



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

EFFECTO DEL TRATAMIENTO DEL EXTRACTO
DIALIZABLE DE LEUCOCITOS HUMANOS EN
PACIENTES CON DERMATITIS ATÓPICA.
CORRELACIÓN CLÍNICA -INMUNOLÓGICA.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

DERMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA

Dra. Ixchel Rocio Ramírez Ricarte

TUTORES DE TESIS

Dra. Mirna Eréndira Toledo Bahena
Dra. Erika Ramírez Cortés

TUTORES EXTERNOS

Dra. Sonia Mayra Pérez Tapia
Dra. María C. Jiménez Martínez

MEXICO, D.F, Febrero del 2014.





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).

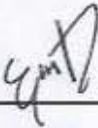
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

Dra. Rebeca Gómez Chico Velasco
Director de Enseñanza y desarrollo académico
Hospital Infantil de México Federico Gómez

TUTORES DE TESIS



Dra. Mirna Eréndira Toledo Bahena
Médico Adscrito Servicio de Dermatología Pediátrica
Hospital Infantil de México Federico Gómez



Dra. Erika Ramírez Cortés
Dermatóloga Peditra
Egresada del Hospital Infantil de México Federico Gómez

TUTORES EXTERNOS



Dra. Sonia Mayra Pérez Tapia
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN



Dra. María C. Jiménez Martínez
Lab. Inmunología, Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina, UNAM

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Este trabajo fue dirigido por la Dra. Mirna Toledo del Servicio de Dermatología Pediátrica del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”; por la Dra. Sonia Mayra Pérez Tapia de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas y por la Dra. María C. Jiménez Martínez del Laboratorio de Inmunología, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina UNAM.

La realización de este trabajo fue apoyada por el Proyecto Factor de Transferencia (PFT) y coordinada por personal de la Unidad de Servicios Externos e Investigación Clínica (USEIC) del PFT.



AGRADECIMIENTOS

A la Dra. María C. Jiménez Martínez por su dedicación, apoyo y paciencia porque sin su ayuda no hubiera sido posible este trabajo.

A la Dra. Mirna Toledo y Erika Ramírez por la confianza que me dieron para poder realizar este trabajo.

Dra. Sonia Mayra Pérez Tapia por su entrega que brinda a la investigación en nuestro país.

Al Dr. Carlos Mena y Dra. Adriana Valencia porque día con día me hacen crecer en mi preparación como dermatóloga pediatra.

A mis compañeros del servicio de dermatología porque con este proyecto logramos trabajar en equipo, al mismo tiempo que juntos aprendimos a ser tolerantes.

DEDICATORIA

A mis papás por su apoyo y comprensión durante todos estos años de estudio así como por el inmenso amor que me han dado.

A mi hermana por compartir conmigo momentos inolvidables tanto de felicidad como de dificultades, ya que pudimos crecer juntas.

A las personas que me quieren y que me tienen confianza, por estar a mi lado y por el apoyo incondicional que me han brindado todos estos años.

A todos esos niños que han sido mi impulso para continuar con mi aprendizaje.

Gracias a ti por compartir esta vida conmigo.

**... No sabrás todo lo que valgo
hasta que pueda compartir contigo
todo lo que soy.**

INDICE

	Páginas
Antecedentes	9
Marco teórico.....	16
Planteamiento del problema.....	18
Pregunta de investigación.....	18
Justificación.....	18
Hipótesis.....	19
Objetivos.....	19
Metodología.....	20
Descripción de variables.....	23
Plan de análisis estadístico.....	26
Consideraciones éticas.....	26
Resultados del estudio.....	27
Discusión.....	38
Conclusiones.....	41
Cronograma.....	42
Limitación del estudio.....	42
Referencias.....	43
Anexos.....	48

ANTECEDENTES

La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad inflamatoria crónica recidivante de la piel, asociada frecuentemente con antecedentes alérgicos. La DA es una enfermedad cutánea frecuente, extendida por todo el mundo, que puede presentarse a cualquier edad. Sin embargo, el 70-95% se produce en la edad pediátrica. ⁽¹⁾ En nuestro país es la primera causa de consulta en el primer nivel de atención. ⁽²⁾

Existen tres estadios clásicos de la enfermedad: periodo de lactancia, infancia y edad adulta. La inflamación aguda con exudación se produce con frecuencia en lactantes y se distribuye preferentemente a nivel facial y en las zonas de extensión. Con la edad aumenta la prevalencia de la inflamación crónica con liquenificación, descamación, con localización en las zonas flexoras. ^(3,4)

Historia

Atopia proviene de la palabra griega *atopos*, que significa extraño o inusual. En 1982, Besnier fue el primero en describir la asociación entre la dermatitis atópica, rinitis y asma alérgicos. ⁽⁵⁾ Unas décadas más tarde, Perry acuñó el término atopia, como lo habían hecho Coca y Cooke, para describir la tríada de eccema atópico,

rinitis alérgica y asma. Hanifin y Rajka propusieron una serie de características en los ochenta unificando el concepto clínico de dermatitis atópica. ^(6,7)

En 1994, el Partido Laborista del Reino Unido redefinió las características de Hanifin y Rajka en una serie de criterios diagnósticos validados en ensayos clínicos útiles para los estudios epidemiológicos. ^(6,7)

Patogenia

Se ha propuesto que la dermatitis atópica se produce por una interacción de factores ambientales y genéticos, muchos han especulado sobre el hecho de que los factores ambientales sean los responsables del aumento de la prevalencia de la dermatitis atópica. ⁽⁸⁾

En los últimos diez años ha habido un interés creciente en las investigaciones por el papel potencial que desempeñaban otros factores ambientales, como las infecciones precoces, la exposición temprana a alérgenos, la contaminación doméstica y la dieta. ⁽⁹⁾

Genética

Se han descrito diversas asociaciones genéticas en el desarrollo de DA. Por ejemplo, el cromosoma 5q31 contiene la familia agrupada de genes de IL-4, que incluye múltiples citocinas relacionadas con los linfocitos Th2 como la IL-4, IL-5 e IL-13. Dado que la IL-4 es imprescindible en la inducción de la síntesis de IgE por

los linfocitos B, se ha sugerido que los polimorfismos del cromosomas 5q31 están ligados a los genes que controlan la IgE sérica total en personas atópicas. ⁽⁸⁾

Otro posible gen candidato se encuentra en el cromosoma 11q13, es el receptor de alta afinidad para IgE, que puede desempeñar un papel en la captación de alergenios dependientes de IgE. Si se tienen en cuenta estos datos, se sugiere una base poligénica con expresión variable. Hasta la fecha, no se ha encontrado un único gen como marcador exclusivo de la DA. ⁽¹⁰⁾

Otra proteína relevante en el desarrollo de la DA es la filagrina, que esta involucrada en la función de la barrera epitelial. ⁽¹¹⁾ (Figura 1)

Anomalías clínicas asociadas con cambios inmunológicos

Los alergenios implicados con más frecuencia son los ácaros de polvo, pólenes, epitelios de animales y hongos. Las alergias alimentarias se producen sobre todo en lactantes y niños con DA de moderada a grave. Los alimentos que de manera más común ocasionan estas alergias son la leche de vaca, los huevos, los cacahuates y la soya.

