



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA
SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

FUNCIÓN DE LA GLICOPROTEÍNA-P EN PACIENTES CON PÉNFIGO VULGAR Y SU RELACIÓN
CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON CORTICOSTEROIDES

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

ALBA CICERO CASARRUBIAS

TUTOR PRINCIPAL:

DR. LUIS GUILLERMO LLORENTE PETERS *

*Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
Salvador Zubirán

COMITÉ TUTOR:

DRA. JUDITH GUADALUPE DOMÍNGUEZ CHERIT **

DRA. MARÍA TERESA HOJYO TOMOKA***

** Departamento de Dermatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

*** Departamento de Dermatología. Hospital General Dr. Manuel Gea González

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO DE 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Índice

1. Título del proyecto.....	3
2. Instituciones participantes.....	3
3. Marco teórico	3
3.1 El fenómeno de resistencia a múltiples drogas	3
3.2 Generalidades de enfermedades ampollas autoinmunes.....	8
3.2.1 Pénfigo	8
4. Planteamiento del problema	10
5. Justificación.....	11
6. Hipótesis.....	11
6.1 Hipótesis primaria	11
6.2 Hipótesis secundaria.....	11
7. Objetivos	11
7.1 Objetivo general	11
7.2 Objetivos Secundarios	11
8 Materiales y métodos	12
8.1 Diseño del estudio.....	12
8.2 Maniobras de intervención	12
8.3 Tamaño de la muestra	13
8.4. Criterios de selección.....	13
8.4.1 Criterios de inclusión.....	13
8.4.2 Criterios de exclusión.....	13
8.4.3 Criterios de eliminación.....	13
8.5 Variables/desenlaces principales y secundarios a medir	13
8.5.1 Principales.....	13
8.5.2 Secundarias	14
8.6 Definiciones operacionales	14
8.7 Análisis estadístico.....	15
8.8 Ética	15
9. Resultados	16
10. Discusión.....	23
11. Conclusiones.....	25
12. Recursos económicos.....	25
13. Referencias	25
14. Anexos	31

14.1 Formato de consentimiento informado para pacientes del INNSZ	31
14.2 Formato de consentimiento informado para pacientes del HGDMGG	40
14.3 Formato de consentimiento informado para voluntarios sanos	43
14.4 Puntaje de intensidad de enfermedades autoinmunes ampollas de la piel (ABSIS).....	50
14.5 Escala modificada de evaluación de la presentación de mucositis	51
14.6 Escala de la OMS de mucositis oral	52

1. Título del proyecto

Función de la glicoproteína-P en pacientes con enfermedades ampollas autoinmunes y su relación con la respuesta al tratamiento con corticosteroides

2. Instituciones participantes

- Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ).
 - Dirección: Av. Vasco de Quiroga No.15, Col. Belisario Domínguez Sección XVI, Tlalpan, CP 14080.
 - Participación: reclutamiento de pacientes, revisión clínica, toma y análisis de muestras
- Hospital General Dr. Manuel Gea González (HGDMGG)
 - Dirección: Av. Calzada de Tlalpan No.4800, Col. Sección XVI, Tlalpan, CP 14080.
 - Participación: reclutamiento de pacientes

3. Marco teórico

3.1 El fenómeno de resistencia a múltiples drogas

En 1992 se introdujo el término de transportadores ABC, la designación ABC se basaba en la altamente conservada ATP-binding-cassette, que es la característica más distintiva de la superfamilia (Higgins, 1992). En las últimas décadas, se ha demostrado que los transportadores ABC juegan un importante rol en la resistencia a quimioterapéuticos, antiinflamatorios y antivirales. Se ha reconocido que los miembros de las familias ABCB, -C y -G mantienen la multidrogorresistencia (MDR) por medio del transporte activo de compuestos estructuralmente no relacionados a través de las membranas (Borst & Oude Elferink, 2002). En la Tabla 1 se enlistan los diferentes transportadores ABC descritos y sus sustratos farmacológicos (Van de Ven, y otros, 2009).

Tabla 1. Sustratos farmacológicos de los transportadores ABC

Transportador ABC	Sustratos farmacológicos
P-gp (ABCB1)	Doxorrubicina, daunorrubicina, vinblastina, docetaxel, irinotecan,

	topotecan, paclitaxel, cloroquina, glucocorticoides
MRP1 (ABCC1)	Metotrexate, doxorubicina, daunorrubicina, vincristina, etopósido, cloroquina
MRP2 (ABCC2)	Metotrexate, vinblastina, vincristina, etopósido, doxorubicina, cisplatino, epirubicina, taxanos
MRP3 (ABCC3)	Metotrexate, etopósido, vincristina
MRP4 (ABCC4)	Metotrexate, mercaptopurina, tioguanina, campotequinas, azidotimidina, azatioprina, topotecan
ISARMRP5 (ABCC5)	Metotrexate, fluoracilo, mercaptopurina, tioguanina, azatioprina
MRP6 (ABCC6)	Antraciclínas, etopósido
MRP7 (ABCC10)	Docetaxel, paclitaxel, vincristina, vinblastina, análogos de nucleósido y epitilona B
MRP8 (ABCC11)	Metotrexate, 5-FdUMP, PMEA, ddC
MRP9 (ABCC12)	Desconocido
BCRP (ABCG2)	Metotrexate, sulfazalazina, metotrexate-glu2, metotrexate-glu3, mitoxantrona, topotecan, camptotecina, doxorubicina, irinotecan, inhibidores de tirosin cinasa, diclofenaco
Modificado de Van de Ven y cols	

El primer transportador descrito fue la glicoproteína-P (P-gp), la cual está codificada por el gen de MDR (*mdr1*) (Ueda, y otros, 1986). La P-gp es una glicoproteína transmembrana de 170-kDa que se encuentra en varios tipos de células malignas y tejidos normales como endotelios capilares de barrera (barrera hematoencefálica, testículos y dermis papilar), epitelio tubular renal, intestino, glándulas adrenales, células NK, células dendríticas presentadoras de antígenos y linfocitos T y B (Fojo, Ueda, Slamon, Poplack, Gottesman, & Pastan, 1987) (Cordon-Cardo, y otros, 1989) (Cordon-Cardo, O'Brien, Boccia, Casals, Bertino, & Melamed, 1990) (Klimecki, Futscher, Grogan, & Dalton, 1994) (Randolph, y otros, 1998). En un estudio en queratinocitos humanos no se encontró expresión constitutiva de P-gp, pero se documentó expresión de P-gp tras estimulación con dexametasona *in vitro* (Baron, y otros, 2001); en otro estudio se encontró una baja expresión de P-gp en piel de forma constitutiva (Osman-Ponchet, y otros, 2014). En modelos murinos, se ha descrito que la P-gp está implicada en la absorción transdérmica de esteroides tópicos (Ito, y otros, 2008) (Hashimoto, y otros, 2017).

La P-gp tiene como función la detoxificación y excreción de metabolitos celulares como mecanismo de protección celular. La bomba tiene múltiples sustratos con diferentes estructuras químicas o dianas terapéuticas (Tabla 2), la mayoría de estos compuestos son liposolubles (Higgins, 1992) (Gottesman & Pastan, 1993).

Tabla 2. Sustratos de la P-gp	
Grupo	Sustrato
Alcaloides de la vinca	Vinblastina Vincristina
Antraciclínas	Doxorrubicina Daunorrubicina
Taxanos	Paclitaxel Docetaxel
Epipodofilotoxinas	Etopósido Tenipósido
Esteroides ^{1,2}	Aldosterona Dexametasona (glucocorticoide sintético) Prednisona Metilprednisolona Hidrocortisona Cortisol Corticosterona
Inhibidores de proteasa de HIV	Indinavir Saquinavir Nelfinavir Ritonavir
Analgésicos	Morfina
Glucósidos cardíacos	Digoxina
Antihelmínticos	Ivermectina
Detergentes	Triton X-100 Etoxilato de nonilfenol
Colorantes fluorescentes	Rodamina 123 Tetrametilrodamina Hoechst 33342 LDS-751 Calceína acetoximetil éster
Péptidos lineales/cíclicos	ALLN NAc-LLY-amida Leupeptina Pepstatina A
Ionóforos	Gramicidina D Nonactina

	Beauvericina
Agentes citotóxicos	Colchicina Actinomicina D Mitoxantrona
Antibióticos	Eritromicina Actinomicina D Tetraciclina Rifampicina Levofloxacino
Misceláneos	Loperamida Cimetidina Sales de oro Metotrexate Imatinib Ranitidina Ondansetrón
Modificado de García-Carrasco y cols. (García-Carrasco, Mendoza-Pinto, Macias Díaz, & Vera-Recabarren, 2015) ¹ (Ueda, y otros, 1986), ² (Van Kalken, y otros, 1993)	

El fenotipo de MDR conlleva a una sensibilidad disminuida a varios agentes, como antracíclicos y glucocorticoides (Ford, 1995). Este fenómeno es consecuencia de la eflujo celular de medicamentos por la P-gp, lo cual disminuye las concentraciones intracelulares de los medicamentos y su acción terapéutica (Horio, Gottesman, & Pastan, 1988) (Picchianti-Diamanti, Rosado, Scarsella, Laganà, & D'Amelio, 2014) (Gao, y otros, 2018).

Además, la P-gp está involucrada en el transporte de citocinas, particularmente IL-1 β , IL-2, IL-4 e interferón γ (Drach, y otros, 1996) y tiene funciones críticas en linfocitos CD4+ y CD8+, presentación de antígenos y función de células NK, por lo que tiene un rol crítico en la modulación inmune (Johnstone, Ruefli, & Smyth, 2000).

En algunos estudios se ha observado un efecto diferente tras exposición a corto y largo plazo de mediadores inflamatorios en la actividad de P-gp, inicialmente se deprime su actividad (Hartz, Bauer, Fricker, & Miller, 2006), pero a largo plazo la exposición a mediadores inflamatorios regula a la alta la expresión y actividad de la P-gp (Bauer, Hartz, Fricker, & Miller, 2007) (Liu, y otros, 2015).

La resistencia adquirida a drogas es un fenómeno principalmente estudiado en cáncer, aunque se ha observado este fenómeno en enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide (Llorente, y otros,

2000) (Pascual-Ramos, y otros, 2016), enfermedad de Crohn (Farrell, y otros, 2000), lupus eritematoso generalizado (Díaz-Borjón, Richaud-Patin, Alvarado de la Barrera, Jakez-Ocampo, Ruíz-Argüelles, & Llorente, 2000), púrpura trombocitopénica autoinmune (Ruiz-Soto, Richaud-Patin, López-Karpovitch, & Llorente, 2003) y miastenia gravis (Richaud-Patin, Vega-Boada, Vidaller, & Llorente, 2004). En todos los estudios anteriores se encontró que la actividad de la P-gp era mayor en pacientes con enfermedades autoinmunes en comparación con los controles; así mismo, también se observaba mayor actividad en pacientes activos o refractarios en comparación con los inactivos. En menor proporción, se ha llegado a documentar actividad incrementada de la P-gp en pacientes con miastenia gravis sin uso de prednisona (Richaud-Patin, Vega-Boada, Vidaller, & Llorente, 2004).

Existen varios compuestos que pueden servir como quimiosensibilizantes y revertir el fenotipo de MDR al competir por el sistema de transporte responsable de la resistencia. Estos quimiosensibilizantes comparten las propiedades de solubilidad de los agentes asociados a resistencia. Los más estudiados son el verapamil y la ciclosporina A, aunque se han descrito múltiples agentes (Tabla 3) (Gottesman & Pastan, 1993).

Tabla 3. Agentes que revierten el fenotipo de MDR	
Grupo	Ejemplos
Calcio antagonistas	Verapamil, nifedipino, dihidropiridinas, azidopina
Antiarrítmicos	Quinidina amiodarona
Antihipertensivos	Reserpina
Antibióticos	Cefalosporinas hidrofóbicas
Antihistamínicos	Terfenadina
Inmunosupresores	Ciclosporina A, tacrolimus, rapamicina
Hormonas esteroideas	Progesterona
Esteroides modificados	Tirilazad, tamoxifeno
Cationes lipofílicos	Tetrafenilfosfonio
Diterpénos	Forskolina
Detergentes	Tween-80
Antidepresivos	Tioperidona
Antipsicóticos	Fenotiazina
Modificado de Gottesman y cols (Gottesman & Pastan, 1993)	

Existen varios métodos de medición de la P-gp, aunque los métodos funcionales suelen ser los preferidos debido a que simulan el problema clínico real i.e., la eflujo de fármacos. Se pueden emplear sustratos fluorescentes como rodamina 123, doxorubicina, daunorrubicina y Hoechst 33342, todos con resultados comparables (Ludescher, y otros, 1992) (Kappelmayer, Karászi, Telek, & Jakab, 2002). Con dicha técnica, es posible medir la capacidad individual de cada célula para expulsar medicamentos

sustratos de los transportadores ABC, por lo que porcentajes tan bajos como un 3% de células expulsoras pudieran ser responsables de condicionar un estado de resistencia a los medicamentos relacionados con tales transportadores (Kappelmayer, Karászi, Telek, & Jakab, 2002).

