs o al Servicio de Urgencias del Hospital General de México disponible las 24hrs.

## **Carta de Consentimiento Informado - Sujetos sanos**

Autorización para participar en el estudio de investigación titulado:

**“Concentraciones plasmáticas de Lactato en sujetos con Pénfigo Vulgar en el servicio de Dermatología del Hospital General de México”**

*Investigadores:*

Dr. Andrés Tirado Sánchez.

Servicio de Dermatología, Hospital General de México.

Dra. Rosa María Ponce Olivera.

Servicio de Dermatología, Hospital General de México.

Dra. Cecilia Pulido Collazos,

Residente del Servicio de Dermatología del Hospital General de México.

1. El proyecto de investigación corresponde a Riesgo mínimo, esto es, debido a la extracción de sangre por punción venosa, que se explicará más adelante.

2. Apartados

I. El investigador del estudio lo esta invitando a Usted, a participar en un estudio de investigación. Debido a que necesita conocer los valores de un examen de laboratorio en sujetos sanos como Usted.

El examen de laboratorio será niveles de Lactato en sangre venosa y se usará para comparar los valores en personas sanas como Usted con valores encontrados en personas con Pénfigo vulgar. Para llevar a cabo esto se necesitará una muestra de sangre de 3mL que se analizará sin costo alguno.

II. Si Usted participa en este estudio, requeriremos que acuda una sola vez a la consulta, en la que se explicara el consentimiento informado y una vez aceptado tomaremos todos los datos necesarios para su participación. La toma de muestra de sangre de 3mL (cantidad que generalmente se toma con cualquier estudio de sangre), es el único procedimiento que se le realizará y que podría ocasionarle una pequeña molestia transitoria (dolor leve) en el sitio de la punción. El objetivo de esta toma de muestra es comparar los valores de lactato en sujetos sanos

como usted con los valores encontrados en sujetos con Pénfigo vulgar leve o gravemente enfermos.

III. Las molestias que puede usted tener con la inyección en la vena del brazo para obtener la muestra de sangre de 3mL podrían ser los siguientes:

Molestias en el sitio de la inyección como dolor leve por poco tiempo, que no le va a impedir hacer sus actividades normales ni le dejará problemas en otras partes de su cuerpo.

Debido a que la muestra de sangre se tomará con todas las medidas de higiene, evitamos cualquier tipo de contaminación en el sitio de la inyección, que si se presentara sería solo enrojecimiento e hinchazón en el sitio de entrada de la aguja, con un poco de dolor, que se quitará con el uso de medicamentos que serán proporcionados por el investigador, en caso de presentarse lo anterior en el sitio de la inyección y que se presente dentro de las dos semanas después de que se tomó la muestra de sangre.

IV. Si comparamos los valores normales de lactato en sujetos sanos, podríamos saber si se encuentran valores mas altos en sujetos con Pénfigo vulgar más enfermos. Si es así, podríamos dar un tratamiento más a tiempo y con menos complicaciones a los sujetos que tienen Pénfigo Vulgar. Sin embargo, es importante que conozca que este estudio puede darnos resultados no útiles. Su participación en el estudio podría ayudar a saber si el aumento en los valores de lactato encontrados en los sujeto con Pénfigo vulgar indican mayor compromiso de su enfermedad. Todo esto, gracias a la información que obtengamos.

V. Gracias a la información que se obtenga se podría crear un estudio de laboratorio que nos permitiera saber con que tan enfermos se encuentran los sujetos con Pénfigo Vulgar. Esto beneficiaría a los sujetos que padezcan Pénfigo Vulgar porque se daría una atención más oportuna, reduciendo gastos de hospitalización y mejorando su calidad de vida.

VI. El médico del estudio está para servirle y para contestarle cualquier pregunta que pueda tener acerca del estudio de laboratorio que ya le mencionamos o de otra cosa del mismo estudio.

VII. Usted no renuncia a ninguno de sus derechos legales, como paciente, por el hecho de firmar esta carta de consentimiento. Su firma, indica que ha leído y comprendido la información. Además, al firmarla usted reconoce que se le ha explicado el estudio y que ha podido hacer preguntas sobre todo lo que no entendía y que las preguntas han sido respondidas satisfactoriamente. Asimismo, Usted comprende que su participación en el estudio es totalmente voluntaria (no es obligado). El no desear participar en el estudio no le traerá ningún problema, nadie se enojará con Usted o con sus familiares y su decisión no tiene nada que ver con la atención médica a la que tiene derecho recibir en esta institución de salud.