Los microorganismos en especial el *Staphylococcus aureus*, colonizan alrededor del 90% de las lesiones cutáneas en la DA. Las proteínas, los carbohidratos y los glucolípidos de estos microbios pueden actuar como antígenos extraños presentados junto con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II y clase I y sus exotoxinas pueden funcionar también como

superantígenos que exacerban la dermatitis. La aparición de autoinmunidad IgE en la DA puede asociarse con la actividad de la enfermedad. ⁽¹²⁾

Por el contrario, los pacientes con DA son propensos a infecciones víricas (herpes, molusco contagioso y verrugas) y fúngicas superficiales, en especial aquéllos con niveles elevados de IgE. Esto puede relacionarse con una alteración en la hipersensibilidad retardada, lo que apoya el hecho de que los pacientes con DA tienen con menor frecuencia dermatitis de contacto que las personas no atópicas. ⁽¹³⁾

Inmunopatología

La expresión de citocinas cutáneas en las lesiones de la DA ha demostrado ser un espejo de los procesos inmunopatológicos subyacentes. Las poblaciones de linfocitos T pueden dividirse en tipo I, con predominio de IFN γ e IL-2, y tipo II con predominio de IL-4, 5, 10. La IL-10 actúa como inmunorregulador clave en la diferenciación y la función celular. En las fases tardía y crónica, el perfil de producción de citocinas evoluciona hacia un predominio de INF γ y sobre IL4. ^(1,10)
(Figura 1)

Dworzak, et al. describieron en pacientes con dermatitis atópica, incremento en células que expresan CLA (Cutaneous Lymphocyte Antigen, por sus siglas en inglés) en superficie, sugiriendo que las células CLA+ son patogénicas, ya que dirigen la migración e inflamación de linfocitos a piel. ⁽¹⁴⁾

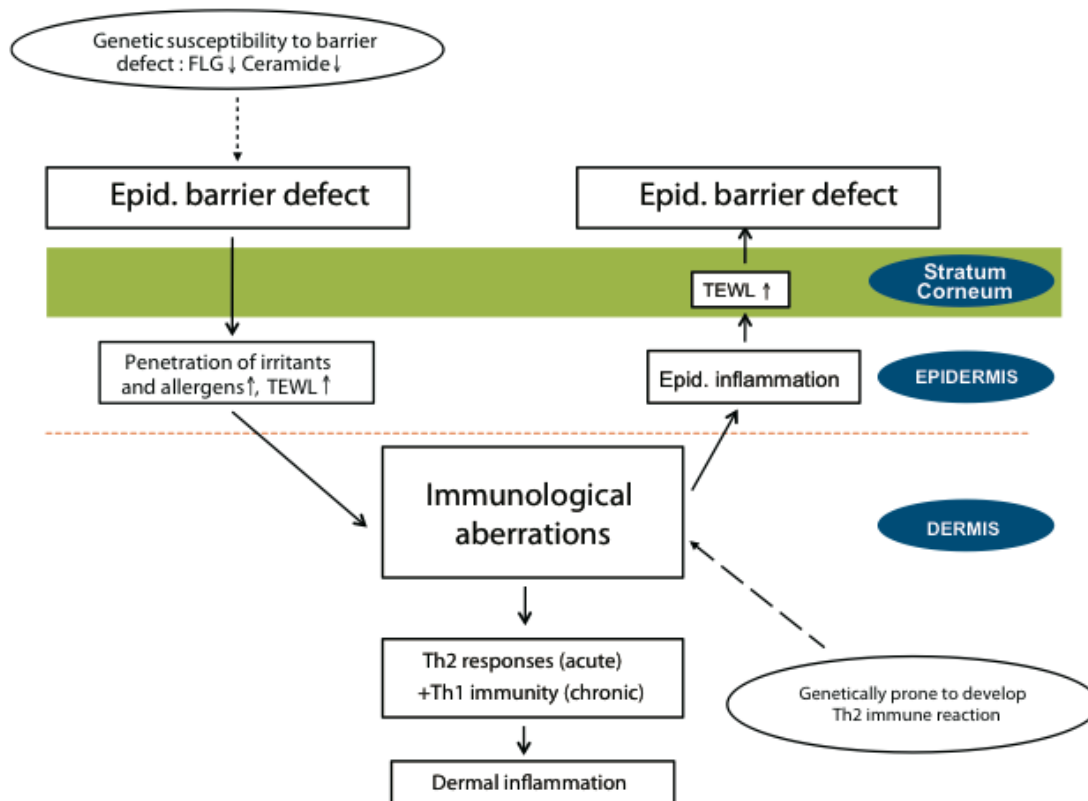


Figura 1. Patogenia de la dermatitis atópica. Se muestra la interacción de los cambios genéticos, las alteraciones en la barrera epitelial y los cambios inmunológicos que contribuyen al desarrollo de la dermatitis atópica. ⁽¹⁵⁾ (Tomado de: KH Kim. Overview of atopic dermatitis. Asia Pac Allergy 2013;3:79-87).

Tratamiento

Los objetivos del tratamiento en la DA están dirigidos a mejorar la calidad de vida del paciente y se basan en aliviar signos y síntomas, prevenir o reducir las recurrencias y prevenir las exacerbaciones a largo plazo. Para lograr estos

objetivos debemos tener en cuenta el cuidado de la piel, la identificación y eliminación de factores desencadenantes, la educación del paciente y el tratamiento específico en las exacerbaciones.

Tratamiento tópico

a) Emolientes: son la base primordial para mantener una adecuada lubricación. Inmediatamente después del baño se recomienda hidratar la piel con humectantes y/o emolientes. El uso de emolientes es considerado la estrategia de primera línea en el manejo de la DA. La hidratación debe ser repetida tan a menudo como sea necesario, preferentemente con cremas o emulsiones que contengan lípidos, como ceramidas y ácidos grasos esenciales, extractos de avena o vitaminas para obtener un mejor resultado. ⁽¹⁶⁾

b) Los antibióticos tópicos como la mupirocina y el ácido fusídico también están indicados en el tratamiento de placas de eccema sobreinfectadas y para el control del aumento de la colonización por *Staphylococcus aureus*.

c) Inhibidores de la calcineurina: Pimecrolimus y tacrolimus, ambos inhibidores selectivo de la liberación de citocinas inflamatorias que pertenece a la clase de los macrolactámicos. Está indicado en el manejo de la dermatitis atópica leve, moderada y moderada a severa respectivamente. ⁽¹⁶⁾

Tratamiento Sistémico

Los pacientes afectados de enfermedad diseminada y recalcitrante que interfiere gravemente en su calidad de vida y que no responden al tratamiento tópico deben ser tratados con terapéutica sistémica.

a) Antihistamínicos: Se recomiendan aquellos que por su carácter sedativo mejoran el descanso de los pacientes.

b) Antibióticos: En casos de infección extendida, para control de brotes agudos o ante la falta de respuesta a tratamientos con antibióticos locales, se deben indicar antibióticos sistémicos, como penicilina semisintética (dicloxacilina), cefalosporinas de primera elección (cefalexina, cefalotina), macrólidos (eritromicina o azitromicina) y/o amoxicilina clavulanato.

c) Anti-inflamatorios esteroideos. Los corticoesteroides en forma sistémica pueden utilizarse en dermatitis atópica severa que no responde a otras terapias. Actúan por diversos mecanismos, siendo los más significativos la inhibición de la producción de prostaglandinas, leucotrienos, inducción de la apoptosis de macrófagos, linfocitos activados y eosinófilos y reducción de mastocitos tisulares.

