



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"

"EFECTO DE CITOCINAS INFLAMATORIAS EN LA SÍNTESIS DE BIOMARCADORES DE LA MATRIZ
EXTRACELULAR POR MONOCITOS DE PACIENTES CON PSORIASIS"

TÉSIS:

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. MARÍA FERNANDA ORTEGA SPRINGALL

ASESOR:

DRA. MARÍA ELISA VEGA MEMIJE

MÉDICO ADSCRITO A LA DIVISIÓN DE DERMATOLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL
GEA GONZÁLEZ"

CIUDAD DE MÉXICO FEBRERO DE 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

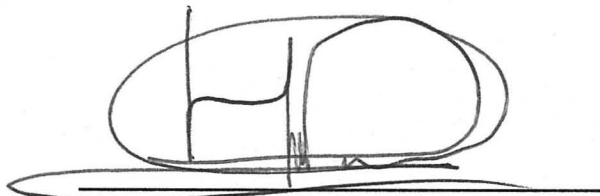
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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


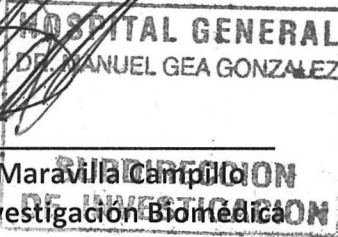
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"

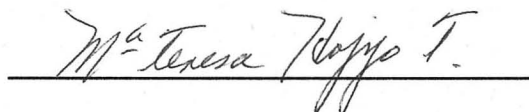
AUTORIZACIONES



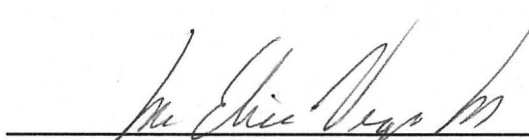
Dr. Héctor Manuel Prado Calleros
Director de Enseñanza e Investigación

Dr. José Pablo Maravilla Campillo
Subdirector de Investigación Biomédica

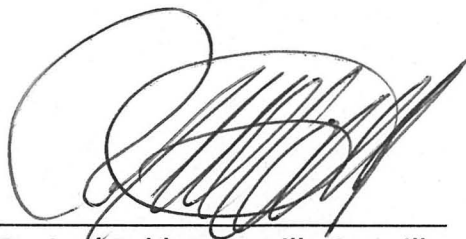


Dra. María Teresa Hojyo Tomoka
Profesor Titular del Curso de Especialidad
Jefe de la División de Dermatología



Dra. María Elisa Vega Memije
Asesor de Tesis
Médico adscrito a la División de Dermatología

Este trabajo de tesis con número de registro: 06-117-2017 presentado por la Dra. María Fernanda Ortega Springall, se presenta en forma con visto bueno por el tutor principal de la tesis la Dra. María Elisa Vega Memije con fecha febrero 2020 para su impresión final.



Dr. José Pablo Maravilla Campillo
Subdirector de Investigación Biomédica

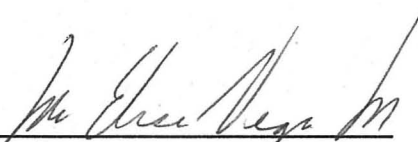


Dra. María Elisa Vega Memije
Investigador Principal

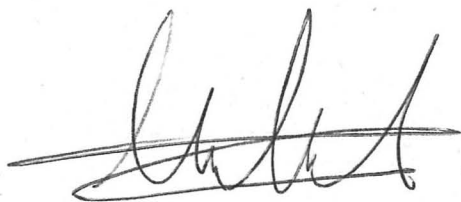
“EFECTO DE CITOCINAS INFLAMATORIAS EN LA SÍNTESIS DE BIOMARCADORES DE LA MATRIZ EXTRACELULAR POR MONOCITOS DE PACIENTES CON PSORIASIS”

Este trabajo fue realizado en el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en la División de Dermatología bajo la dirección de la Dra. María Elisa Vega Memije con el apoyo de la Dra. María Rashidi Springall del Villar, investigadora de la división de inmunología del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”, quienes orientaron y aportaron a la conclusión de este trabajo.