VIII. Usted tiene derecho a que nadie sepa que Usted participó en el estudio y toda la información que tengamos en este estudio permanecerá confidencial, dentro de los límites que marque la ley.

Es posible que los resultados del estudio, cualquiera que sean, se publiquen en una revista seria, por lo que Usted mediante la firma de este documento lo autoriza, siempre y cuando se mantenga secreta u oculta su identidad.

IX. Usted o la persona que sea el responsable legal tendrán derecho a conocer los resultados del estudio de laboratorio practicado, también a que se les explique lo que significa dicho resultado.

X y XI. Ni a Usted ni a sus familiares se les cobrará por el marcador de laboratorio ni por la (s) consulta (s) relacionadas con el estudio. El marcador de laboratorio será gratuito solo durante el estudio.

La atención de problemas de salud que no se relacionen con este estudio seguirá siendo su responsabilidad, como lo hace habitualmente.

Ni Usted ni sus familiares recibirán compensación económica por la participación en el estudio.

En caso de algún problema relacionado con la investigación y que requiera ser revisado por un médico, este servicio será proporcionado en su totalidad por los investigadores hasta su resolución. No será posible la ayuda económica (indemnización) en caso de algún tipo de complicación relacionada con el estudio debido a que no contamos con recursos suficientes.

XII y XIII.

Nombre o huella digital \_\_\_\_\_

Familiar o Responsable legal \_\_\_\_\_

Testigo 1(Nombre y Dirección) \_\_\_\_\_

Relación con el sujeto del estudio \_\_\_\_\_

Testigo 2 (Nombre y Dirección) \_\_\_\_\_

Relación con el sujeto del estudio \_\_\_\_\_

XIV. Si usted o sus familiares creen que usted tiene algún problema relacionado con este estudio, por favor contacte (n) de inmediato al Dr. Andrés Tirado Sánchez al celular 5527-44-2811 las 24hrs. La Dra. Rosa María Ponce Olivera, Tel. 5652-3999, celular 5554-03-2049 (las 24hrs), conm. 2789-2000 ext. 1055 (lunes a viernes de 8 a 16hrs), Dra. Cecilia Eugenia Pulido Collazos, Residente del Servicio de Dermatología del Hospital General de México al número celular 5541-30-3478 (las 24h).

Dr. Carlos Ibarra Pérez, Presidente del Comité de Ética del Hospital General de México conmutador. 2789-2000 ext.1164

XV. En caso de que Usted requiera atención médica acudir al Servicio de Dermatología del Hospital General de México de lunes a viernes de 8 a 16hrs o al Servicio de Urgencias del Hospital General de México disponible las 24hrs.

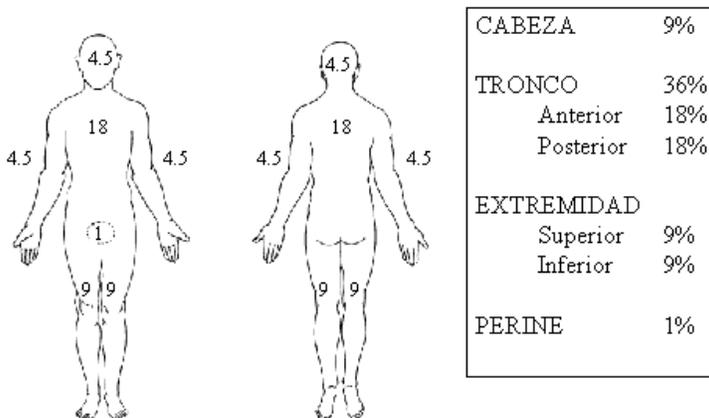
## Anexo 2. Hoja de Recolección de Datos de los sujetos del estudio.

Proyecto de Investigación:

### “Concentraciones plasmáticas de Lactato en sujetos con Pénfigo Vulgar en el servicio de Dermatología del Hospital General de México”

México, D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2011

- Nombre \_\_\_\_\_
- Número de identificación \_\_\_\_\_
- Edad \_\_\_\_\_ Género \_\_\_\_\_
- Grupo: 1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_
- Concentración plasmática del lactato \_\_\_\_\_ mmol/L
- 12 horas previas a la toma de la muestra ha realizado:  
Ejercicio si\_\_ no\_\_  
Fumado si\_\_ no\_\_  
Consumido bebidas alcohólicas si\_\_ no\_\_
- **En pacientes con Pénfigo vulgar: (Regla del 9)**
  - Porcentaje de superficie corporal afectada \_\_\_\_\_%



- Infección: si\_\_ no\_\_  
Con cultivo positivo en: \_\_\_\_\_
- Uso de inmunosupresor sistémico: si\_\_ no\_\_

### **Anexo 3. Procedimiento para la recolección de la muestra.**

**Objetivo.-** Detallar los pasos a seguir para una correcta recolección de muestra sanguínea para la determinación de las concentraciones plasmáticas de lactato.