d) Inmunosupresores: Ciclosporina y Azatioprina, por su gran potencia inmunosupresora actúan a través del bloqueo de la calcineurina. Se utilizan en pacientes con dermatitis atópica grave cuando el tratamiento convencional no ha sido efectivo y se justifica el riesgo que representa el uso de estos tratamientos.

e) Fototerapia. El mecanismo de acción de esta terapéutica está relacionado con la alteración en la secreción de citocinas, la inducción de apoptosis de linfocitos, depresión de las células de Langerhans y un efecto directo antimicrobiano.

f) Inmunomoduladores: Aunque no se utilizan en el tratamiento habitual estandarizado, existen algunos reportes en los que se ha sugerido que los extractos dializables de leucocitos humanos ejercen actividades inmunoregulatoras en pacientes con alergia. ^(8,10)

MARCO TEÓRICO

Los extractos dializables de leucocitos humanos fueron descritos por Lawrence en 1955. ⁽¹⁷⁾ Los DLE son un grupo numeroso de moléculas de tamaño molecular menor a 12 KDa y han sido ampliamente utilizados como tratamiento adyuvante en enfermedades infecciosas y deficiencias de la respuesta inmunitaria celular. ^(18,19) Aunque los extractos dializados de leucocitos humanos han sido ampliamente estudiados alrededor del mundo, sus actividades pueden diferir dependiendo del proceso de obtención, esta aclaración es relevante para el actual trabajo debido a que las siguientes actividades inmunológicas corresponden exclusivamente a la investigación preclínica y clínica relacionada con Transferon[®], inmunomodulador utilizado en este estudio.

En un modelo murino de tuberculosis induce la expresión de iNOS y TNF α , provocando la inhibición de la proliferación bacteriana con aumento significativo de la respuesta de hipersensibilidad retardada⁽²⁰⁾, induce la expresión tanto de RNAm, como de la proteína IFN-g en células mononucleares de sangre periférica en modelos animales y durante el tratamiento de enfermedades humanas. ⁽²¹⁻²⁵⁾

Transferon[®] incrementa la frecuencia de células IFN-g+ promoviendo una respuesta Th1 y disminuyendo la respuesta Th2, de ahí que haya sido propuesto como tratamiento adyuvante en enfermedades alérgicas como asma, conjuntivitis alérgica y dermatitis atópica. ⁽²⁶⁻³⁰⁾

Ramírez-Cortés reportó en un estudio de 43 pacientes con dermatitis atópica de 2 a 16 años de edad, que recibieron extracto dializable de leucocitos (DLE) por diez días, encontrando que los pacientes tratados con DLE presentaron una mejoría estadísticamente significativa con respecto al nivel de gravedad de la enfermedad⁽³¹⁾. Aunque algunos autores han sugerido que el DLE ejerce una reducción en la cuenta de eosinófilos^(10,13,32), los mecanismos relacionados a inmunoregulación en dermatitis atópica se desconocen. Así mismo, se requieren estudios clínicos, doble ciego, controlados con placebo para comprobar objetivamente tanto los resultados clínicos reportados, como los mecanismos de acción de Transferon[®] en pacientes con dermatitis atópica.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de DLE en el tratamiento adyuvante en DA no ha sido estudiado objetivamente, los reportes provienen de series de casos o estudios abiertos. Así mismo, no se ha propuesto ningún mecanismo inmunológico que permita explicar su uso como inmunomodulador en DA moderada.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existen diferencias en los efectos clínicos y en la respuesta inmunológica durante el tratamiento adyuvante con extractos dializables de leucocitos humanos en comparación con el tratamiento habitual estandarizado en pacientes con DA moderada?

JUSTIFICACIÓN

La DA es la dermatosis más frecuente en la consulta de dermatología pediátrica. Se requieren tratamientos adicionales al tratamiento habitual estandarizado que permitan modular la respuesta inmunitaria del individuo, disminuyendo las complicaciones y recaídas; algunos reportes sugieren que el tratamiento con DLE pudiera ser el inmunomodulador elegido, sin embargo no existen ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego controlados con placebo que permitan evaluar objetivamente el efecto clínico y en la respuesta inmunitaria del DLE en pacientes con DA moderada.

HIPÓTESIS

La mejoría clínica de los pacientes que reciban tratamiento habitual estandarizado más DLE será del 20% mayor comparado con el grupo que recibe tratamiento habitual estandarizado + placebo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la respuesta clínica e inmunológica en pacientes pediátricos con DA moderada que reciben tratamiento habitual estandarizado + DLE en comparación con pacientes pediátricos con DA moderada que reciben tratamiento habitual estandarizado + placebo.

Objetivos Específicos

- 1.- Evaluar la respuesta clínica mediante el SCORAD en pacientes pediátricos con DA de moderada que reciban tratamiento habitual estandarizado + DLE y comparar los resultados clínicos con el grupo que reciba tratamiento habitual estandarizado + placebo.
- 2.- Evaluar la expresión de CLA, CD25 y CD103 en sangre periférica de pacientes pediátricos con DA de moderada a severa que reciban tratamiento habitual

estandarizado + DLE y comparar los resultados inmunológicos con el grupo que reciba tratamiento habitual estandarizado + placebo.

3. Determinar si existe una correlación entre los resultados clínicos y los inmunológicos en ambos grupos de estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño: Ensayo Clínico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo.

Universo: Pacientes de 2 a 18 años con DA moderada atendidos en la consulta externa del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Pacientes de 2 años a 18 años de edad.
2. Género masculino o femenino
3. Pacientes con diagnóstico de DA de acuerdo a los criterios de Hanifin y Rajka.
(Anexo1)
4. Pacientes con DA de moderada de acuerdo al SCORAD. (Anexo 2)
5. Carta de consentimiento informado por escrito de ambos padres o tutor.

7. Carta de asentimiento informado por escrito del paciente a partir de los 7 años.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Pacientes inmunocomprometidos
2. Pacientes que hayan recibido esteroide tópico o sistémico en la últimas dos semanas, o que lo estén recibiendo actualmente.
3. Pacientes que hayan recibido tratamiento inmunosupresor tópico o sistémico en el último mes o que lo estén recibiendo actualmente.
4. Pacientes con comorbilidad asociada.
5. Pacientes que se encuentren en otro protocolo de investigación de DA.
6. Situación geográfica con residencia alejada del hospital de estudio, aunado a la incapacidad del paciente para acudir a las citas de seguimiento.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

1. Pacientes que abandonen el tratamiento.
2. Pacientes que ameriten el tratamiento sistémico inmunosupresor.
3. En el caso de las determinaciones sanguíneas, muestra insuficiente.
4. Pacientes que retiren su consentimiento informado durante el estudio.

PROCEDIMIENTO GENERAL DEL ESTUDIO

1. Se reclutaron pacientes de la consulta dermatológica del HIMFG con diagnóstico de DA de acuerdo a los criterios de Hanifin y Rajka. Su gravedad se clasificó de acuerdo al índice SCORAD, eligiendo pacientes con estadio moderado.
2. Se explicó el proyecto a ambos padres, se contestaron las dudas y se solicitó la firma del consentimiento y asentimiento informado, entregándose una copia del mismo a los padres.
3. Se realizó una historia clínica y dermatológica completa.
4. Se aleatorizó al grupo de tratamiento de acuerdo a una tabla de número aleatorios. El investigador no conocía el grupo de tratamiento al que fueron asignados.
5. Todos los pacientes recibieron información sobre el cuidado correcto de la piel y las medidas generales, así como, la aplicación de la terapia habitual estandarizada.
6. Se inició la administración del tratamiento, de acuerdo al tratamiento establecido en el protocolo aprobado por el Comité de Ética, durante cuatro semanas.
7. Las evaluaciones se realizaron antes de iniciar tratamiento, en el día 14 y en el día 28 de tratamiento.