Por otro lado, la detección de P-gp en la superficie celular o la expresión génica (mRNA) no reflejan necesariamente la actividad funcional del transportador debido a la presencia de modificaciones postraduccionales (McClellan & Hill, 1993). La P-gp se glucosila para alcanzar su estado de maduración y el estatus de fosforilación puede jugar un papel clave en fenotipos de resistencia a fármacos (Callaghan, Luk, & Bebawy, 2014) (Yano, Tomono, & Ogihara, 2018).

Sólo se ha realizado un estudio de la actividad de la P-gp en pacientes con pénfigo y poca respuesta al tratamiento con corticosteroides, en él se valoraron 20 pacientes (8 malos respondedores y 12 respondedores a tratamiento con corticosteroides (CS). Se determinó actividad de la P-gp por medio de porcentaje de eflujo de rodamina 123, marcaje con anticuerpos monoclonales y niveles de mRNA. Se encontraron niveles similares de la P-gp en ambos grupos y en controles sanos; no se observó correlación entre la actividad de la P-gp y la dosis de CS (De la Fuente, y otros, 2002). Cabe mencionar que en dicho estudio se utilizó diferente metodología para la medición de la actividad de la P-gp. De todos los transportadores ABC descritos que pudiesen ser aplicables a pénfigo, la P-gp es la única que en la actualidad puede medirse con estudios funcionales y que tiene como sustrato la primera línea de tratamiento, los corticosteroides.

3.2 Generalidades de enfermedades ampollas autoinmunes

Las enfermedades ampollas autoinmunes (EAA) son un grupo de enfermedades adquiridas caracterizadas por producción de autoanticuerpos contra diferentes antígenos de las proteínas de unión en la epidermis (e.g. pénfigo) o la unión dermoepidérmica (e.g. penfigoide ampolloso) resultando en formación de ampollas intraepidérmicas o subepidérmicas, respectivamente. Pueden poner en riesgo la vida. El pénfigo y el penfigoide ampolloso son las más comunes. En el INCMNSZ, en los últimos 6 años, se han diagnosticado y confirmado por biopsia 34 casos de pénfigo; mientras que en el HGDMGG, en los últimos 5 años, se han diagnosticado 48 casos de pénfigo (datos no publicados del 2016).

3.2.1 Pénfigo

Se trata de un grupo de enfermedades ampollas de la piel y mucosas caracterizada por acantólisis (pérdida de las adhesiones intercelulares) con formación de ampollas flácidas y erosiones. Existen 3 formas principales: pénfigo vulgar, foliáceo y paraneoplásico, siendo la primera la forma más común. Los antígenos principales son las desmogleínas 1 y 3 (Bolognia, Jorizzo, & Schaffer, 2012).

Es una enfermedad rara con distribución mundial. Aunque hay información limitada con relación a la incidencia, esta varía entre 0.1 y 0.5 por 100 000 personas al año, aunque se han reportado mayores números en algunas poblaciones (Kneisel & Hertl, 2011)¹⁷. En México no existen estudios que valoren su incidencia. Suele iniciar entre los 40-60 años y afecta hombres y mujeres por igual. En México, el pénfigo vulgar es la enfermedad ampollosa más común, en una serie de casos del Hospital General Manuel Gea

González representaba el 61.13% de los casos de enfermedades ampollosas (Tirado-Sanchez, Ponce-Olivera, Montes de Oca-Sanchez, & Leon-Dorantes, 2006) (Solís-Arias, Rodríguez-Gutiérrez, Rodríguez-Carreón, Vega-Memije, & Domínguez-Soto, 2013).

Según las últimas guías (Murrell, y otros, 2018), el diagnóstico de pénfigo se basa en:

- Presentación clínica
- Histopatología
- Inmunofluorescencia directa de piel perilesional
- Detección serológica de anticuerpos séricos contra la superficie celular epitelial determinado por inmunofluorescencia indirecta y/o ELISA

El diagnóstico requiere la presentación clínica e histología compatibles con pénfigo e inmunofluorescencia directa o detección serológica de autoanticuerpos contra la superficie celular epitelial (anti-desmogleínas 1 y 3). La detección de anticuerpos circulantes no es esencial para el diagnóstico, aunque puede ser importante para el monitoreo del curso de la enfermedad (Schmidt, y otros, 2015).

La primera línea de tratamiento son los corticosteroides sistémicos con dosis iniciales de 1-1.5 mg/kg/d de prednisona vía oral y se pueden agregar adyuvantes como azatioprina y mofetil micofenolato (Hertl & Geller, Initial management of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus, 2016). La mayoría de los pacientes comienzan a tener mejoría en la primera semana, aunque hay casos que no responden adecuadamente. Se considera pénfigo refractario cuando hay respuesta inadecuada al uso apropiado de los agentes anteriormente mencionados. Un consenso realizado en 2008 definió como falla al tratamiento como: desarrollo continuo de lesiones, extensión continua de lesiones antiguas o falla para iniciar curación de lesiones después de 3 semanas de tratamiento con prednisona a dosis de 1.5 mg/kg/d con o sin uso de ciclofosfamida, azatioprina, metotrexate o mofetil micofenolato por 12 semanas (Murrell, y otros, 2008). Las opciones terapéuticas en caso de enfermedad refractaria incluyen ciclofosfamida, rituximab, inmunoglobulina intravenosa, inmunoadsorción y plasmaféresis; la mayoría de los tratamientos anteriores tienen costos elevados (Hertl & Eming, Uptodate, 2017).

Se han descrito tres fases de tratamiento: a) en la fase 1 (control) se alcanza control de la actividad aguda de la enfermedad con el uso de glucocorticoides; b) en la fase 2 (consolidación), el tipo de medicamento y dosis se mantienen constantes hasta que aproximadamente 80% de las lesiones han sanado; y c) en la fase 3 (mantenimiento) la dosis de glucocorticoides se disminuye gradualmente (Brystryn, Adjuvant therapy of pemphigus, 1984).

Las definiciones de los parámetros para desenlace de la enfermedad son (Murrell, y otros, 2008):

- a) Control de la actividad de la enfermedad: tiempo en el que dejan de haber nuevas lesiones y las establecidas comienzan a sanar.
- b) Finalización de la fase de consolidación: Tiempo en el que ya no hay nuevas lesiones por al menos dos semanas, aproximadamente 80% de las lesiones han sanado, es cuando la mayoría de los clínicos empiezan la dosis reducción.
- c) Remisión completa con tratamiento: ausencia de lesiones nuevas o establecidas en pacientes recibiendo tratamiento mínimo
- d) Remisión completa sin tratamiento: ausencia de lesiones nuevas o establecidas en pacientes sin tratamiento sistémico por al menos dos meses.
- e) Recaída/reactivación: aparición de ≥ 3 nuevas lesiones al mes que no sanan espontáneamente en una semana, o extensión de las lesiones ya establecidas en un paciente que había alcanzado control.
- f) Tratamiento mínimo: prednisona ≤ 10 mg/d (o equivalente) y/o tratamiento adyuvante mínimo por al menos dos meses

Comúnmente, la fase 3 de tratamiento (mantenimiento) es prolongada, lo que lleva a sustanciales dosis acumuladas de glucocorticoides y morbilidad. Aunque estos regímenes tienen éxito en controlar la enfermedad, un grupo significativo de pacientes se vuelve dependiente a los glucocorticoides, lo que condiciona varias complicaciones (Heaphy, Albrecht, & Werth, 2005). Durante la fase de dosis reducción de corticosteroides, aproximadamente la mitad de los pacientes tendrá una recaída (Almugairen, y otros, 2013). La mayoría de los reportes describen cursos de medicamentos de larga duración, entre 5 y 10 años (Cholera & Chainani-Wu, 2016), llegando a discontinuar el tratamiento en 75% de los casos (Herbst & Brystry, 2000).

La mortalidad de la enfermedad es aproximadamente del 6% a pesar del tratamiento y está principalmente relacionada a efectos adversos farmacológicos (Brystry, Adjuvant therapy of pemphigus, 1984) (Brystry & Steinman, The adjuvant therapy of pemphigus—an update, 1996).

4. Planteamiento del problema

El pénfigo puede poner en riesgo la vida y pueden asociarse a una importante comorbilidad, el uso crónico de corticosteroides y otros inmunosupresores representan otro factor de riesgo para complicaciones.

Aunque no se conoce bien el porcentaje de pacientes que no responden, el número de pacientes que son dependientes al tratamiento con esteroides a diferentes dosis es alto. Hasta ahora no están claros los mecanismos implicados en la variabilidad entre la respuesta de un paciente a otro.

La actividad del transportador ABCB1 (P-gp) mediante la eflujo de los medicamentos utilizados de forma convencional para el tratamiento del pénfigo pudiera ocasionar parte de ésta resistencia o dependencia.

Sin embargo, no hay estudios en la actualidad que hayan determinado si los pacientes con pénfigo tengan una mayor actividad de estos transportadores asociada a resistencia o dependencia al tratamiento con corticosteroides.

5. Justificación

El estudio de los mecanismos de resistencia al tratamiento en los pacientes con pénfigo nos permitiría identificar un grupo de pacientes que pudieran beneficiarse de diferentes estrategias terapéuticas, acelerando de esta forma la inducción de la remisión de la enfermedad y disminuyendo las comorbilidades asociadas al uso prolongado de corticosteroides. Por otro lado, existe investigación activa en relación a reversión del fenotipo de resistencia de esteroides, por lo que éste podría llegar a ser un objetivo terapéutico en éste grupo de enfermedades si se confirma que estos canales tienen participación como mecanismo de resistencia al tratamiento.

6. Hipótesis

6.1 Hipótesis primaria

En pacientes con diagnóstico de pénfigo vulgar, un mayor porcentaje de actividad de la ABCB1 (P- gp) se correlaciona a mayores requerimientos de corticosteroides.

6.2 Hipótesis secundaria

Los pacientes con pénfigo vulgar en remisión o con control de la actividad tienen un menor porcentaje de actividad de la ABCB1 (P- gp) que los pacientes que no alcanzan remisión o control.

7. Objetivos

7.1 Objetivo general

Determinar el porcentaje de eflujo de daunorrubicina (PED) como medida de actividad de ABCB1 (P-gp) en pacientes con diagnóstico de pénfigo vulgar.

7.2 Objetivos Secundarios

- a) Correlacionar el PED con los parámetros clínicos de actividad de la enfermedad.
- b) Conocer si existe alguna diferencia en las variables de la enfermedad entre el grupo de pacientes con PED elevada y PED normal.
- c) Correlacionar los parámetros de actividad de la enfermedad con los títulos de anti-desmogleínas.
- d) Conocer el grado de concordancia interobservador al aplicar las escalas de actividad.

8 Materiales y métodos

8.1 Diseño del estudio

Estudio transversal, en el que se determinó la actividad de la P-gp en pacientes con pénfigo. Se buscó establecer asociación entre la medición de actividad de los transportadores y el requerimiento de corticosteroides y estado clínico del paciente.

Se invitaron de forma consecutiva a todos los pacientes con diagnóstico de pénfigo vulgar de la consulta externa del INCMNSZ y HGDMGG.

8.2 Maniobras de intervención

Coincidiendo con las citas programadas de los pacientes, se invitaron a participar los pacientes, se les explicó el protocolo y se solicitó autorización del paciente mediante la firma de un consentimiento informado. Se realizó una evaluación clínica por dos observadores cegados, se determinaron escalas de actividad para pénfigo. Además, se tomaron fotografías clínicas y se obtuvieron dos muestras de 5 mL de sangre periférica. Para la primera muestra se usó un tubo con anticoagulante EDTA que fue procesado inmediatamente para la medición por citometría de flujo de la actividad de los transportadores ABCB1.