**Alcances.-** Sujetos con carta de consentimiento informado firmada como muestra de aceptación de su participación en el estudio.

**Responsable.-**Dr. Andrés Tirado Sánchez.

**Referencias.-**Determinación cuantitativa de Lactato mediante la utilización del kit Spinreact con certificado de calidad por la ISO 9001 – Comunidad Europea y un espectrofotómetro.

**Equipamiento y materiales.-**Tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA(tapón morado), alcohol, torundas de algodón estéril, aguja para Vacutainer #21, adaptador de aguja (camisilla de plástico), ligadura, guantes de látex #7 estériles desechables, contenedor sólido para material punzocortante (caja roja con tapa blanca), contenedor de bolsa (roja con plástico grueso).

#### **Desarrollo**

1. El investigador responsable de la toma de la muestra portará una identificación visible.
2. Se preguntará al sujeto su nombre y apellidos completos.
3. Se identificará el tubo con la información del sujeto, el número del expediente y la fecha.
4. Preparar todo el material necesario.
5. Sentar al sujeto, colocando su brazo en la paleta de la silla para la toma de la muestra.
6. Lavado de manos.
7. Se realizará asepsia al tapón del tubo.

8. Se colocará la aguja y el tubo al adaptador del Vacutainer.
9. Se seleccionará una vena periférica adecuada (extremidad superior derecha preferentemente).
10. Se limpiará el área a puncionar con una torunda con alcohol, primero en la zona de punción y posteriormente en círculos excéntricos, esperando a que seque.
11. Se aplicará el torniquete (no más de 1 minuto).
12. Se colocarán los guantes y se avisará al paciente de la punción.
13. Se Puncionará en ángulo de 45° con respecto al eje de la piel, con el bisel de la aguja hacia arriba.
14. Se extraerán 3mL de sangre.
15. Se liberará el torniquete cuando la sangre comience a fluir.
16. Se colocará un nuevo algodón sobre el sitio de la punción y se ejercerá una presión suave por 1 a 3 minutos o hasta que no se observen rastros de sangrado.
17. Se desechará la aguja y los guantes en los recipientes correspondientes.
18. Posteriormente se centrifugará la muestra.
19. El plasma obtenido se mantendrá a 2-8°C hasta su procesamiento en el Instituto de Referencia Epidemiológica (InDRE) donde se realizará finalmente la cuantificación del lactato en plasma..

## Anexo 4. Documento de aprobación del estudio por parte de la Comisión de Ética y de Investigación del Hospital General de México O.D.



"2011, Año del Turismo en México"



Of. No. DI/03/11/231

México, D. F., a 27 de julio de 2011.

**DR. ANDRES TIRADO SANCHEZ**  
Servicio de Dermatología  
Presente.

Por este conducto hago de su conocimiento que el proyecto de investigación titulado "CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE LACTATO EN SUJETOS CON PENFIGO VULGAR Y SANOS QUE ACUDAN A LA CONSULTA DE DERMATOLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO", con clave de registro DIC/11/109/03/091, así como el consentimiento informado, fueron presentados a las Comisiones de Ética e Investigación quienes dictaminaron la **A P R O B A C I O N**. Por lo tanto, puede dar inicio a su investigación.

**"A la Vanguardia en el Cuidado de la Vida"**

Atentamente  
Director de Investigación,

**DR. DAVID KERSHENOBICH S.**

DKS/YRT/cvc.

ISO 9001:2000 ECMX-0333/06	POLITICA DE CALIDAD: Apoyar la conducción de la investigación que se realiza al interior del Hospital General de México a través del registro y seguimiento de proyectos, utilizando la infraestructura instalada, conduciendo la capacitación, así como la difusión y publicación de resultados obtenidos con el objeto de organizar y administrar el conocimiento que se genera con la investigación; cumpliendo con el requerimiento del cliente; todo ello bajo un marco de mejora continua del Sistema de Gestión de la Calidad.
----------------------------------	---

Dr. Balmis 148, U-301 2º, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc. México, DF 06726  
T. +52 (55) 2789-2000, +52 (55) 5004-3842 y 43 www.hgm.salud.gob.mx