8. El tratamiento fue renovado en cada visita, verificando así el apego al tratamiento con el número de cajas vacías del EDL y del esteroide.

10. Se informó a todos los pacientes sobre las medidas de alerta en caso de posibles síntomas de toxicidad o reacciones adversas, manteniéndose cita abierta al servicio.

11. Se les entregó un diario a cada paciente para registrar la administración de todos los medicamentos utilizados en el estudio, eventos adversos y medicamentos concomitantes.

12. Al terminar el estudio los pacientes continuaron en manejo por la consulta externa de dermatología.

13. En el caso de las muestras sanguíneas, estas fueron procesadas inmediatamente para determinar por citometría de flujo la frecuencia de células CD4+, CD8+ (Lo y Hi), CD25+, CD103+ y CLA+ en leucocitos de sangre periférica.

DEFINICION DE LAS VARIABLES

Variable Independiente:

1. Tratamiento.

Definición conceptual: Medicación utilizada en el manejo clínico de los pacientes con DA moderada.

Definición operacional: Los pacientes recibieron tratamiento de acuerdo al grupo asignado por la aleatorización.

En ambos grupos el tratamiento habitual estandarizado y Transferon[®] fueron generosamente donados por el Proyecto Factor de Transferencia, de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.

Grupo A: Tratamiento habitual estandarizado más DLE.

El tratamiento habitual estandarizado: lubricación, antihistamínico y esteroide tópico.

A) Lubricación a base de fórmula magistral:

Crema blanca:

Cold cream..... 200gr

Glicerina..... 50 ml

Talco..... 20 gr

B) Antihistamínico:

Cetirizina 0.25mg/kg/día cada 24 hrs x 4 semanas.

Clorfeniramina 0.35mg/kg/día x 4 semanas

C) Metilprednisolona tópica, de acuerdo al siguiente esquema:

DLE (Transferon[®]) se administró vía oral, de acuerdo al siguiente esquema:

1 Unidad (2mg/5mL) c/24hrs x 5 días (Total: 5 Unidades) (Primera semana)

1 Unidad (2mg/5mL) 2 veces por semana hasta concluir el día 28 las 4 semanas.
(Segunda-cuarta semana)

Grupo B: Recibió tratamiento habitual estandarizado + placebo en la misma posología que el grupo A, el placebo utilizado fue idéntico al recipiente del DLE.

La aleatorización fue realizada por personal independiente al grupo clínico y el investigador solo recibió el número de kit de medicamento a dispensar sin conocer el contenido del mismo.

Variables Dependientes:

1. Mejoría clínica

Definición conceptual: Cambios clínicos que el paciente experimenta posterior a tratamiento, caracterizados por la disminución de síntomas y signos.

Definición operacional: Mejoría clínica de la enfermedad, evaluada objetivamente con la aplicación del índice SCORAD. (anexo 2).

2. Frecuencia de poblaciones celulares

Definición conceptual: Poblaciones celulares con funciones específicas en la respuesta inmunitaria.

Definición operativa: Poblaciones celulares evaluadas por citometría de flujo, utilizando anticuerpos monoclonales contra cada subpoblación celular y reportando su frecuencia en sangre como porcentaje celular.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se usó estadística descriptiva para presentar los resultados con medidas de tendencia central y de dispersión. Todos los datos fueron sometidos a pruebas de normalidad y se utilizaron ANOVA o ANOVA de Kruskal Wallis con una prueba Post Hoc de Dunns para encontrar las diferencias entre variables, considerando una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa. Las correlaciones clínico-inmunológicas se realizaron con Spearman o Pearson dependiendo de la distribución normal de los datos.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez y siguió los principios de la Declaración de Helsinki e ICH en materia de investigación en seres humanos.

CONFLICTO DE INTERESES

El Instituto Politécnico Nacional, a través del Proyecto Factor de Transferencia sólo proporcionó los medicamentos de estudio y no influyó en la evaluación de los pacientes, ni en sus resultados.

RESULTADOS

Características de los pacientes incluidos en este estudio.

En este estudio participaron 58 pacientes con DA moderada. Uno de ellos abandonó el estudio. De los 57 pacientes restantes, 24 fueron asignados aleatoriamente al grupo A y 33 fueron asignados al grupo B. Los pacientes del grupo A, tuvieron una edad promedio en meses de 101 (rango 23-223); mientras que los del grupo B, tuvieron una edad promedio en meses de 115.7 (rango de 32-214). Los promedios de edad de cada grupo, así como su distribución por sexo se encuentran descritos en la tabla 1. No se encontraron diferencias estadísticas en la edad, entre ambos grupos de estudio.

Tabla 1. Características de los pacientes con DA moderada incluidos en este estudio.

	Pacientes Grupo A THE + DLE	Promedio de edad [meses, rango (min-max)]	Pacientes Grupo B THE + placebo	Promedio de edad [meses, rango (min-max)]	Valor de P Grupo A vs Grupo B
Todos	24	101 (23-223)	33	115.7 (32-214)	0.3188
Masculino	10	95.6 (23-205)	18	117.3 (33-195)	0.7623
Femenino	14	104.1 (27-223)	15	113.7 (32-214)	0.6183