Un investigador cegado al estatus clínico de los pacientes aisló las células mononucleares de sangre periférica por gradiente de centrifugación con Lymphoprep (Oslo, Noruega). Para la citometría de flujo se midió la eflujo de daunorrubicina, sustrato de la P-gp con propiedades fluorescentes, para cuantificar la actividad de ABCB1. Se agregaron a 2×10^6 células 40 μ L de una solución 400 μ M del sustrato. Se separaron dos alíquotas; la primera fue colocada por 30 minutos en hielo para permitir la medición basal de la captación de daunorrubicina. La otra se incubó por 30 minutos a 37°C. Las células se lavaron dos veces con medio a 4°C para el análisis por citometría de flujo. La daunorrubicina emite fluorescencia al ser incidida por el láser azul con longitud de onda de 488 nm. Todos los análisis se realizaron en un citómetro de flujo FACS Excalibur. Los resultados se expresaron como el porcentaje de células con eflujo del sustrato.

El segundo tubo con gel separador, se usó para la determinación por ELISA de anticuerpos anti-desmogleínas 1 y 3 (Euroimmun).

Previo consentimiento informado, se incluyeron a 30 voluntarios sanos para determinación de la función de la P-gp. Se les tomó una muestra de 5 mL de sangre periférica.

Las fotografías tomadas sólo incluyeron áreas de piel con lesiones, no se incluyó la cara completa. Los archivos fotográficos fueron codificados con un número de serie que no contenía información personal. Los investigadores son los únicos con acceso a ellas.

8.3 Tamaño de la muestra

No hay antecedentes de trabajos similares que nos permitieran hacer un cálculo de tamaño de muestra formal. Nos basamos en un estudio que valoraba la relación entre la actividad de la artritis reumatoide y la función de la P-gp, en dicho estudio se encontró una rho de 0.45 entre la actividad de la enfermedad medidas por DAS28 y la actividad del transportador (Pascual-Ramos, y otros, 2016).

El tamaño de la muestra se calculó con base a la hipótesis primaria del estudio, se esperaba un coeficiente de correlación de 0.45, con un nivel de confianza de 0.95 y poder de 0.8.

Fórmula utilizada:

$$N = \left[\frac{Z_{\alpha} + Z_{\beta}}{C} \right]^2 + 3$$

Según la fórmula anterior, se requerían 36 pacientes. Por posibles pérdidas (evaluaciones incompletas o muestras que no puedan procesarse) se añadió 10% a la muestra, requiriéndose un total de 40 pacientes.

8.4. Criterios de selección

8.4.1 Criterios de inclusión

1. Pacientes mayores de 18 años, ambos géneros, que cuenten con registro en el INCMNSZ o en el HGDMGG y en quienes se haya comprobado el diagnóstico de pénfigo.
2. Pacientes con cualquier grado de actividad clínica de la enfermedad
3. Haber recibido al menos un mes de tratamiento con corticosteroides
4. Aceptar y firmar el consentimiento informado

8.4.2 Criterios de exclusión

1. Padecer otras enfermedades que requieran uso de corticosteroides sistémicos
2. Embarazo
3. Uso actual de metotrexate o tetraciclinas (medicamentos sustrato de la P-gp)

8.4.3 Criterios de eliminación

1. Evaluación incompleta
2. Pacientes en quienes por cuestiones técnicas no sea posible procesar las muestras

8.5 Variables/desenlaces principales y secundarios a medir

8.5.1 Principales

Actividad del transportador P-gp medido como el porcentaje de células con eflujo de daunorrubicina a 37°C dentro de las células mononucleares de sangre periférica.

8.5.2 Secundarias

Las variables secundarias a medir fueron:

1. Características sociodemográficas: Edad, género, tabaquismo.
2. Características de la enfermedad: edad al diagnóstico, tiempo de evolución de la enfermedad, criterios diagnósticos, fenotipo clínico
3. Actividad de la enfermedad mediante (ver anexos):
 - a) Péñfigo: Puntaje de intensidad de enfermedades autoinmunes ampollosas de la piel (ABSIS) (0-206 puntos) (Pftuze, Niedermeier, Hertl, & Emimng, 2007)
 - b) Escala modificada de evaluación de la presentación de mucositis (0 a 6 puntos) (Ferreti, y otros, 1990) (Woo, Sonis, & Sonis, 1990)
 - c) Escala de la OMS de mucositis oral (0-4 puntos) (Organización Mundial de la Salud, 1979)
 - d) Escala visual análoga para el dolor por parte del paciente (0 a 10 puntos) (Scott & Huskisson, 1976)
4. Tratamiento

8.6 Definiciones operacionales

- a) Sobre función de la P-gp: un valor mayor o igual a la percentila 99 del grupo control.
- b) Edad: años de vida que tiene al paciente al momento de su inclusión al estudio.
- c) Género: identidad de género auto reportada por el paciente al momento de inclusión al estudio.
- d) Peso: medida en báscula calibrada en ayuno y sin ropa.
- e) Talla: medida con estadímetro, el paciente no usará zapatos y mirará al frente fijando la vista a un punto fijo
- f) Tabaquismo: historia auto reportada de hábito actual o pasado
- g) Tiempo de evolución de la enfermedad: fecha calendárica en la que se tuvieron suficientes criterios para integrar el diagnóstico de enfermedad ampollosa. Los datos serán tomados del expediente del paciente.
- h) Puntaje de intensidad de enfermedades autoinmunes ampollosas de la piel (Pftuze, Niedermeier, Hertl, & Emimng, 2007): El puntaje incluye un rubro cutáneo y otro oral. Para la exploración cutánea se valorará al paciente sin ropa y para la exploración oral se usarán abatelenguas, guantes y lámpara. Puntaje total= 0-206 puntos
 - o Puntaje cutáneo: incluye extensión y tipo de lesiones. La superficie cutánea afectada se medirá según la “regla de los 9”, en la que la palma equivale a 1% de la superficie corporal total. La superficie corporal afectada según regiones se multiplicará por un factor de ajuste según el tipo de lesiones predominantes (1.5 para lesiones erosivas, exudativas, ampollas y/o signo de Nikolsky positivo; 1 para lesiones erosivas y secas; 0.5 para lesiones reepitelizadas, excluyendo eritema y/o hiperpigmentación). Puntaje total = 0-150.
 - o Puntaje oral: se divide en dos partes. La primera se obtiene tras determinar la presencia o ausencia de actividad en 11 sitios anatómicos, resultando en un puntaje de 0-11. La segunda

parte se basa en la capacidad de consumir diferentes alimentos con incremento de consistencia progresiva para producir dolor y sangrado: 1 punto si siempre hay dolor y/o sangrado, 0.5 si ocurre ocasionalmente y 0 si no hay síntomas. Puntaje = 0-11/0-45.

- i) Escala modificada de evaluación de la presentación de mucositis (Ferreti, y otros, 1990) (Woo, Sonis, & Sonis, 1990): Para la exploración oral se usarán abatelenguas, guantes y lámpara. Puntaje 0 a 6.
- j) Escala de la OMS de mucositis oral (Organización Mundial de la Salud, 1979): Para la exploración oral se usarán abatelenguas, guantes y lámpara. Puntaje 0 a 4.
- k) Escala visual análoga para el dolor por parte del paciente (Scott & Huskisson, 1976): El paciente calificará la intensidad del dolor oral marcando una "X" sobre la línea de 10 cm que va del 0 al 10. El grado de prurito se medirá como la distancia en cm del 0 a la "X".
- l) Tratamiento actual: conjunto de medicamentos usados habitualmente por el paciente (auto reportado y verificado por el expediente hospitalario).
- m) Comorbilidades: conjunto de entidades nosológicas padecidas por el paciente (auto reportado y verificado por el expediente hospitalario).
- n) Actividad del transportador ABCB1 (P-gp): porcentaje de células con eflujo de daunorrubicina a 37°C dentro de las células mononucleares de sangre periférica
- o) Dosis de corticosteroide: dosis diaria de prednisona o equivalente al momento de la inclusión al estudio (auto reportada por el paciente y verificada en el expediente hospitalario).
- p) Dosis acumulada de prednisona: dosis total de prednisona o equivalente recibida desde el inicio de la enfermedad, la información se tomará del expediente hospitalario.
- q) Remisión clínica: puntaje ABSIS de cero.

8.7 Análisis estadístico

Se realizó análisis descriptivo de las variables y las medidas de resumen fueron las siguientes: 1) variables continuas: mediana, mínimo y máximo y 2) variables categóricas: números absolutos y porcentajes.

Para las correlaciones se utilizó la prueba de Rho de Spearman. Para el análisis bivariado se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas y prueba exacta de Fisher para variables nominales y ordinales. La concordancia interobservador se valoró con el coeficiente de kappa (variables categóricas), kappa ponderado (ordinales) y coeficiente de correlación intraclass (numéricas). En análisis estadístico fue realizado con el software RStudio versión 1.1.456.

8.8 Ética

El protocolo se aprobó por el Comité de Ética e Investigación del INCMNSZ (Ref. 2162) el 10 de abril de 2017 y el 3 de enero de 2018 en el Hospital General Dr. Manuel Gea González (06-140-2017). En conformidad con la NOM-012-SSA3-2012, todos los pacientes firmaron el consentimiento informado

previo a su inclusión en el estudio. El estudio fue realizado de acuerdo a los principios de la Declaración de Helsinki.

9. Resultados

De marzo 2017 a marzo 2018 incluimos 41 pacientes con PV, 30 eran de género femenino. La edad mediana de los pacientes fue de 50 años (23 -75). Las comorbilidades más comunes fueron sobrepeso (n=19), obesidad (n=17) y dislipidemia (n=10) (ver Tabla 4).

Tabla 4. Características demográficas y comorbilidades de los pacientes

	n=41	
Edad(años), mediana (min-max)	50	(23 - 75)
Género femenino, n(%)	30	(73.2)
IMC, mediana (min-max)	28	(20.2 - 39.6)
Sobrepeso, n(%)	19	(46.3)
Obesidad, n(%)	17	(41.5)
Dislipidemia, n(%)	10	(24.4)
Hipertensión arterial sistémica, n(%)	8	(19.5)
Prediabetes, n(%)	5	(14.7)
Diabetes, n(%)	5	(14.7)
Enfermedad tiroidea	4	(9.8)
Tabaquismo		
Negativo, n(%)	22	(53.7)
Actual, n(%)	4	(9.8)
Exfumador, n(%)	15	(36.6)

La mayoría de los pacientes presentaban fenotipo mucocutáneo (n = 33). El tiempo mediano de evolución fue de 3 años (0 – 22). El puntaje mediano del ABSIS fue 1.5 (0 – 142), 14 pacientes se encontraban en remisión clínica de la enfermedad. El título mediano de anti-desmogleína 1 fue 1.2 RU/mL (0 – 298.6) y de anti-desmogleína 3 fue 154.2 RU/mL (0 – 354).

Al momento de la evaluación, 26 pacientes recibían tratamiento con prednisona a una dosis mediana de 8.8 mg/d (1.1 – 100); 24 pacientes recibían otro tratamiento inmunosupresor, en 23 casos el tratamiento era azatioprina con una dosis mediana de 75 mg (12.5 – 150); 14 pacientes aplicaban tratamiento tópico con CS. La mediana de puntaje de ABSIS fue de 1.5 (0 – 142), de escala modificada de la presentación de mucositis 0 (0 – 6), puntaje de escala de las OMS de mucositis 0 (0-3), escala visual análoga para dolor oral 0 (0-7). Catorce pacientes (34.1%) estaban en remisión clínica (ver Tabla 5).