## Parte IV. Referencias

1. Murrell D. F., Dick S., Ahmed A. R., Amagai M., Barnadas M. A. et al. Consensus statement on definitions of disease, endpoints, and therapeutic response for pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 2008;58:1043-6.
2. Alcantara V. Prevalencia y características del Pénfigo en el servicio de Dermatología del Hospital General de México en el periodo 1991-2011. Tesis de Posgrado en Dermatología. UNAM, 2012.
3. Bologna JL., Jorizzo JL., Rapini RP. *Dermatology*. Elsevier, España, 2009.
4. Marchenko S., Chernyavsky A., Arredondo J., Gindi V., Grando S. .Antimitochondrial Autoantibodies in Pemphigus Vulgaris A missing link in disease pathophysiology. *J Biol Chem* 2010; 285(6):3695-3704.
5. Daniel B. S., Hertl M., Werth V. P., Eming R., Murrell D. F.. Severity score indexes for blistering diseases. *Clin Dermatol* 2012; 30 :108–113.
6. Ratnam KV, Pang BK Pemphigus in remission: value of negative direct immunofluorescence in management. *J Am Acad Dermatol* 1994 ;30(4):547-50
7. Ronquist G., Andersson A., Bendsoe N., Falck B. Human epidermal energy metabolism is functionally anaerobic. *Exp Dermatol*. 2003;12(5):572-9.
8. D Keast, T Nguyen, E Newsholme. Maximal activities of glutaminase, citrate synthase, hexokinase, phosphofructokinase and lactate dehydrogenase in skin of rats and mice at different ages. *Febs Letters* 1989;247:132-134
9. Freinkel Rk. Metabolism of glucose-C-14 by human skin in vitro. *J Invest Dermatol*. 1960;34:37-42.
10. Williams R., Philpott M., Kealey T.. Metabolism of Freshly Isolated Human Hair Follicles Capable of Hair Elongation: A Glutaminolytic, Aerobic Glycolytic Tissue. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 834-840
11. Gunnerson K.J, Pinsky M.R. Lactic Acidosis. <http://emedicine.medscape.com/article/167027-overview#a0101>
12. O. N. Okorie, P. Dellinger. Lactate: Biomarker and Potential Therapeutic Target. *Crit Clin Care* 2011;27: 299–326.
13. Brooks, G. A. Intra- and extra-cellular lactate shuttles. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32 (4):790–799.
14. Vazquez A, Oltvai ZN (2011) Molecular Crowding Defines a Common Origin for the Warburg Effect in Proliferating Cells and the Lactate Threshold in Muscle Physiology. *PLoS ONE* 6(4): e19538.oi:10.1371/journal.pone.0019538

15. E Gheorghe, C Adumitresi, M Botnarciuc, M. Manea. Histochemical study of the skin affected by certain autoimmune diseases. *Rom J Morphol Embryol* 2005;46(1):73–8.
16. Hunt TK, Conolly WB, Aronson SB, Goldstein P. Anaerobic metabolism and wound healing: an hypothesis for the initiation and cessation of collagen synthesis in wounds. *Am J Surg* 1978 Mar;135(3):328-32.
17. Loiacono L. A., Shapiro D. S. Detection of Hypoxia at the Cellular Level. *Crit Clin Care* 2010;26 (2): 409-421.
18. Azkárate I, Sebastián R, Cabarcos E, Choperena G, Pascal M, Salas E. A prospective, observational severe sepsis/septic shock registry in a tertiary hospital in the province of Guipuzcoa (Spain). *Med Intensiva* 2011 Dec 6.
19. Lazzeri C, Valente S, Chiostrri M, Picariello C, Gensini GF. Lactate in the acute phase of ST-elevation myocardial infarction treated with mechanical revascularization: a single-center experience. *Am J Emerg Med* 2012;30(1):92-96.
20. Baud FJ, Borron SW, Mégarbane B, Trout H, Lapostolle F, Vicaut E, Debray M, Bismuth C. Value of lactic acidosis in the assessment of the severity of acute cyanide poisoning. *Crit Care Med*. 2002; 30(9):2044-50.
21. Dhup S., Dadhich R. K, Porporato P.E., Sonveaux P.. Multiple Biological Activities of Lactic Acid in Cancer: Influences on Tumor Growth, Angiogenesis and Metastasis. *Curr Pharm Design* 2012; 18(10):1319-1330.
22. Cheung PY, Finer NN. Plasma lactate concentration as a predictor of death in neonates with severe hypoxemia requiring extracorporeal membrane oxygenation. *J Pediatr* 1994; 125(5 Pt 1):763-8.
23. Bakker J. Lactate: may I have your votes please?. *Intens Care Med* 2001; 27:6-11.
24. Smith I, Kumar P, Molloy S, et al: Base excess and lactate as prognostic indicators for patients admitted to intensive care. *Intens Care Med* 2001; 27:74-83.
25. Tirado-Sanchez A., Vazquez-Gonzalez D., Ponce-Oliviera R. M., Montes de Oca-Sanchez G. Serum lactate is a useful predictor of death in severe sepsis in patients with pemphigus vulgaris. *Acta Dermatovenerol APA* 2012;21:7-9
26. Birklein F., Weber M., Neundoörfer B.. Increased skin lactate in complex regional pain syndrome: Evidence for tissue hypoxia?. *Neurology* 2000; 55 :1213–1215
27. Ferri: *Practical Guide to the Care of the Medical Patient*, 8th ed. 2010. Elsevier
28. Zhuang L., Scolyer R. A, Murali R., McCarthy S. W, Zhang X. D., Thompson J. F, Hersey P. Lactate dehydrogenase 5 expression in melanoma increases with disease progression and is associated with expression of Bcl-XL and Mcl-1, but not Bcl-2 proteins. *Modern Pathol* 2010; 23: 45–53.
29. Anderson M. Lactate dehydrogenase patterns in blister fluid and in exfoliative dermatitis. *J Invest Dermatol* 1968;51(4):283-5.