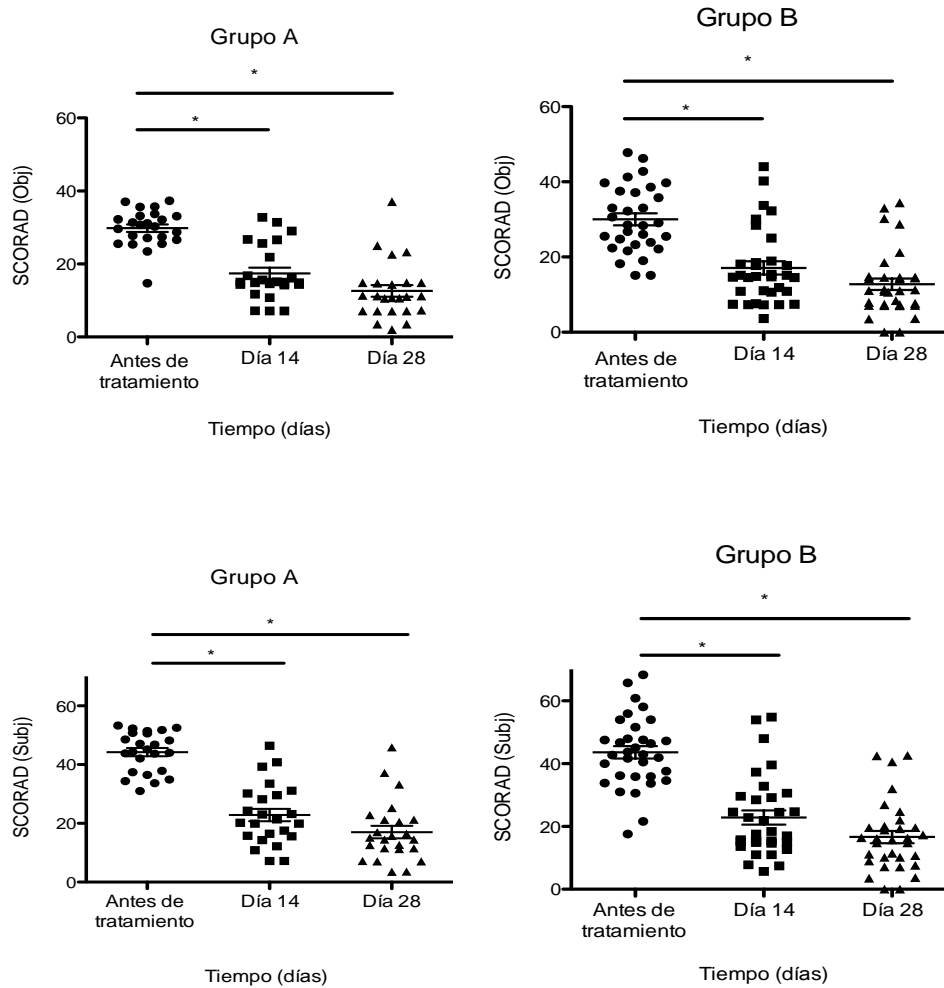
THE. Tratamiento habitual estandarizado

Evaluación clínica de los pacientes con DA moderada en ambos grupos de tratamiento.

Se observó una mejoría clínica significativa en ambos grupos de pacientes. Esta mejoría fue notable a partir del día 14 de tratamiento tanto en el grupo A, como en el grupo B ($p < 0.0001$), manteniendo esta diferencia estadísticamente significativa hasta el día 28 ($p < 0.0001$).

No se encontraron diferencias en la mejoría clínica evaluada con SCORAD Objetivo o SCORAD subjetivo entre ambos grupos de pacientes (Gráfica 1), en

ninguno de los tiempos evaluados. En la figura 2, se observan algunas fotografías clínicas representativas de los pacientes de ambos grupos.



Gráfica 1. Cambios clínicos de los pacientes con DA moderada, antes, durante y al concluir los tratamientos evaluados. Se muestran los cambios clínicos de acuerdo al índice SCORAD en ambos grupos de tratamiento. Cuadrantes superiores, SCORAD Objetivo. Cuadrantes inferiores, SCORAD subjetivo. Las diferencias significativas se encuentran señaladas * $p < 0.0001$. No se encontraron diferencias entre grupos de tratamiento.

Figura 2. Fotografías clínicas representativas de ambos grupos de pacientes.

Pacientes con THE + Placebo



Día 0



Día 28

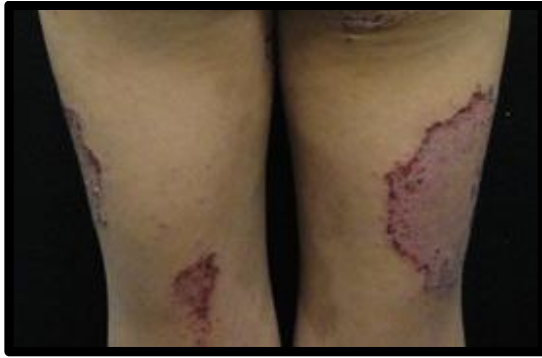


Día 0



Día 28

Paciente 035 Tórax anterior y posterior con mejoría clínica en día 28.

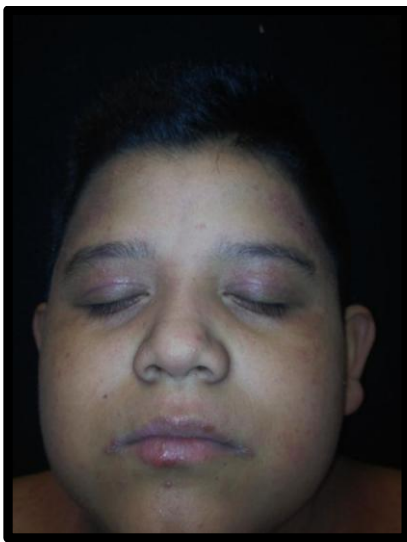


Día 0

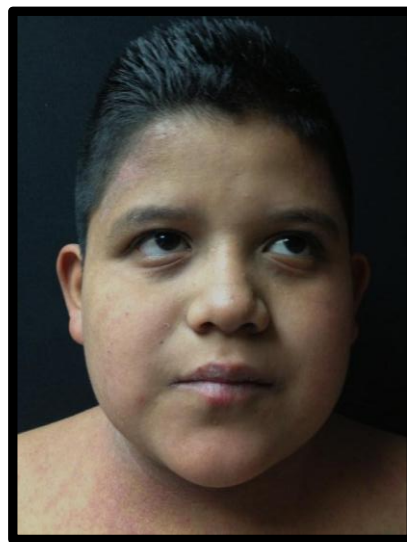


Día 28

Paciente 048 Muslo región posterior con mejoría clínica en día 14.



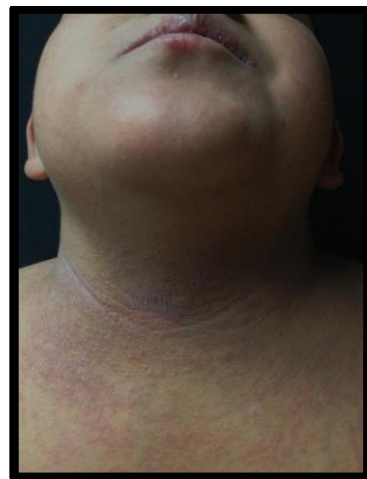
Día 0



Día 14



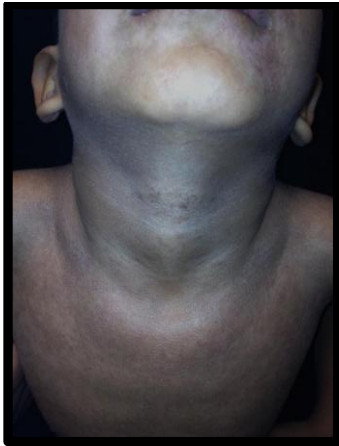
Día 0



Día 14

Paciente 051 Cara y cuello anterior con mejoría clínica en el día 14.

Pacientes con THE + DLE



Día 0

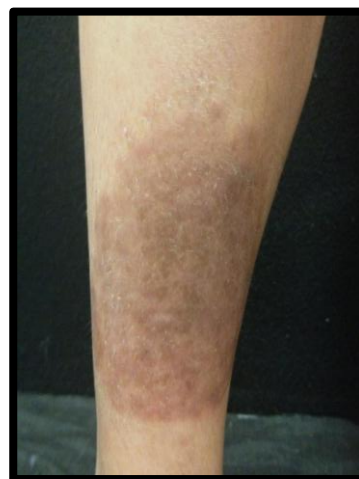


Día 28

Paciente 053 Cuello anterior con mejoría clínica en el día 28.



Día 0



Día 28

Paciente 057 Hombro derecho y pierna izquierda región anterior, mejoría clínica día 28.



Día 0



Día 14



Día 0



Día 14

Paciente 017 Pliegue antecubital ambos brazos, glúteos y muslos región posterior muestra mejoría clínica en día 14.

Cambios inmunológicos observados en pacientes con DA de moderada en ambos grupos de tratamiento.