Tabla 5. Características del pénfigo vulgar, tratamiento y biomarcadores

	n=41	
Fenotipo clínico de pénfigo vulgar		
Cutáneo, n(%)	1	(2.4)
Mucoso, n(%)	7	(17.1)
Mucocutáneo, n(%)	33	(80.5)
Tiempo de evolución de la enfermedad (años), mediana (min-max)	3	(0 - 22)
Puntaje de actividad ABSIS, mediana (min-max)	1.5	(0 - 142)
Puntaje de escala modificada de la presentación de mucositis , mediana (min-max)	0	(0 - 6)
Puntaje de escala de las OMS de mucositis , mediana (min-max)	0	(0 - 3)
Escala visual análoga para dolor oral, mediana (min - max)*	0	(0 - 7)
Pacientes en remisión clínica, n (%)	14	(34.1)
Título de anti-desmogleína 1 (RU/mL), mediana (min-max)	1.2	(0 - 298.6)
Título de anti-desmogleína 3 (RU/mL), mediana (min-max)	154.2	(0 - 354)
Dosis prednisona actual (mg/día), mediana (min -max)†	8.8	(1.1 - 100)
Dosis acumulada de prednisona (g), mediana (min -max)‡	17.8	(0.7 - 295.9)
Uso actual de otros inmunosupresores, n(%)	24	(58.5)
Dosis de azatioprina, mediana (min - max)§	75	(12.5 - 150)
Tratamiento tópico con corticosteroides, n(%)	14	(34.1)

* n= 40, el paciente 41 no pudo realizar EVA debido a gravedad

† 26/41 pacientes estaban en tratamiento con prednisona o equivalente

‡ n= 39

§ n= 23

Abreviaturas: (RU) unidades relativas

La percentila 99 de PED en controles fue de 6.7%. La mediana de PED fue de 2.7% (0.3 – 6.8.) en controles vs 5.9% (1.4 – 82) en pacientes ($p < 0.001$). El número de sujetos con PED elevado fue 1 (3.3%) en controles vs 18 (43.9%) en pacientes ($p < 0.001$) (ver Tabla 6 y Figuras 1 y 2).

Figura 1. Porcentaje de extrusión de daunorrubicina por grupo

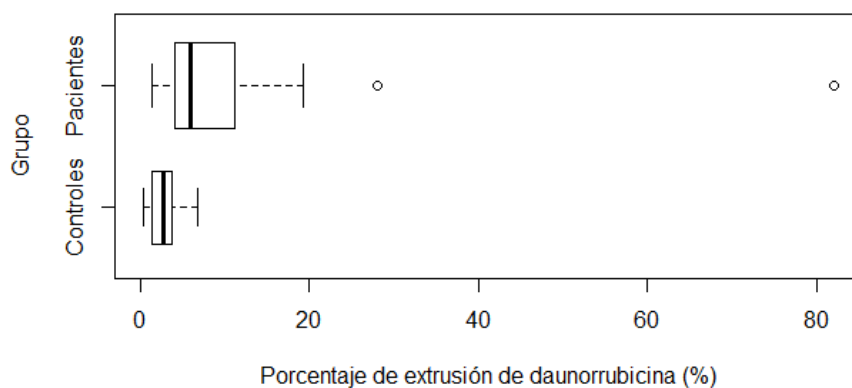


Figura 2. PED elevado según grupo

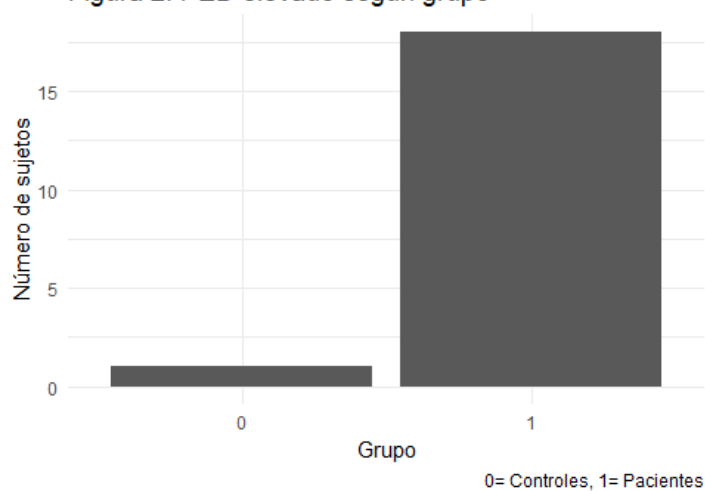


Tabla 6. Porcentaje de eflujo de daunorrubicina

	Controles n= 30	Pacientes n=41	p
Porcentaje de eflujo de daunorrubicina (%), mediana, (min - max)†	2.7 (0.3 - 6.8)	5.9 (1.4 - 82)	<0.001
Número de pacientes con porcentaje de eflujo elevado, n(%)*‡	1 (3.3)	18 (43.9)	<0.001

* Se determinó como anormal un valor \geq a la percentila 99 de los controles sanos

† U de Mann Whitney

‡ Pba De Fisher

No se encontró correlación entre el PED y la dosis actual o acumulada de CS (ver Tabla 7).

Tabla 7. Correlación entre el porcentaje de eflujo de daunorrubicina y variables asociadas a tratamiento y la enfermedad (n=41)

	Rho de Spearman	P
Tiempo de evolución de la enfermedad (años)	-0.12	0.47
Puntaje de la escala ABSIS	0.02	0.91
Puntaje de escala modificada de la presentación de mucositis	0.35	0.03*
Puntaje de escala de la OMS de mucositis	0.35	0.03*
Superficie corporal afectada	0.11	0.51
Anti-desmogleína 1	0.1	0.54
R Anti-desmogleína 3	0.1	0.63
Dosis de prednisona (mg)	0.04	0.8
Dosis acumulada de prednisona (g)	-0.14	0.38
Tiempo de uso de prednisona (días)	-0.16	0.31
Dosis de azatioprina (mg)	0.08	0.73

En el grupo de pacientes con PED elevada se observó una correlación inversa entre el PED y el tiempo de evolución ($r = -0.66$; $p = 0.003$) y el tiempo de uso de prednisona ($r = -0.47$; $p = 0.05$). El nivel de PED correlacionó con el grado de actividad oral medido por el puntaje de la escala modificada de la presentación de mucositis ($r = 0.58$; 0.01) y el puntaje de la escala de OMS de mucositis ($r = 0.57$; 0.01). El PED no correlacionó significativamente con la dosis de prednisona y el resto de los parámetros de la enfermedad (ver Tabla 8).

Tabla 8. Correlación entre el porcentaje de eflujo de daunorrubicina y variables asociadas a tratamiento y actividad de la enfermedad en pacientes con porcentaje alterado (n=18)

	Rho de Spearman	P
Tiempo de evolución de la enfermedad (años)	-0.66	0.003*
Puntaje de la escala ABSIS	0.32	0.19
Puntaje de escala modificada de la presentación de mucositis	0.58	0.01*
Puntaje de escala de las OMS de mucositis	0.57	0.01*

Superficie corporal afectada	0.33	0.18
Anti-desmogleína 1	0.17	0.5
Anti-desmogleína 3	0.27	0.27
Dosis de prednisona (mg)	0.3	0.22
Dosis acumulada de prednisona (g)	-0.37	0.14
Tiempo de uso de prednisona (días)	-0.47	0.05*
Dosis de azatioprina (mg)	0.06	0.86

No encontramos correlación entre el PED y el estatus clínico de remisión de la enfermedad (ver Tabla 9).

Tabla 9. Porcentaje de eflujo de daunorrubicina según el estatus clínico de la enfermedad

	Activos n=29		Remisión n=12		P
Eflujo de daunorrubicina (%), mediana (min-max)(RIQ)	5.8	(1.5 - 82)	6.8	(1.4 - 19.2)	0.9
Porcentaje de eflujo de daunorrubicina elevado, n (%)	12		6		0.7
Anti-desmogleína 1 (RU/mL)	1.3	(0 - 298.6)	0.25	(0 - 155.5)	0.2
Anti-desmogleína 3 (RU/mL)	154.2	(0 - 354)	147.8	(0.1 - 266.8)	0.7

Comparación de medias: U de Mann Whitney

Comparación de variables ordinales y nominales: Pba de Fisher

En el análisis bivariado no se observaron diferencias entre los pacientes con PED elevado y PED normal (ver Tabla 10).

Tabla 10. Variables de tratamiento y actividad según el porcentaje de eflujo de daunorrubicina

	PED normal n=23		PED elevado n=18		P
Edad(años), mediana (min-max)	47.5	(22.5 - 67.3)	53.5	(32.4 - 75)	0.2
Género femenino, n (5)	15	(65.2)	15	(83.3)	0.3
Peso (kg), mediana (min-max)	69.8	(48.5 - 98.6)	69.6	(44.2 - 98.5)	0.9
IMC, mediana (min-max)	28	(20.2 - 39.7)	29	(20.2 - 39)	0.4
Sobrepeso, n(%)	13	(56.5)	6	(33.3)	
Obesidad, n(%)	8	(34.8)	9	(50)	

Dislipidemia, n(%)	8	(34.8)	2	(11.1)	0.1
Hipertensión arterial sistémica, n(%)	4	(17.4)	4	(22.2)	0.7
Prediabetes, n(%)	3	(13)	2	(11.1)	0.9
Diabetes, n(%)	2	(8.7)	3	(16.6)	
Enfermedad tiroidea	2	(8.7)	2	(11.1)	1
Tabaquismo					0.8
Negativo, n (%)	12	(52.2)	10	(55.7)	
Actual, n (%)	3	(13)	1	(5.6)	
Exfumador, n (%)	8	(34.8)	7	(38.9)	
Fenotipo					0.8
Cutáneo, n (%)	1	(4.3)	0	(0)	
Mucoso, n (%)	3	(13)	4	(22.2)	
Mucocutáneo, n (%)	19	(82.6)	14	(77.8)	
Tratamiento tópico, n(%)	5	(21.7)	9	(50)	0.1
Tratamiento con prednisona, n(%)	15	(65.2)	11	(61.1)	1
Dosis prednisona actual (mg), mediana (min - max)	3.8	(0 - 60)	2.5	(0 - 100)	0.7
Dosis acumulada de prednisona (g), mediana (min -max)	21.4	(5.17 - 295.91)	16.7	(0.67 - 196.56)	0.5
Tiempo de uso de prednisona (días), mediana (min -max)	906	(199 - 7511)	804	(33 - 5721)	0.7
Uso actual de otros inmunosupresores, n(%)	13	(56.5)	11	(61.1)	1
Dosis de azatioprina, mediana (min - max)	87.5	(12.5 - 150)	50	(50 - 150)	0.9
Tiempo de evolución de la enfermedad (años), mediana (min-max)	3	(0.16 - 22)	2.7	(0.05 - 18.82)	0.8
Puntaje de actividad ABSIS, mediana (min-max)	3	(0 - 23.5)	1	(0 - 142)	0.4
Puntaje de afección cutánea	0	(0 - 6)	0	(0 - 90)	0.9
Puntaje de afección oral	0	(0 - 5)	0.5	(0 - 11)	0.5
Puntaje de malestar al comer	1	(0 - 18)	0	(0 - 41)	0.1
Puntaje de escala modificada de la presentación de mucositis	0	(0-4)	2.5	(0-6)	0.9
Puntaje de escala de las OMS de mucositis	0	(0-2)	1.5	(0-3)	0.3
Escala visual análoga para dolor oral	0	(0 - 4.6)	0	(0 - 7)	0.7
Superficie corporal afectada	0	(0 - 10.2)	0	(0 - 60)	0.9
Remisión clínica, n (%)	6	(26.1)	6	(33.3)	0.7

Anti-desmogleína 1 (RU/mL) 60 (0 - 264) 1.25 (0 - 298.6) 0.9

Los niveles de anti-desmogleína 1 correlacionaron de forma significativa con todos los parámetros de actividad, la correlación fue leve con las escalas de actividad y fuerte con el porcentaje de superficie corporal afectado. Los niveles de anti-desmogleína 3 tuvieron una correlación moderada con los puntajes de actividad oral, mientras que no correlacionaron con el resto de los parámetros medidos (ver Tabla 11).

Tabla 11. Correlación entre los títulos de anti-desmogleínas y los parámetros de actividad

	Anti-desmogleína 1		Anti-desmogleína 3	
	Rho de Spearman	P	Rho de Spearman	P
Puntaje de actividad ABSIS	0.39	0.01*	0.16	0.31
Puntaje de escala modificada de la presentación de mucositis	0.33	0.03*	0.54	<0.001*
Puntaje de escala de las OMS de mucositis	0.34	0.03*	0.49	0.001*
Escala visual análoga para dolor oral	0.33	0.04*	0.26	0.1
Superficie corporal afectada	0.69	<0.001*	0.16	0.32

La concordancia interobservadores fue fuerte para el puntaje de actividad oral ABSIS ($k = 0.74$, $p < 0.001$) y muy fuerte para el resto de las evaluaciones (ver Tabla 12).