30. Bersten & Soni: Oh's Intensive Care Manual, 6th ed. Elsevier 2008
31. Wahl M. L., Owen J. A., Burd R., et al. Regulation of Intracellular pH in Human Melanoma: Potential Therapeutic Implications. *Mol Cancer Ther* 2002;1:617-628
32. Plowman S. A, Smith D.L. Exercise physiology for health, fitness and performance. Lippincott Williams &Wilkins 2007.
33. Ohkuwa T., Tsukamoto K., Yamai K., Itoh H., Yamazaki Y., Tsuda T. The Relationship between Exercise Intensity and Lactate Concentration on the Skin Surface. *Int J Biomed Sci* 2009; 5(1):23-27.
34. Biagi S, Ghimenti S, Onor M, Bramanti E. Simultaneous determination of lactate and pyruvate in human sweat using reversed-phase high-performance liquid chromatography: a noninvasive approach. *Biomed Chromatogr* 2012 Feb 7. doi: 10.1002/bmc.2713
35. Cohen & Powderly: Infectious Diseases, 3rd ed. 2010. Elsevier
36. Vaisberg M, de Mello MT, Seelaender MC, dos Santos RV, Costa Rosa LF. Reduced maximal oxygen consumption and overproduction of proinflammatory cytokines in athletes. *Neuroimmunomodulation* 2007;14(6):304-9.
37. Huie MJ, Casazza GA, Horning MA, Brooks GA. Smoking increases conversion of lactate to glucose during submaximal exercise. *J Appl Physiol* 1996; 80(5):1554-9.
38. Narbutt J, Lukamowicz J, Bogaczewicz J, Sysa-Jedrzejowska A, Torzecka D, Lesiak A. Serum concentration of interleukin-6 is increased both in active and remission stages of pemphigus vulgaris. Hindawi Publishing Corporation. *MediatInflamVol* 2008, Article ID 875394, 5 pages doi:10.1155/2008/875394
39. Nousari H C, Kimyai-Asadi A, Anhalt G J. Elevated serum levels of interleukin-6 in paraneoplastic pemphigus. *J Invest Dermatol* 1999;112(3):396-8.
40. Ludwig RJ, Schmidt E. Cytokines in autoimmune bullous skin diseases. Epiphenomena or contribution to pathogenesis?. *G Ital Dermatol Venereol* 2009;144(4):339-49.
41. Hsiao YP, Huang HL, Lai WW, Chung JG, Yang JH. Antiproliferative effects of lactic acid via the induction of apoptosis and cell cycle arrest in a human keratinocyte cell line (HaCaT). *J Dermatol Sci* 2009;54(3):175-84.
42. Bektas M., Jolly P., Rubenstein D. S. Apoptotic Pathways in Pemphigus *Dermatology Research and Practice* 2010; Article ID 456841, 8 pages doi:10.1155/2010/456841
43. Wahl M. L., Owen J. A., Burd R. et al. Regulation of Intracellular pH in Human Melanoma: Potential Therapeutic Implications 1 Supported by NIH Grant P01 CA56690 (to M. L. W., R. B., C. S. O., D. B. L.). *Mol Cancer Ther* 2002;1:617-628.