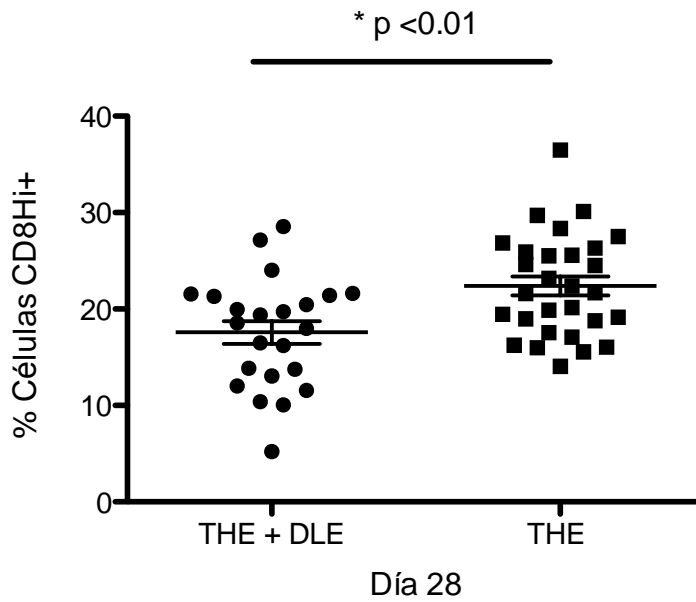
Se evaluaron por citometría de flujo la frecuencia en sangre periférica de linfocitos CD4+, CD8+, CD25+, CD103+ y CLA+. Los resultados se muestran en la tabla 2, a continuación se mencionan exclusivamente aquellos en donde se detectaron cambios significativos. Se observó un incremento significativo a los 14 días en el porcentaje de células CD8+ (Lo $p < 0.001$ y Hi $p < 0.01$), que se mantuvo al día 28, en el grupo de pacientes tratados con tratamiento habitual estandarizado (THE). (Gráfica 2).

De manera similar el porcentaje de células CLA+ se incrementó significativamente mayor en el grupo que recibió THE ($p = 0.028$). (Gráfica 3) Mientras que las células CD103+ disminuyeron significativamente en el grupo de pacientes que recibieron THE ($p = 0.02$) (Gráfica 4).

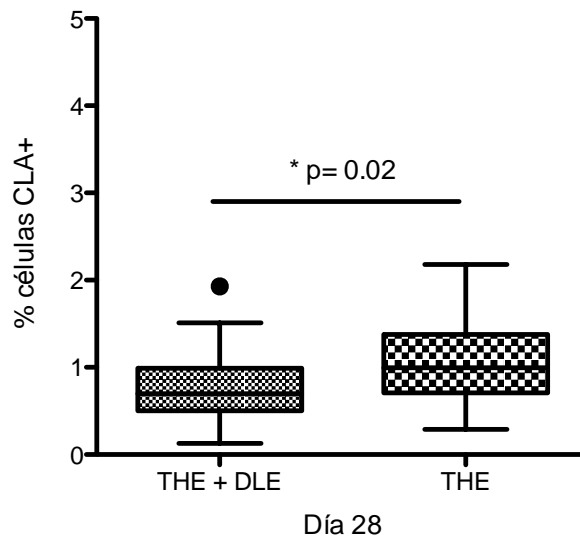
Tabla 2.

	Tiempo (días)	Grupo A Mediana (Percentil 25-75) Met + DLE	Grupo B Mediana (Percentil 25-75) Met + Placebo	Valor de p Grupo A vs Grupo B
CD4+	0	36.2 (31.1-41.6)	36.4 (32.4-40.3)	0.8485
	14	36.0 (31.7-41.9)	36.9 (30.9-39.9)	0.8972
	28	37.2 (31.6-39.5)	35.9 (30.7-38.2)	0.5175
CD8^{lo+}	0	8.0 (4.8-9.1)	8.7 (5.7-12.1)	0.0938
	14	6.0 (4.5-7.7)	10.2 (7.5-13.1)	0.0010*
	28	7.4 (6.5-11.1)	9.5 (7.6-12.6)	0.0729
CD8^{hi+}	0	18.7 (15.0-22.8)	23.6 (16.4- 26.3)	0.0426
	14	18.2 (15.9-21.8)	21.8 (17.8-27.8)	0.0113*
	28	18.6 (13.1-21.4)	21.7 (18.2-26.1)	0.0029*
CD25+	0	11.8 (10.7-14.7)	13.3 (10.3-15.9)	0.4387
	14	13.1 (10.1-16.1)	13.9 (10.6-16.3)	0.4177
	28	14.4 (10.8-15.4)	14.6 (11.9-17.2)	0.4011
CD103+	0	8.6 (6.5-10.6)	9.7 (8.6-17.2)**	0.0637
	14	8.2 (6.8-10.0)	9.2 (7.2-11.5)	0.1377
	28	7.8 (6.3-9.2)	8.4 (7.0-10.5)**	0.1932
CLA+	0	0.7 (0.5-1.1)	0.9 (0.6-1.5)	0.2717
	14	0.8 (0.6-1.1)	1.0 (0.6-1.5)	0.0788
	28	0.7 (0.5-1.0)	1.0 (0.7-1.4)	0.0282*

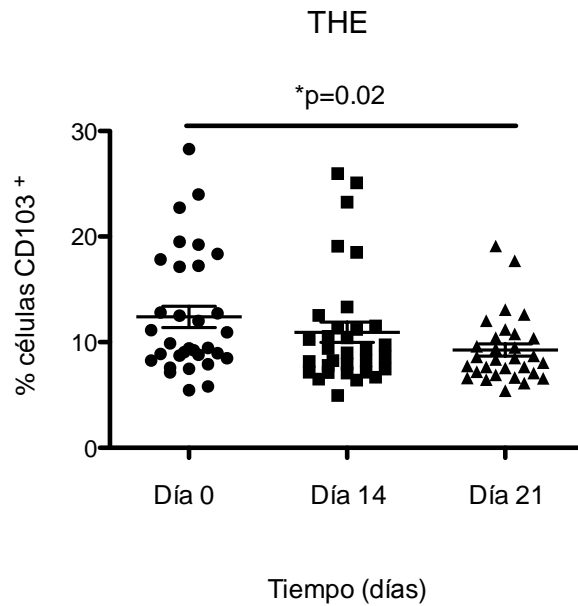
**p<0.02



Gráfica 2. Frecuencia de células CD8+ al concluir tratamientos. Se observa un incremento significativo en la frecuencia de células CD8+ en pacientes que recibieron tratamiento habitual estandarizado (THE).



Gráfica 3. Cambios en la frecuencia de células CLA. Se observa un incremento significativo en la frecuencia de células CLA circulantes en sangre periférica, en los pacientes que recibieron THE.



Gráfica 4. Cambios en la frecuencia de células CD103+. Se observa que existe una disminución significativa en la frecuencia de las células CD103+ en los pacientes que recibieron THE

Correlación datos clínicos e inmunológicos

Se realizaron correlaciones de Spearman para el análisis de los datos clínicos con todas las determinaciones inmunológicas; sin embargo, no se encontró ningún dato estadísticamente significativo.

Discusión

El objetivo de este trabajo fue evaluar las características clínicas e inmunológicas de pacientes con DA moderada que recibieron dos distintos tratamientos: Tratamiento habitual estandarizado + DLE en comparación con tratamiento habitual estandarizado+placebo.