Tabla 12. Concordancia interobservadores

	% de concordancia	k	p
Puntaje de actividad oral de ABSIS*	82.9	0.74	< 0.001*
Puntaje de escala modificada de la presentación de mucositis†	82.9	0.87	< 0.001*
Puntaje de escala de las OMS de mucositis†	87.8	0.87	< 0.001*
Puntaje de actividad cutáneo de ABSIS‡	82.9	0.97	< 0.001*

* kappa

† kappa ponderada (cuadrada)

‡ coeficiente de correlación intraclase

10. Discusión

En éste estudio transversal observamos niveles de PED significativamente mayores en pacientes que en controles, aunque no observamos correlación entre el PED y la dosis de CS, si bien observamos que los niveles de actividad de P-gp correlacionaron con enfermedad temprana (menor tiempo de evolución y tiempo de uso de CS) y actividad oral. Sólo se ha valorado el rol de la P-gp en un estudio previo (n=20) en el que no se encontró relación entre la actividad de la P-gp y la respuesta a corticosteroides; además no documentaron relación entre los niveles de mRNA de P-gp y la dosis de CS (De la Fuente, y otros, 2002). En otros estudios en enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide y púrpura trombocitopénica idiopática) se han observado resultados similares a los observados en el presente estudio (Tsujimura, Saito, Nawata, Nakayamada, & Tanaka, 2008) (Agarwal, Mittal, & Misra, 2009) (Liu, y otros, 2016) (Pascual-Ramos, y otros, 2016) (Perez-Guerrero, y otros, 2018). En otro estudio se observó que el tratamiento con CS puede aumentar la actividad de la P-gp y esto no se correlaciona con la dosis o duración del tratamiento con CS (Maillefert, y otros, 1996), aunque se estudio una población muy heterogénea.

La P-gp es muy susceptible a señales de estrés y tiene un papel en la regulación de la inmunidad, por lo anterior se ha sugerido que los mayores niveles de actividad de la P-gp pueden estar relacionados a los fenómenos inflamatorios que ocurren en la enfermedades autoinmunes y verse exacerbados con el uso de medicamentos sustratos de la bomba. Lo anterior puede aumentar la eflujo de sustratos y contribuir a la resistencia a medicamentos y a mayor actividad de la enfermedad (Tsujimura & Tanaka, Treatment strategy based on targeting P-glycoprotein on peripheral lymphocytes in patients with systemic autoimmune disease, 2012). Los niveles elevados de actividad de la P-gp pueden ser un fenómeno primario en pénfigo, lo cual podría explicar que haya correlacionado con menor de tiempo de evolución en pénfigo y a actividad oral, la cual suele ser el sitio inicial de afección y suele preceder y acompañar la actividad cutánea (Pisanti, Sharav, Kaufman, & Posner, 1974).

La P-gp se expresa en linfocitos T y B (Klimecki, Futscher, Grogan, & Dalton, 1994) y está relacionada al transporte de citocinas, particularmente IL-1 β , IL-2, IL-4 e interferón γ (Drach, y otros, 1996). Se ha demostrado que el bloqueo de la P-gp puede inhibir la secreción de citocinas proinflamatorias como la IL-4 (Drach, y otros, 1996). Algunos autores consideran que no es posible que la P-gp transporte citocinas debido a su peso molecular, aunque consideran que podrían extruir sustancias fisiológicas asociadas a las secreción de citocinas (Van de Ven, y otros, 2009). El pénfigo es una enfermedad con una respuesta inmune de predominio Th2 y la IL-4, sustrato de la P-gp, está implicada en la actividad del pénfigo (Giordano & Sinha, 2012) y la producción de anti-desmogleína 3 (Takahashi, Amagai, Nishikawa, Fujii, Kawakami, & Kuwana, 2008). Las citocinas asociadas a actividad son la IL-17a, IL-4, IL-6 e IL-10

(Giordano & Sinha, 2012), el bloqueo farmacológico con inhibidores de la P-gp, como tacrolimus o verapamil, podría disminuir los niveles de IL-4 y potencialmente contribuir en el control de la enfermedad.

Recientemente se demostró la existencia de un tipo de órganos linfoides terciarios en las lesiones de pénfigo, éstas estructuras están constituidas por linfocitos T y B y células plasmáticas. La interacción de estas células puede crear un microambiente para la producción local de autoanticuerpos. La mayoría de los linfocitos T infiltrantes eran células cooperadoras CD4+ con expresión de IL-21 e IL-17a (Yuan, y otros, 2017). Los capilares en dermis papilar expresan P-gp (Cordon-Cardo, y otros, 1989) y su actividad podría limitar la distribución de CS sistémicos a la piel y dificultar el control de la enfermedad. Debido a que la expresión de la P-gp puede ser diferente en linfocitos periféricos y en piel, es importante estudiar los niveles de expresión de P-gp en ambos tejidos en pénfigo.

En éste estudio se encontró que el PED era significativamente mayor en pacientes que en controles, aunque sólo 18/41 pacientes (43.9%) presentaron anormalidad en el PED, lo cual podría estar relacionado a variabilidad individual de la función de la bomba. Previamente se han documentado polimorfismos que pueden modificar la función de la P-gp, aunque existen resultados contradictorios en relación a su relevancia clínica (Wolking, Schaeffeler, Lerche, Schwab, & Nies, 2015). En un estudio en población mestiza mexicana con diagnóstico de epilepsia no se observó que los polimorfismos del gen ABCB1 se observó alteración significativa de la concentración de medicamentos. En el mismo estudio se incluyeron sujetos sanos y la prevalencia de polimorfismos del gen ABCB1 fue similar a la reportada previamente en sujetos con ancestría mexicana (Ortega-Vázquez, y otros, 2015).

La primera línea de tratamiento en PV son los corticosteroides sistémicos con dosis iniciales de 1-1.5 mg/kg/d de prednisona (Hertl & Geller, Initial management of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus, 2016), la cual es un sustrato de la P-gp (Gottesman & Pastan, 1993) (García-Carrasco, Mendoza-Pinto, Macias Díaz, & Vera-Recabarren, 2015) y en consecuencia a mayor actividad de la P-gp podrán disminuir las concentraciones intracelulares de los medicamentos y su acción terapéutica (Horio, Gottesman, & Pastan, 1988). Existen varios compuestos que antagonizan de forma competitiva a la P-gp, los más estudiados son los compuestos sintéticos verapamil y la ciclosporina A, aunque también tienen propiedades modulatorias productos naturales como alcaloides, cumarinas, flavonoides y terpenoides (Mollazadeh, Sahebkar, Hadizadeh, Behravan, & Arabzadeh, 2018). Al haber encontrado niveles más elevados de actividad de la P-gp (medido por porcentaje de eflujo de daunorrubicina) en pacientes con menor tiempo de evolución y al estar relacionada la P-gp con la respuesta Th-2, el uso de medicamentos que bloquean la P-gp podría contribuir a alcanzar control de la enfermedad de forma más temprana.

Las debilidades del estudio incluyen que el estudio fue transversal, la muestra no fue elegida al azar, los pacientes tenían diferentes tiempos de evolución y tratamiento de la enfermedad; y la medición de la

actividad de la P-gp fue *ex vivo*. Dentro de sus fortalezas, la inclusión de pacientes de un centro de tercer nivel y de hospital general podría evitar un sesgo de referencia.

11. Conclusiones

Nuestros hallazgos sugieren que en un subgrupo de pacientes con pénfigo, la elevación de actividad de la P-gp es un fenómeno temprano en la enfermedad que podría estar mediado por la respuesta inmune y/o en relación al inicio de tratamiento con corticosteroides que no es dosis dependiente.

El uso de medicamentos que bloquean la P-gp podría ser una diana terapéutica en pacientes con enfermedad inicial. Para comprender mejor el rol de la P-gp en pacientes con pénfigo es necesario estudiar pacientes con enfermedad incipiente y seguirlos de forma prospectiva; además de valorar la función de la P-gp en piel.

12. Recursos económicos

Propios del Departamento de Reumatología e Inmunología (IRE-1146) y donación de la Fundación Mexicana para la Dermatología, AC.

13. Referencias

- Agarwal, V., Mittal, S., & Misra, R. (2009). Expression of multidrug resistance-1 protein correlates with disease activity rather than the refractoriness to methotrexate therapy in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, 28(4), 427-33.
- Almugairen, N., Hospital, V., Bedane, C., Duvert-Lehembre, S., Picard, D., Tronquoy, A., y otros. (2013). Assessment of the rate of long-term complete remission off therapy in patients with pemphigus treated with different regimens including medium- and high-dose corticosteroids. *J Am Acad Dermatol*, 69(4), 583-8.
- Baron, J., Höller, D., Schiffer, R., Frankenberg, S., Neis, M., Merh, F., y otros. (2001). Expression of Multiple Cytochrome P450 Enzymes and Multidrug Resistance-Associated Transport Proteins in Human Skin Keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 116, 541-548.
- Bauer, B., Hartz, A., Fricker, G., & Miller, D. (2007). Tumor necrosis factor alpha and endothelin-1 increase P-glycoprotein expression and transport activity at the blood-brain barrier. *Mol Pharmacol*, 71, 118-127.
- Bolognia, J., Jorizzo, J., & Schaffer, J. (2012). *Dermatology* (Tercera ed.). Elsevier Saunders.
- Borst, P., & Oude Elferink, R. (2002). Mammalian ABC Transporters in Health and Disease. *Annu Rev Biochem*, 71, 537-92.

- Brystryn, J. (1984). Adjuvant therapy of pemphigus. *Arch Dermatol*, 120, 941-51.
- Brystryn, J., & Steinman, N. (1996). The adjuvant therapy of pemphigus—an update. *Arch Dermatol*, 132, 203-12.
- Callaghan, R., Luk, F., & Bebawy, M. (2014). Inhibition of the Multidrug Resistance P-glycoprotein: Time for a Change of Strategy? *Drug Metab Dispos*, 42, 623-631.
- Cholera, M., & Chainani-Wu, N. (2016). Management of Pemphigus vulgaris. *Adv Ther*, 33, 910-958.
- Cordon-Cardo, C., O'Brien, J., Boccia, J., Casals, D., Bertino, J., & Melamed, M. (1990). Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in normal human and tumor tissues. *J Histochem Cytochem*, 38, 1277–87.
- Cordon-Cardo, C., O'Brien, J., Casals, D., Rittman-Grauer, L., Biedler, J., Melamed, M., y otros. (1989). Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86(2), 695-8.
- De la Fuente, H., Baranda, L., Hernández, M., Tores-Álvarez, B., Llorente, L., Layseca, E., y otros. (2002). Lack of involvement of P-glycoprotein (P-gp) in pemphigus patients with poor response to steroid therapy. *J Dermatol Sci*, 28(3), 219-26.
- Díaz-Borjón, A., Richaud-Patin, Y., Alvarado de la Barrera, C., Jakez-Ocampo, J., Ruíz-Argüelles, A., & Llorente, L. (2000). Multidrug resistance-I (MDR-I) in rheumatic autoimmune disorders. Part II: Increased P-glycoprotein activity in lymphocytes from systemic lupus erythematosus patients might affect steroid requirements for disease control. *Joint Bone Spine*, 67(1), 40-48.
- Drach, J., Gsur, A., Hamilton, G., Zhao, S., Angerler, J., Fiegl, M., y otros. (1996). Involvement of P-glycoprotein in the transmembrane transport of interleukin-2 (IL-2), IL-4, and interferon-gamma in normal human T lymphocytes. *Blood*, 88(5), 1747-54.
- Farrell, R., Murphy, A., Long, A., Donnelly, S., Chirikuri, A., O'Toole, D., y otros. (2000). High multidrug resistance (P-glycoprotein 170) expression in inflammatory bowel disease patients who fail medical therapy. *Gastroenterology*, 118, 279-288.
- Ferreti, G., Raybould, T., Brown, A., Macdonald, J., Greenwood, M., Maruymana, Y., y otros. (1990). Chlorhexidine prophylaxis for chemotherapy- and radiotherapy-induced stomatitis: a randomized double-blind trial. *Oral Surg Oral Med Pathol*, 69(3), 331-8.
- Fojo, A., Ueda, K., Slamon, D., Poplack, D., Gottesman, M., & Pastan, I. (1987). Expression of a multidrug resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84, 265–9.