Al analizar las edades y el sexo de los pacientes que se integraron en ambos grupos no se observaron diferencias significativas, con esto se descartó que la edad o el sexo se comportaran como variables confusoras a lo largo del estudio. Otra validación interna fue la comparación del SCORAD objetivo y subjetivo entre ambos grupos al inicio del estudio, en donde tampoco encontramos diferencias significativas entre grupos. Con este análisis pudimos establecer que contábamos con dos grupos de pacientes aparentemente homogéneos en edad, sexo y manifestaciones clínicas, lo que nos permitió analizar con confiabilidad el resto de las variables propuestas en este estudio.

La evolución clínica de ambos grupos de pacientes tuvo una mejoría significativa desde los 14 días, lo anterior era esperable porque ambos grupos estaban recibiendo esteroide (metilprednisolona) y los efectos anti-inflamatorios de los esteroides tópicos son ampliamente conocidos. Sin embargo, llamó la atención que al término del estudio tampoco hubiera significancia entre ambos grupos, lo anterior fue contrario a los reportes previos que indicaban que el uso de DLE contribuía con mayor eficacia que el tratamiento convencional, sin embargo al

analizar esos estudios, se observa que tienen limitantes tales como pequeña cantidad de pacientes, pacientes no aleatorizados, grupos no controlados por ciego, diferentes esquemas terapéuticos utilizados entre los mismos autores, entre otros por lo que a la luz de los resultados actuales esos estudios pudieron haber estado sesgados por los investigadores. En este estudio se cuidó particularmente lo anterior y ninguno de los investigadores que participamos en la evaluación clínica de los pacientes conocimos en ningún momento el tratamiento que recibían los pacientes incluidos en el estudio, y fue hasta la conclusión del mismo que se abrió el ciego; por lo que podemos garantizar que los resultados obtenidos son confiables y concluir que después de 28 días con el esquema terapéutico no existen diferencias entre pacientes con DA moderada tratados con THE+placebo y aquéllos que recibieron THE + DLE.

En cuanto a los hallazgos inmunológicos, encontramos un incremento de los linfocitos T CD8+ posterior al tratamiento habitual estandarizado, esto pudiera estar asociado con las recaídas al suspender el esteroide, otros autores han demostrado la migración de linfocitos T CD8 a piel, como la fuente importante de citocinas asociadas a respuesta celular ⁽³³⁾. Por lo que es necesario realizar un estudio a largo plazo para afirmar o descartar esta nueva hipótesis.

Por otra parte las células CLA+ se han descrito como células patogénicas en psoriasis y dermatitis atópica ^(14,15), de forma inesperada el THE + DLE aparentemente disminuye este tipo de poblaciones al término del tratamiento. Este dato también sugiere que al retirar ambos tratamientos los pacientes

tratados con DLE podrían mantenerse asintomáticos por mayor tiempo, ya que CLA dirige la migración linfocitaria a piel.

En cuanto a la expresión de CD103, se observó que el THE + DLE previene la pérdida de células CD103+, ya que estas células sólo se encontraron disminuídas en los pacientes tratados con THE. CD103 es una molécula que se expresa en células dendríticas de piel y mucosas; y en linfocitos T CD8+; en ambos casos se trata de células tolerogénicas.⁽³⁴⁻³⁵⁾ Por lo anterior es probable que los pacientes tratados con THE + placebo en los que se encontró una pérdida significativa de estas células al final del tratamiento sufran recaída con mayor rapidez que los que recibieron Transferon[®].

Por último, no se encontraron correlaciones significativas entre los valores clínicos y los datos inmunológicos, esto significa que las determinaciones hechas no son biomarcadores sensibles de actividad clínica. Deberán realizarse estudios posteriores en donde se evalúe la expresión de CLA y CD103 en linfocitos CD8 para confirmar si los cambios celulares observados explican con mayor precisión el mecanismo de acción del DLE durante la mejoría clínica.

CONCLUSIONES

1. Aunque no existen diferencias clínicas entre los diferentes tratamientos evaluados (Tratamiento habitual estandarizado+placebo vs Tratamiento habitual estandarizado + DLE), en ambos casos hubo mejoría clínica significativa al desde el día 14.
2. Las células CLA+ disminuyeron significativamente en el grupo que recibió Tratamiento habitual estandarizado + DLE.
3. Las células CD103+ disminuyeron significativamente en el grupo que recibió tratamiento habitual estandarizado + placebo.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La limitación más importante fue el tiempo de seguimiento de los pacientes, ya que aunque se observaron cambios inmunológicos no es posible asegurar si estos cambios se mantendrán al retirar el tratamiento, o si en verdad podrían retrasar la aparición de nuevas lesiones. Debido a lo anterior se requiere un estudio que contemple un seguimiento clínico mayor al retirar los tratamientos.

CRONOGRAMA 2012-2013

	MARZO- OCTUBRE 2012	DICIEMBRE 2012	ENERO- FEBRERO 2013	MARZO- MAYO 2013	JUNIO 2013
REALIZACIÓN DE PROTOCOLO DE ESTUDIO	XXXXXXXX				
REVISIÓN DEL PROTOCOLO Y APROBACIÓN POR INVESTIGACIÓN	XXXXXXXXXX				
RECLUTAMIENTO DE PACIENTES		XXXXXXXX	XXXXXXXXXX		
ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRESENTACIÓN DE RESULTADOS				XXXXXX	XXXXXXXXXX

REFERENCIAS

1. Schultz-Larsen F, Diepgen T, Svensson A. The occurrence of atopic dermatitis in north Europe: an internacional questionnaire study. *J Acad Dermatol* 1996;34:760-764.
2. Peñate Y, Borrego L, Hernández N, Islas D. Pediatric Dermatology Consultations: A Retrospective Analysis of Inpatient Consultations Referred to the Dermatology Service. *Pediatr Dermatol*. 2011.
3. Williams Hywel Robertson, Colin Fracp Stewart, Alistair. Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the international study of asthma and allergies in childhood. *J Allergy Clin Immuno* 1999;103:125-138.
4. Smith JJ, Folkert G, Nijkamp FP. Mycobacteria, genes and the “hygiene hypothesis”. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2004;4(1):57-62.
5. Bologna JL., Jorizzo JL., Schaffer J., *Dermatology*. 3rd Edition Elsevier 2013.
6. AA European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: The SCORAD index. *Dermatology* 1993;186:23-31.
7. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Dermatol Venereol (Stockh)* 1980:44–47.
8. Rodríguez-Flores A, Serrano-Miranda E, Flores-Sandoval E, Orea M, García J, Badillo A, Estrada-Parra S. Efecto terapéutico del factor de

- transferencia en el tratamiento de pacientes con dermatitis atópica grave. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*. 2002.11:9-11.
9. Flores-Sandoval J, Gómez-Vera M, Orea-Solano, López-Tiro J, Rodríguez A, Estrada-Parra S, Jiménez-Saab. Factor de transferencia como inmunomodulador específico en el tratamiento de la dermatitis atópica moderada a severa. *Rev. Alerg Mex.* 2005. 52 (6): 215–220.
 10. La Grutta S., Richiusa P., Pizzolanti G., Matina A., et al. CD4 IL13 cells in peripheral blood well correlates with the severity of atopic dermatitis in children. *Allergy* 2005;60:391-395.
 11. Newell L, Polak ME, Perera J, et al. Sensitization via Healthy Skin Programs Th2 Responses in Individuals with Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol*. 2013 Mar 25.
 12. Leyden JJ, Marples RR., Klingman AM. Staphylococcus aureus in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1974;90:525-30.
 13. Kam Lune., Ting Fan L., Kwok Chiu M., et al. Serum Concentration of IL-18 Correlates with Disease Extent in Young Children With Atopic Dermatitis. *Pediatric Dermatol* 2004;21:619-622.
 14. Dworzak MN, Fröschl G, Printz D, et al. Skin-associated lymphocytes in the peripheral blood of patients with atopic dermatitis: signs of subset expansion and stimulation. *J Allergy Clin Immunol*. 1999 May;103(5 Pt 1):901-6.
 15. KH Kim. Overview of atopic dermatitis. *Asia Pac Allergy* 2013;3:79-87.
 16. Hanifin JM, Cooper K, Ho V. et al. Guidelines of care for atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:391-404.