- Ford, J. (1995). Modulators of multidrug resistance. Preclinical studies. *Hematol oncol Clin North AM*, 9(2), 337-61.
- Gao, H., Wang, Q., Yu, X., Liu, J., Bai, S., Feng, J., y otros. (2018). Molecular mechanisms of glucocorticoid resistance in systemic lupus erythematosus: A review. *Life Science*, 209, 383-387.
- García-Carrasco, M., Mendoza-Pinto, C., Macias Díaz, S., & Vera-Recabarren, M. V. (2015). P-glycoprotein in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmunity Reviews*, 14, 594-600.
- Giordano, C., & Sinha, A. (Sep de 2012). Cytokine networks in Pemphigus vulgaris: An integrated viewpoint. *Autoimmunity*, 45(6), 427-39.
- Gottesman, M., & Pastan, I. (1993). Biochemistry of multidrug resistance mediated by multidrug transporter. *Annu Rev Biochem*, 62, 385-427.
- Hartz, A., Bauer, B., Fricker, G., & Miller, D. (2006). Rapid modulation of P-glycoprotein-mediated transport at the blood-brain barrier by tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide. *Mol Pharmacol*, 69, 462-470.
- Hashimoto, N., Nakamichi, N., Yamazaki, E., Oikawa, M., Masuo, Y., Schinkel, A., y otros. (2017). P-Glycoprotein in skin contributes to transdermal absorption of topical corticosteroids. *Int J Pharm*, 521(1-2), 365-373.
- Heaphy, M., Albrecht, J., & Werth, V. (2005). Dapsone as a glucocorticoid-sparing agent in maintenance-phase pemphigus vulgaris. *Arch Dermatol*, 141, 699-702.
- Herbst, A., & Brystryń, J. (2000). Patterns of remission in pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol*, 42, 422-7.
- Hertl, M., & Eming, R. (2017). *Uptodate*. (J. Zone, & A. Ofori, Editores) Recuperado el 15 de Enero de 2017, de Management of refractory pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: www.uptodate.com
- Hertl, M., & Geller, S. (2016). *Initial management of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus*. (J. Zone, & A. Ofori, Edits.) Recuperado el 04 de septiembre de 2016, de Uptodate: uptodate.com
- Higgins, C. (1992). ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu Rev Cell Biol*, 8, 67-113.
- Horio, H., Gottesman, M., & Pastan, I. (1988). ATP-dependent transport of vinblastine in vesicles from human multidrug-resistant cells. *Proc Natl Acad Sci*, 85, 3580-4.
- Ito, K., Nguyen, H., Kato, Y., Wakayama, T., Kubo, Y., Iseki, S., y otros. (2008). P-glycoprotein (Abcb1) is involved in absorptive drug transport in skin. *J Control Release*, 131(3), 198-204.

- Johnstone, R., Ruefli, A., & Smyth, M. (2000). Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem Sci*, 25, 1-6.
- Kappelmayer, J., Karászi, E., Telek, B., & Jakab, K. (Abril de 2002). "Pros and cons" on how to measure multidrug resistance in leukemias. *Leuk Lymphoma*, 43(4), 711-7.
- Klimecki, W., Futscher, B., Grogan, T., & Dalton, W. (1994). P-glycoprotein expression and function in circulating blood cells from normal volunteers. *Blood*, 83(9), 2451-8.
- Kneisel, A., & Hertl, M. (Oct de 2011). Autoimmune bullous skin disease. Part 1. Clinical manifestations. *J Dtsch Dermatol Ges*, 9(10), 844-56.
- Liu, J., Zhou, F., Chen, Q., Kang, A., Lu, M., Liu, W., y otros. (2015). Chronic inflammation up-regulates P-gp in peripheral mononuclear blood cells via the STAT3/Nf-kb pathway in 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis mice. *Sci Rep*, 5.
- Liu, W., Li, H., Zhang, D., Lv, M., Li, Y., Hao, Y., y otros. (2016). Effects of the multidrug resistance-1 gene on drug resistance in primary immune thrombocytopenia. *Autoimmunity*, 49(7), 486-495.
- Llorente, L., Richaud-Patin, Y., Díaz-Borjón, A., Alvarado de la Barrera, C., Jakez-Ocampo, J., de la Fuente, H., y otros. (Jan de 2000). Multidrug resistance-I (MDR-I) in rheumatic autoimmune disorders. Part I: Increased P-glycoprotein activity in lymphocytes from rheumatoid arthritis patients might influence disease outcome. *Joint Bone Spine*, 67(1), 30-9.
- Ludescher, C., Thaler, J., Drach, D., Drach, J., Spitaler, M., Gattringer, C., y otros. (1992). Detection of activity of P-glycoprotein in human tumour samples using rhodamine 123. *British Journal of Hematology*, 82, 161-168.
- Maillefert, J., Maynadie, M., Tebib, J., Aho, S., Walker, P., Chatard, C., y otros. (1996). Expression of the multidrug resistance glycoprotein 170 in the peripheral blood lymphocytes of rheumatoid arthritis patients. The percentage of lymphocytes expressing glycoprotein 170 is increased in patients treated with prednisolone. *Br J Rheumatol*, 35(5), 430-5.
- McClellan, S., & Hill, B. (1993). Evidence of post-translational regulation of P-glycoprotein associated with the expression of a distinctive multiple drug-resistant phenotype in Chinese hamster ovary cells. *Eur J Cancer*, 29A(16), 2243-8.
- Mollazadeh, S., Sahebkar, A., Hadizadeh, F., Behravan, J., & Arabzadeh, S. (2018). Structural and functional aspects of P-glycoprotein and its inhibitors. *Life Sciences*, 214, 118-123.

- Murrell, D., Dick, S., Ahmed, A., Amagai, M., Barnadas, M., Borradori, L., y otros. (2008). Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus. *J Am Acad Dermatol*, 58(6), 1043-6.
- Murrell, D., Peña, S., Joly, P., Marinovic, B., Hashimoto, T., Diaz, L., y otros. (2018). Diagnosis and Management of Pemphigus: recommendations by an International Panel of Experts. *J Am Acad Dermatol*.
- Organización Mundial de la Salud. (1979). *Handbook for reporting results of cancer treatment*. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- Ortega-Vázquez, A., Dorado, P., Fricke-Galindo, I., Jung-Cook, H., Monroy-Jaramillo, N., Martínez-Juárez, I., y otros. (2015). CYP2C9, CYP2C19, ABCB1 genetic polymorphisms and phenytoin plasma concentrations in Mexican-Mestizo patients with epilepsy. *The Pharmacogenomics Journal*, 1 -7 .
- Osman-Ponchet, H., Boulai, A., Kouidh, i. M., Sevin, K., Alriquet, M., Gaborit, A., y otros. (2014). Characterization of ABC transporters in human skin. *Drug Metabol Drug Interact*, 29(2), 91-10.
- Pascual-Ramos, V., Atisha-Fregoso, Y., Lima, G., Fragoso-Loyo, H., Jákez-Ocampo, J., Contreras-Yáñez, I., y otros. (2016). La actividad funcional de los transportadores ABCB1 (P-gp) y ABCG2 (BCRP1) en pacientes con artritis reumatoide (AR) está determinada por la actividad de la enfermedad (AE). *Gac Med Mex*, 152, 741-54.
- Perez-Guerrero, E., Gonzalez-Lopez, L., Muñoz-Valle, J., Vasquez-Jimenez, J., Ramirez-Villafañá, M., Sanchez-Rodriguez, E., y otros. (2018). Serum P-glycoprotein level: a potential biomarker of DMARD failure in patients with rheumatoid arthritis. *Inflammopharmacology*.
- Pftuze, M., Niedermeier, A., Hertl, M., & Emimng, R. (2007). Introducing a novel Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity score (ABSIS) in pemphigus. *Eur J Dermatol*, 17, 4-11.
- Picchianti-Diamanti, A., Rosado, M., Scarsella, M., Laganà, B., & D'Amelio, R. (2014). P-glycoprotein and Drug Resistance in Systemic Autoimmune Diseases. *Int J Mol Sci*, 15, 4965-4976.
- Pisanti, S., Sharav, Y., Kaufman, E., & Posner, L. (1974). Pemphigus vulgaris: incidence in Jews of different ethnic groups, according to age, sex, and initial lesion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 38(3), 382-7.
- Randolph, G., Beaulieu, S., Pope, M., Sugawara, I., Hoffman, L., Steinman, R., y otros. (1998). A physiologic function for p-glycoprotein (MDR-1) during the migration of dendritic cells from skin via afferent lymphatic vessels. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(12), 6924-9.

- Richaud-Patin, Y., Vega-Boada, F., Vidaller, A., & Llorente, L. (2004). Multidrug resistance-1 (MDR-1) in autoimmune disorders IV. P-glycoprotein overfunction in lymphocytes from myasthenia gravis patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *58*, 320-324.
- Ruiz-Soto, R., Richaud-Patin, Y., López-Karpovitch, X., & Llorente, L. (2003). Multidrug resistance-1 (MDR-1) in autoimmune disorders III: Increased P-glycoprotein activity in lymphocytes from immune thrombocytopenic purpura patients. *Experimental Hematology*, *31*, 483-4.
- Schmidt, E., Goebeler, M., Hertl, M., Sárdy, M., Sitaru, C., Eming, R., y otros. (Jul de 2015). S2k guideline for the diagnosis of pemphigus vulgaris/foveatus and bullous pemphigoid. *J Dtsch Dermatol Ges*, *13*(7), 713-27.
- Scott, J., & Huskisson, E. (Jun de 1976). Graphic representation of pain. *Pain*, *2*(2), 175-84.
- Solís-Arias, M., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rodríguez-Carreón, A., Vega-Memije, E., & Domínguez-Soto, L. (2013). Penfigoide ampuloso: casuística de 32 años. *Gaceta Médica de México*, *149*, 344-8.
- Takahashi, H., Amagai, M., Nishikawa, T., Fujii, Y., Kawakami, Y., & Kuwana, M. (2008). Novel system evaluating in vivo pathogenicity of desmoglein 3-reactive T cell clones using murine pemphigus vulgaris. *J Immunol*, *181*(2), 1526-35.
- Tirado-Sanchez, A., Ponce-Olivera, R., Montes de Oca-Sanchez, G., & Leon-Dorantes, G. (2006). Pénfigo vulgar. Estudio epidemiológico y análisis de posibles factores de riesgo de mortalidad. *Dermatología Rev Mex*, *50*, 50-53.
- Tsujimura, S., & Tanaka, Y. (2012). Treatment strategy based on targeting P-glycoprotein on peripheral lymphocytes in patients with systemic autoimmune disease. *Clin Exp Nephrol*, *16*(1), 102-8.
- Tsujimura, S., Saito, K., Nawata, M., Nakayamada, S., & Tanaka, Y. (2008). Overcoming drug resistance induced by P-glycoprotein on lymphocytes in patients with refractory rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, *67*(3), 380-8.
- Ueda, K., Cornwell, M., Gottesman, M., Pastan, I., Roninson, I., Ling, V., y otros. (Dec de 1986). The *mdr1* gene, responsible for multidrug-resistance, codes for P-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun*, *30*, 956-62.
- Van de Ven, R., Oerlemans, R., Van der Heijden, J., Scheffer, G., de Gruijl, T., Jansen, G., y otros. (November de 2009). ABC drug transporters and immunity: novel therapeutic targets in autoimmunity and cancer. *Journal of Leukocyte Biology*, *86*, 1075-87.
- Van Kalken, C., Broxterman, H., Pinedo, H., Feller, N., Dekker, H., Lankelma, J., y otros. (1993). Cortisol is transported by the multidrug resistance gene product P-glycoprotein. *Br J Cancer*, *67*, 284-289.

- Wolking, S., Schaeffeler, E., Lerche, H., Schwab, M., & Nies, A. (2015). Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature. *Clin Pharmacokinet*, 54(7), 709-35.
- Woo, S., Sonis, S., & Sonis, A. (1990). The role of herpes simplex virus in the development of oral mucositis in bone marrow transplant recipients. *Cancer*, 66(11), 2375-9.
- Yano, K., Tomono, T., & Ogihara, T. (2018). Advances in Studies of P-glycoprotein and Its Expression Regulators. *Biol Pharm Bull*, 41, 11-19.
- Yuan, H., Zhou, S., Liu, Z., Cong, W., Fei, X., Zeng, W., y otros. (2017). Pivotal Role of Lesional and Perilesional T/B Lymphocytes in Pemphigus Pathogenesis. *J Invest Dermatol*, 137(11), 2362-2370.