17. Lawrence, HS. The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes. *J Clin Invest.* 1955:219- 230.
18. Wilson GB., Fudenberg HH., Keller RH. Guidelines for immunotherapy of antigen-specific defects with transfer factor. *J Clin Lab Immunol.* 1984: 51-58.
19. Berrón-Pérez R., Chávez-Sánchez R., Estrada-García I., et.al. Indications, usage, and dosage of the transfer factor. *Rev Alerg Mex.* 2007:134-139.
20. Fabre RA., Pérez TM., Aguilar LD., et.al. et al. Transfer factors as immunotherapy and supplement of chemotherapy in experimental pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol.* 2004:215-23.
21. Estrada-Parra S., Nagaya A., Serrano E., Rodriguez et.al. Comparative study of transfer factor and acyclovir in the treatment of herpes zoster. *Int J Immunopharmacol.* 1998: 521-535.
22. Pineda B., Estrada-Parra S., Pedraza-Medina B., et.al. Interstitial transfer factor as adjuvant immunotherapy for experimental glioma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2005: 575-583.
23. Luna-Baca GA, Linares M, Santacruz-Valdes C., et.al. Immunological study of patients with herpetic stromal keratitis treated with Dialyzable Leukocyte Extracts. *Proceedings Immunology 2007:* 67-71.
24. Santacruz-Valdes C., Aguilar G., Jimenez-Martinez MC. Dialyzable Leukocyte extracts (Transfer factor) as adjuvant therapy for fungal keratitis. *Am J Case Rep* 2010:97-101.

25. Santacruz-Valdes C, Perez-Tapia M, Jimenez-Martínez MC. Treatments of Infectious and Allergic Conjunctivitis; Is the Immunomodulation the Future?. Book: Common Eye Infections. 2013.
26. Valdés-Sánchez AF., Martín-Rodríguez OL, Lastra-Alfonso G. Treatment of extrinsic bronchial asthma with transfer factor Rev Alerg Mex. 1993:124-131.
27. Espinosa Padilla, SE., Orozco, S., Plaza, A., et. al. Efecto del factor de transferencia en el tratamiento con glucocorticoides en un grupo de paciente pediátricos con asma alérgica moderada persistente. Rev Aler Mex 2009:67-71.
28. Robles-Contreras A, Santacruz C, Ayala J, et.al. Allergic conjunctivitis: an immunological point of view. Book: Conjunctivitis: A Complex and Multifaceted Disorder. 2011.
29. Sosa M., Flores G., Estrada S., Comparative treatment between thalidomide and transfer factor in severe atopic dermatitis. Rev AlergMex. 2001:56-64.
- 30.32 Flores-Sandoval G., Gómez-Vera J., Orea-Solano M., et al. Transfer factor as specific immunomodulator in the treatment of moderate-severe atopic dermatitis. Rev Alerg Mex.2005:215-20.
31. Navarro-Cruz D, Ernestina-Serrano M, Modesto-Orea S, et.al. Factor de transferencia en dermatitis atópica moderada y severa. Rev Aler Mex. 1998. 43: 116 – 123.

Anexo 1.

SUBRAYAR LOS CRITERIOS QUE CUMPLE EL PACIENTE

Criterios diagnósticos de Hanifin y Rajka para dermatitis atópica. *

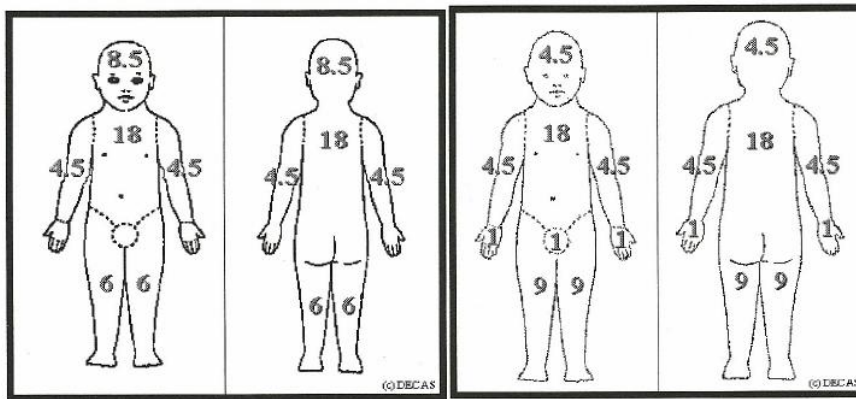
<u>CRITERIOS MAYORES:</u>	<u>CRITERIOS MENORES:</u>
1.- Prurito.	- Xerosis.
2.- Topografía y distribución típica.	- Ictiosis/queratosis pilar/aumento de líneas palmares.
A) adultos: liquenificación flexural o lineal.	- Reactividad tipo uno de la piel.
B) niños y lactantes: facial y superficies extensoras.	- Edad de presentación menor.
3.- Evolución crónica y recidivante de la dermatitis.	- Piodermias frecuentes.
4.- Historia personal o familiar de atopia.	- Dermatitis inespecífica de manos o pies.
	- Eccema y fisuras periauriculares.
	- Conjuntivitis.
	- Pliegue de Dennie-Morgan.
	- Queratocono.
	- Catarata subcapsular posterior.
	- Oscurecimiento orbital palpebral.
	- Palidez facial o eritema.
	- Pitiriasis alba
	- Pliegues en cuello anterior.
	- Prurito a la sudoración.
	- Intolerancia a la lana y detergentes.
	- Acentuación perifolicular.
	- Intolerancia a alimentos.
	- Curso influenciado por factores ambientales o emocionales.
	- Dermografismo blanco.

Cumple al menos 3 criterios mayores y tres criterios menores SI _____ NO _____

Anexo 2.

VALORACION DE GRAVEDAD DE DA SCORAD

A: EXTENSIÓN: Área involucrada: ____ .



B: INTENSIDAD: ____ .

CRITERIO	INTENSIDAD
Eritema/Oscurecimiento	
Edema/Pápulas	
Lloroso/Costras	
Excoriaciones	
Liquenificación/Prurigo	
Sequedad de la piel en áreas no involucradas	

Promedio del área representativa

- 0 Ausente
- 1 Leve
- 2 Moderado
- 3 Severo

LEVE < 15
MODERADA 15-40
GRAVE > de 40

Escala análoga visual (promedio de los 3 últimos días y noches)

PRURITO (0 a 10) [Visual Scale]
 0 10

SUEÑO ALTERADO [Visual Scale]

**SCORAD objetivo: A/7+7B/2 /83 SCORAD A/5+7B/2+C /103

C: Síntomas subjetivos: Prurito + sueño alterado: _____.