14. Anexos

14.1 Formato de consentimiento informado para pacientes del INNSZ

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO: Función de la glicoproteína-P en pacientes con enfermedades ampollas autoinmunes y su relación con la respuesta al tratamiento con corticoesteroides

11/10/2017 VERSIÓN 3

Investigador principal: Dr. Luis Guillermo Llorente Peters

Dirección del investigador: Departamento de Inmunología y Reumatología

Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias 24 horas): 5487 0900 ext. 2603 (Emergencias 044 55 1835 9994)

Investigadores participantes:

Dra. Alba Cicero Casarrubias

Biol. Guadalupe Arminda Lima González

Dra. Silvia Méndez Flores

Dra. Lilly Esquivel Pedraza

Dra. Judith Guadalupe Domínguez Cherit

Dra. Dra. María Teresa Hojyo Tomoka (**Hospital General Dr. Manuel Gea González**)

Instituciones participantes:

- Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) **(Centro reclutador y evaluador)**
Dirección: Av. Vasco de Quiroga No.15, Col. Belisario Domínguez Sección XVI, Tlalpan, CP 14080
- **Hospital General Dr. Manuel Gea González (HGDMGG) (Centro reclutador)**
Av. Calzada de Tlalpan No.4800, Col. Sección XVI, Tlalpan, CP 14080.

Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: 11/10/2017 VERSIÓN 3

INTRODUCCIÓN:

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto. Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y **usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarlo, antes de decidir si acepta participar**. Cualquiera que sea su decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto.

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos y beneficios a su salud al participar. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar quien usted quiera, por ejemplo un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y entendida esta información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki, y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Al final de la explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

- I. La justificación y los objetivos de la investigación.
- II. Los procedimientos que se utilizarán y su propósito, incluyendo la identificación de qué son procedimientos experimentales.
- III. Los riesgos o molestias previstos.
- IV. Los beneficios que se pueden observar.

- V. Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para usted
- VI. Garantía para recibir respuestas a las preguntas y aclarar cualquier duda sobre los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento de la materia.
- VII. La libertad que tiene de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello se afecte su atención y el tratamiento en el Instituto.
- VIII. La seguridad de que no se le va a identificar de forma particular y que se mantendrá la confidencialidad de la información relativa a su privacidad.
- IX. El compromiso del investigador de proporcionarle la información actualizada que pueda ser obtenida durante el estudio, aunque esto pudiera afectar a su disposición para continuar con su participación.
- X. La disponibilidad del tratamiento médico y compensación a que legalmente tiene derecho, en el caso de que ocurran daños causados directamente por la investigación.

Puede solicitar más tiempo o llevar a casa este formulario antes de tomar una decisión final en los días futuros.

INVITACION A PARTICIPAR COMO SUJETO DE INVESTIGACION Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Estimado(a) Sr(a). _____

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), a través del grupo de investigación, le invitan a participar como sujeto de investigación en este estudio que tiene como objetivo: Determinar el nivel de actividad de la glicoproteína-P (que es una molécula que podría asociarse a la falta o poca respuesta a medicamentos que se utilizan comúnmente en la enfermedad que usted tiene (pénfigo).

La duración total del estudio es: 18 meses.

Su participación en el estudio tendrá una duración de: 1 día.

El número aproximado de participantes será: 40 pacientes con diagnósticos de pénfigo

Usted fue invitado al estudio debido a que tiene las siguientes características:

- a) Edad mayor a 18 años
- b) Sexo indistinto
- c) Diagnóstico de una enfermedad que condicionan formación de ampollas que se denominan pénfigo

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Procedimientos del estudio:

Su participación en el estudio consiste en una revisión dermatológica (10 minutos) y de boca (1 minuto) por dos médicos, toma de fotografías de solamente las lesiones en boca y piel afectada sin que se vea su cara completa con el objetivo de tener un control de su enfermedad (2 minutos) y toma de una muestra de sangre de 10 ml. Todo lo anterior, será realizado el día de su consulta programado en Dermatología o Dermatología Boca. Los horarios de visitas serán de 8 a 14 hrs de martes a viernes. La duración total de la revisión será de 30 minutos.

Los procedimientos del estudio incluyen la toma de una muestra de sangre de 10 ml para determinación de la función de la glicoproteína P (que es una molécula que podría estar asociada a la falta de respuesta a los tratamiento que toma para su enfermedad), así como la medición de unas moléculas que se denominan anticuerpos y que son los causantes de su enfermedad (anti-desmogleína 1 y 3 o anti-BPA180 o 230).

Las responsabilidades de los participantes incluyen: ninguna

RIESGOS E INCONVENIENTES

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

Existe riesgo nulo o mínimo originado durante la exploración bucal o cutánea.

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por tanto, en la recolección de datos clínicos usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de las muestras y de su información.

BENEFICIOS POTENCIALES

Este estudio no está diseñado para beneficiarle directamente. Sin embargo, la búsqueda de mecanismos relacionados a la respuesta al tratamiento en pacientes con pénfigo podría permitir desarrollar nuevos blancos terapéuticos y con esto hacer un tratamiento más personalizado de esta enfermedad. Además, gracias a su participación altruista, su comunidad se puede beneficiar

significativamente al encontrar nuevas formas de atender esta complicación médica.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno. La participación en el estudio no generará ningún gasto económico al paciente. No se contemplan estímulos o compensaciones por dicha participación.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:

Su participación es voluntaria. Por lo que usted puede elegir no participar en el estudio. Sin embargo, usted puede elegir no participar en el estudio, sin que esto altere su consulta o modifique su atención.

ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio a la Dra. Silvia Méndez Flores del INCMNSZ (tel. 5487 0900 ext. 2435). La investigación es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Recuerde que su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, tanto su relación habitual con el INCMNSZ, como su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho no se verán afectados. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el INCMNSZ. Se le informará a tiempo si se obtiene nueva información que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento, sin perjudicar su atención en el INCMNSZ.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN

Su nombre no será usado en ninguno de los reporte públicos del estudio y se protegerá su identidad en caso de uso de las fotografías clínicas. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y serán codificadas con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal, las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas, así como su información médica y/o genética, puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto, y estos estudios deberán ser sometidos a

aprobación por un Comité de Ética.

Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por 5 años.

Los códigos que identifican su muestra estarán sólo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por Ley a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Sólo los investigadores tendrán acceso a ellos. El personal del estudio (monitores o auditores) podrá tener acceso a la información de los participantes.

Las fotografías tomadas sólo incluirán áreas de piel con lesiones, no se incluirá la cara completa. Los archivos fotográficos serán codificados con un número de serie que no contendrá información personal. Sólo tendrán acceso a ellas los investigadores.

Si bien existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio, su confidencialidad será protegida como lo marca la ley, asignando códigos a su información. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre. Si así lo desea, usted deberá contactar a la Dra. Silvia Méndez Flores y expresar su decisión por escrito.

El Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ aprobó la realización de este estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con el Comité de Ética en Investigación para decidir la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice contactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

En caso de que usted sufra un daño relacionado al estudio, por favor póngase en contacto con la Dra. Silvia Méndez Flores en el INCMNSZ (teléfono: 54 87 09 00 ext 2435).

Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con la Dra. Silvia Méndez Flores en el INCMNSZ (teléfono: 54 87 09 00 ext 2435).

Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el Presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ Dr. Arturo Galindo Fraga, teléfono: 54870900 ext. 6101).

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas de suero y plasma para ser utilizadas en este estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas:

	SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
a. ¿Ha leído y entendido el formato de consentimiento informado, en su lengua materna?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- | | SÍ
(marque
por
favor) | NO
(marque
por
favor) |
|---|--|--|
| e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| f. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| g. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| h. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento para sus registros personales? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Declaración del **paciente:** Yo, _____ declaro que es mi decisión participar como sujeto de investigación clínica en el estudio. Mi participación es voluntaria.

Se me ha informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica ni en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en este estudio. También puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si así los solicito.

Si tengo preguntas sobre el estudio, puedo ponerme en contacto con la Dra. Silvia Méndez Flores, tel. 54 87 09 00 ext 2435.

He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Tengo claro que en caso de tener preguntas sobre mis derechos como sujeto de investigación clínica en este estudio, problemas, preocupaciones o dudas, y deseo obtener información adicional, o bien, hacer comentarios sobre el desarrollo del estudio, tengo la libertad de hablar con el presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo Fraga, tel: 54870900. ext. 6101).

Nombre del / de la Participante

Firma del / de la Participante

Fecha

Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir

Nombre del representante legal (si aplica)

Firma del representante legal

Fecha

Nombre del Investigador
que explicó el documento

Firma del Investigador

Fecha

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo 1

Fecha

Relación con el participante:

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo 2

Fecha

Relación con el participante:

Dirección: _____

Lugar y Fecha: _____

(El presente documento es original y consta de 7 páginas)

14.2 Formato de consentimiento informado para pacientes del HGDMGG

Secretaría de Salud. Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

2° versión 17/01/18

De acuerdo con las disposiciones contenidas en la Ley General de Salud, Título Quinto "Investigación para la Salud", Capítulo Único, artículo 100, fracción IV; así como del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título Segundo "De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos" Capítulo I, Disposiciones Comunes, artículo 13 que señala que en toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, artículos 14 fracción V, 20, 21 y 22 de dicho Reglamento; y, de conformidad con los principios éticos contenidos en la Declaración de Helsinki, se me ha explicado e informado que:

- I. Soy una persona con diagnóstico de pénfigo. Se me explicó que el pénfigo es una enfermedad inflamatoria de la piel en donde aparecen ampollas de diferentes tamaños y formas, consecuencia del ataque del sistema de defensas en la piel y que son tratadas con medicamentos como la prednisona. Se me explicó que el motivo del estudio al que me invitan a participar es conocer la relación que tiene un marcador en las células de defensa (glicoproteína P) en la respuesta al tratamiento con prednisona en mi enfermedad de la piel.
- II. Se me explicaron los procedimientos que se realizarán: me citarán en el sexto piso de la Unidad del Paciente Ambulatorio (UPA) del Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Médicas Salvador Zubirán, donde se me realizará una evaluación de la piel y boca buscando lesiones de pénfigo (ampollas, erosiones, costras, manchas y/o cicatrices), se me preguntarán los medicamentos y dosis que tomo, si tengo molestias en la boca, me medirán y pesaran sin ropa, usando una bata. Sólo en caso de tener lesiones de pénfigo se tomarán fotografías de las lesiones, aunque no se fotografiará mi cara completa. La Dra. Alba Cicero Casarrubias me tomará una muestra de sangre de aproximadamente

10 ml de sangre (dos tubos de 5 ml) de una de las venas de mis brazos y será analizada en el laboratorio del Instituto sin algún costo para mí.

- III. Se me explicó que la toma de sangre puede generar en el peor escenario dolor al momento de introducir la aguja, moretones, sangrados e infección. En el caso que esto suceda, se resolverá con las indicaciones del médico en término de una o 2 semanas. Se me aseguró que el resto de mi sangre que no se use, será desechado según las normas del laboratorio clínico establecidas por el hospital. Se me explico que estas pruebas son rápidas y la incomodidad al tomar la muestra de sangre es mínima.
- IV. Los resultados de éste estudio pueden ayudar a determinar un mejor tratamiento para mi enfermedad. Entiendo que los resultados de este estudio pueden no modificar directamente la decisión de medicamento por la que optará mi médico para mi control a largo plazo
- V. Mi participación es voluntaria, por lo que puedo elegir no participar en el estudio, sin que esto altere mi consulta o modifique la atención que recibo en el Hospital.
- VI. Se me aseguró que puedo preguntar hasta mi complacencia todo lo relacionado con el estudio y mi participación hasta que se resuelvan todas mis dudas respecto a la enfermedad de pénfigo y los procedimientos del presente estudio, así como los potenciales efectos adversos y benéficos del estudio.
- VII. Se me aclaró que tengo la libertad de abandonar o retirar mi consentimiento a participar en el presente protocolo en cualquier momento que yo lo decida. Se me indicó avisar al investigador a cargo en el Servicio de Dermatología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” si llego a tomar esta decisión. Se me aclaró que al tomar esta decisión tendré el mismo derecho a solicitar (en caso de requerirlo) atención por parte del servicio de Dermatología como cualquier otro paciente del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.
- VIII. Autorizo la publicación científica de los datos obtenidos en los medios que el investigador responsable del servicio de Dermatología decida. Se me asegura que los datos relacionados a mi identidad y mi privacidad se mantendrán confidenciales y no serán publicados.
- IX. En caso de que se presenten efectos negativos que ameriten la suspensión del estudio, se me informará oportunamente.
- X. Las muestras de sangre y revisión serán realizadas Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Médicas Salvador Zubirán por la Dra. Alba Cicero Casarrubias, aunque en caso de que se presenten efectos adversos o algún problema de salud no inmediato como consecuencia de la toma de muestra de sangre, se me informó que estos serán resueltos por el investigador a cargo de la División de Dermatología (Dra. Lorena Lammoglia Ordiales) y por el Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.
- XI. Se me informó que el costo del estudio de la muestra de sangre que se realizará y la evaluación dermatológica será cubierto por completo por los investigadores a cargo del Servicio de Inmunología y Reumatología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Con fecha _____, habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas que surgieron con respecto a mi participación en el proyecto, yo _____ con número de expediente _____ acepto participar en el estudio titulado: Función de la glicoproteína-P en pacientes con enfermedades ampollas autoinmunes y su relación con la respuesta al tratamiento con corticosteroides

_____ .

Nombre y firma del paciente o responsable legal

_____ .

Nombre, y firma del testigo 1

_____ .

Nombre, y firma del testigo 2

Dirección

_____ .

Dirección

Relación que guarda con el sujeto

_____ .

Relación que guarda con el sujeto

Nombre y firma del Investigador Principal
consentimiento informado

Nombre y firma de quien aplica el

Este documento se extiende por triplicado, quedando un ejemplar en poder del sujeto de investigación o de su representante legal y el otro en poder del investigador, así mismo es obligatorio integrar al expediente clínico una copia del mismo, anexando una nota donde se especifique que el sujeto de estudio está participando en el protocolo (señalando título y número de registro y nombre del investigador responsable). Queda entendido que la Dirección de Investigación, o los Comités podrán requerir este documento en cuanto lo consideren necesario. Este documento deberá ser conservado por el investigador responsable durante un mínimo de 5 años.

Para preguntas o comentarios comunicarse con la Dr. José Pablo Maravilla Campillo (01 55) 4000-3000 Ext 3217 Presidente del Comité de Investigación o con el Dr. Samuel Weingerz Mehl, Presidente del Comité de Ética en Investigación al (01 55) 4000-000 Ext-3032.

2° Versión 17/01/2018

14.3 Formato de consentimiento informado para voluntarios sanos

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO: Función de la glicoproteína-P en pacientes con enfermedades ampollosas autoinmunes y su relación con la respuesta al tratamiento con corticoesteroides

11/10/2017 VERSIÓN 3

Investigador principal: Dr. Luis Guillermo Llorente Peters

Dirección del investigador: Departamento de Inmunología y Reumatología

Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias 24 horas): 5487 0900 ext. 2603 (Emergencias 044 55 1835 9994)

Investigadores participantes:

Dra. Alba Cicero Casarrubias

Biol. Guadalupe Arminda Lima González

Dra. Silvia Méndez Flores

Dra. Lilly Esquivel Pedraza

Dra. Judith Guadalupe Domínguez Cherit

Dra. Dra. María Teresa Hojyo Tomoka (**Hospital General Dr. Manuel Gea González**)

Instituciones participantes:

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) (**Centro reclutador y evaluador**)

Dirección: Av. Vasco de Quiroga No.15, Col. Belisario Domínguez Sección XVI, Tlalpan, CP 14080

Hospital General Dr. Manuel Gea González (HGDMGG) (Centro reclutador)

Av. Calzada de Tlalpan No.4800, Col. Sección XVI, Tlalpan, CP 14080.

Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: 11/10/2017 VERSIÓN 3

INTRODUCCIÓN:

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto. Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y **usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarlo, antes de decidir si acepta participar**. Cualquiera que sea su decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto.

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos y beneficios a su salud al participar. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar quien usted quiera, por ejemplo un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y

entendida esta información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki, y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Al final de la explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

La justificación y los objetivos de la investigación.

Los procedimientos que se utilizarán y su propósito, incluyendo la identificación de qué son procedimientos experimentales.

Los riesgos o molestias previstos.

Los beneficios que se pueden observar.

Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para usted

Garantía para recibir respuestas a las preguntas y aclarar cualquier duda sobre los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento de la materia.

La libertad que tiene de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello se afecte su atención y el tratamiento en el Instituto.

La seguridad de que no se le va a identificar de forma particular y que se mantendrá la confidencialidad de la información relativa a su privacidad.

El compromiso del investigador de proporcionarle la información actualizada que pueda ser obtenida durante el estudio, aunque esto pudiera afectar a su disposición para continuar con su participación.

La disponibilidad del tratamiento médico y compensación a que legalmente tiene derecho, en el caso de que ocurran daños causados directamente por la investigación.

Puede solicitar más tiempo o llevar a casa este formulario antes de tomar una decisión final en los días futuros.

INVITACION A PARTICIPAR COMO SUJETO DE INVESTIGACION Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Estimado(a) Sr(a). _____

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), a través del grupo de investigación, le invitan a participar como sujeto de investigación en este estudio que tiene como objetivo: Determinar el nivel de actividad de la glicoproteína-P (que es una molécula que podría asociarse a la falta o poca respuesta a medicamentos que se utilizan comúnmente en la enfermedad ampollosa en estudio (pénfigo).

La duración total del estudio es: 18 meses.

Su participación en el estudio tendrá una duración de: 1 día.

El número aproximado de participantes será: 40 pacientes con diagnósticos de pénfigo y 25 voluntarios sanos

Usted fue invitado al estudio debido a que tiene las siguientes características:

- Edad mayor a 18 años
- Sexo indistinto
- Sano
- No toma medicamentos

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Procedimientos del estudio:

Su participación en el estudio consiste en la toma de una muestra de sangre de 5 ml, la muestra será tomada en el sexto piso de la Unidad del Paciente Ambulatorio en un día previamente acordado. Los horarios de visitas serán de 8 a 14 hrs de martes a jueves. La duración total del procedimiento será de 5 minutos.

Los procedimientos del estudio incluyen la toma de una muestra de sangre de 5 ml para determinación de la función de la glicoproteína P (que es una molécula que podría estar asociada a la falta de respuesta a los tratamientos usados en la enfermedad pénfigo).

Las responsabilidades de los participantes incluyen: ninguna.

RIESGOS E INCONVENIENTES

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

Existe riesgo nulo o mínimo originado durante la exploración bucal o cutánea.

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por tanto, en la recolección de datos clínicos usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de las muestras y de su información.

BENEFICIOS POTENCIALES

Este estudio no está diseñado para beneficiarle directamente. Sin embargo, la búsqueda de mecanismos relacionados a la respuesta al tratamiento en pacientes con pénfigo podría permitir desarrollar nuevos blancos terapéuticos y con esto hacer un tratamiento más personalizado de ésta enfermedad. Además, gracias a su participación altruista, su comunidad se puede beneficiar significativamente al encontrar nuevas formas de atender esta enfermedad.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno. La participación en el estudio no generará ningún gasto económico al paciente. No se contemplan estímulos o compensaciones por dicha participación.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:

Su participación es voluntaria. Por lo que usted puede elegir no participar en el estudio. Sin embargo, usted puede elegir no participar en el estudio, sin que esto altere su consulta o modifique su atención.

ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio a la Dra. Silvia Méndez Flores del INCMNSZ (tel. 5487 0900 ext. 2435). La investigación es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Recuerde que su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, tanto su relación habitual con el INCMNSZ, como su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho no se verán afectados. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el INCMNSZ. Se le informará a tiempo si se obtiene nueva información que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento, sin perjudicar su atención en el INCMNSZ.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN

Su nombre no será usado en ninguno de los reporte públicos del estudio y se protegerá su identidad en caso de uso de las fotografías clínicas. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y serán codificadas con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal, las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas, así como su información médica y/o genética, puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto, y estos estudios deberán ser sometidos a aprobación por un Comité de Ética.

Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por 5 años.

Los códigos que identifican su muestra estarán sólo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por Ley a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Sólo los investigadores tendrán acceso a ellos. El personal del estudio (monitores o auditores) podrá tener acceso a la información de los participantes.

Si bien existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio, su confidencialidad será protegida como lo marca la ley, asignando códigos a su información. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre. Si así lo desea, usted deberá contactar a la Dra. Silvia Méndez Flores y expresar su decisión por escrito.

El Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ aprobó la realización de este estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con el Comité de Ética en Investigación para decidir la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice contactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

En caso de que usted sufra un daño relacionado al estudio, por favor póngase en contacto con la Dra. Silvia Méndez Flores en el INCMNSZ (teléfono: 54 87 09 00 ext 2435).

Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con la Dra. Silvia Méndez Flores en el INCMNSZ (teléfono: 54 87 09 00 ext 2435).

Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el Presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ Dr. Arturo Galindo Fraga, teléfono: 54870900 ext. 6101).

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción. Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas de suero y plasma para ser utilizadas en este estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas:

	SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
a. ¿Ha leído y entendido el formato de consentimiento informado, en su lengua materna?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento para sus registros personales?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Declaración del **paciente:** Yo, _____ declaro que es mi decisión participar como sujeto de investigación clínica en el estudio. Mi participación es voluntaria.

Se me ha informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica ni en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en este estudio. También puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si así los solicito.

Si tengo preguntas sobre el estudio, puedo ponerme en contacto con la Dra. Silvia Méndez Flores, tel. 54 87 09 00 ext 2435.

He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Tengo claro que en caso de tener preguntas sobre mis derechos como sujeto de investigación clínica en este estudio, problemas, preocupaciones o dudas, y deseo obtener información adicional, o bien, hacer comentarios sobre el desarrollo del estudio, tengo la libertad de hablar con el presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo Fraga, tel: 54870900. ext. 6101).

Nombre del / de la Participante

Firma del / de la Participante

Fecha

Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir

Nombre del representante legal (si aplica)

Firma del representante legal

Fecha

Nombre del Investigador
que explicó el documento

Firma del Investigador

Fecha

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo 1

Fecha Relación con el participante:

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo 2

Fecha Relación con el participante:

Dirección: _____

Lugar y Fecha: _____

(El presente documento es original y consta de 7 páginas)

14.4 Puntaje de intensidad de enfermedades autoinmunes ampollas de la piel (ABSIS)

Fecha:	Factor de ajuste para apariencia predominante de las lesiones		
Peso (kg):	1.5	Lesiones erosivas, exudativas	
	1	Lesiones erosivas, secas	
	0.5	Lesiones reepitelizadas	
Afección cutánea [área superficie corporal (SC) máxima]	ASC del paciente	Factor de ajuste	
Cabeza y cuello (9%)			
Brazo derecho incluyendo mano (9%)			
Brazo izquierdo incluyendo mano (9%)			
Tronco (anterior y posterior) (36%)			
Pierna derecha (18%)			
Pierna izquierda (18%)			
Genitales (1%)			
Puntaje total de afección cutánea= %ASC x factor de ajuste= (0-150 puntos)			
Afección oral			
I. Extensión (1 presencia de lesiones, 0 ausencia de cualquier lesión)			
Gingival superior		Lengua	

Gingival inferior		Piso de la boca	
Labial superior		Paladar duro	
Labial inferior		Paladar blando	
Bucal izquierda		Faringe	
Bucal derecha			
Puntaje total (0-11)			
II. Gravedad (malestar al comer/beber)			
Comida	Nivel	Factor de malestar	Puntaje de gravedad
Agua	1		
Sopa	2		
Yoghurt	3		
Flan/gelatina	4		
Puré/huevos revueltos	5		
Pescado horneado	6		
Pan blanco	7		
Manzana/zanahoria cruda	8		
Carne frita/pan integral	9		
Puntaje de gravedad= nivel multiplicado por el factor de malestar= 0-45 puntos			
		Factor de malestar	
		1	Siempre dolor/sangrado
		0.5	Algunas veces dolor/sangrado
		0	Nunca con problemas
Puntaje total (0-206)			

14.5 Escala modificada de evaluación de la presentación de mucositis

0	Ausencia de mucositis
1	Eritema
2	Placa blanca o pseudomembrana
3	1-2 úlceras <1 cm
4	>2 úlceras <1 cm
5	1-2 úlceras >1 cm
6	Múltiples úlceras >1 cm

14.6 Escala de la OMS de mucositis oral

0	Sin evidencia subjetiva u objetiva de mucositis
1	Dolor oral con o sin eritema, sin úlceras
2	Eritema y ulceración: puede tragar sólidos
3	Eritema y ulceración: no puede tragar sólidos
4	Eritema y ulceración: no puede alimentarse