COLABORADORES:



Dra. María Elisa Vega Memije
Investigador Principal



Dra. María Fernanda Ortega Springall
Investigador Asociado Principal



Dra. María Rashidi Springall del Villar
Investigador Asociado

AGRADECIMIENTOS

A mi madre. Rashidi Springall, quien ha sido mi guía y mi más grande apoyo en todo momento, quien con su ejemplo, amor y dedicación me enseñó a creer en mí y a lograr mis metas a pesar de todo.
Gracias infinitas.

A José Estradas. Ejemplar como médico y compañero, quien siempre ha permanecido a mi lado apoyándome incondicionalmente en mi carrera y vida.

A mis abuelos. Abo y Aba, que son mi mayor ejemplo de trabajo, dedicación y amor, gracias por todas las enseñanzas de vida que me han acompañado, alentado y ayudado a llegar hasta donde estoy.

Índice

1. RESUMEN
2. INTRODUCCIÓN
3. MATERIAL Y MÉTODOS
4. RESULTADOS
5. DISCUSIÓN
6. CONCLUSIONES
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
8. TABLAS Y FIGURAS

1. RESÚMEN

Introducción. La psoriasis está asociada con un incremento en la prevalencia de enfermedad arterial coronaria (CAD), con un elevado riesgo de desarrollar infarto agudo al miocardio (IAM). La desestabilización de la placa aterosclerótica que lleva al IAM es causada por una alteración en el balance de metaloproteinasas (MMPs) y sus inhibidores endógenos (TIMPs), ambos producidos principalmente por monocitos, que producen alteraciones en la matriz extracelular.

Objetivo. Comparar el efecto de las citocinas inflamatorias en la síntesis de biomarcadores de la matriz extracelular por monocitos de personas con y sin psoriasis.

Material y métodos. Se realizó un estudio experimental, prospectivo, transversal, comparativo y secuencial en pacientes con psoriasis y sujetos sin la enfermedad. Se determinaron las concentraciones de IL-17, IFN- γ , TNF- α , MMP-1, MMP-2, MMP-9 y TIMP-1 en el suero de 60 pacientes con psoriasis y 60 controles; así como los niveles de MMP-1, MMP-2, MMP-9 y TIMP-1 en los sobrenadantes de cultivos de monocitos estimulados con IL-17, IFN- γ , TNF- α .

Resultados. Las concentraciones séricas de IL-17, IFN- γ , TNF- α , MMP-1 y MMP-9 fueron significativamente mayores en los pacientes con psoriasis comparadas con las de sujetos control. No hubo diferencia en los niveles séricos de MMP-2 entre los grupos de estudio. Las concentraciones de TIMP-1 fueron importantemente menores en los pacientes, por lo que el índice MMP-9/TIMP-1 fue significativamente mayor en este grupo. En los sobrenadantes previo a la estimulación con TNF- α , IFN- γ e IL-17, se encontraron concentraciones basales de MMP-1, MMP-2 y MMP-9 significativamente mayores en pacientes comparado con controles, similar a lo encontrado en suero. Por otro lado, TIMP-1 siguió el mismo patrón que en suero, siendo importantemente menores las concentraciones basales en los pacientes en comparación con los sujetos control, resultando una razón MMP-9/TIMP-1 significativamente mayor en el grupo de pacientes con psoriasis. La estimulación con TNF- α e IFN- γ indujeron un incremento en la producción de MMP-1 y MMP-9 por los monocitos tanto de controles como de pacientes, siendo significativamente mayores las concentraciones de ambas proteínas en el grupo de pacientes. A diferencia de las anteriores, la exposición con ambos tipos de estimulación también indujo un incremento importante en la producción de MMP-2 en ambos grupos de estudio, sin embargo, las concentraciones detectadas fueron similares entre pacientes y controles. Los niveles de TIMP-1 no se vieron modificados tras la exposición a TNF- α e IFN- γ en ambos grupos. Como resultado de lo anterior, ambos tipos de estimulación incrementaron el índice MMP-9/TIMP-1 significativamente en pacientes y controles. Por último, la estimulación con IL-17 de los monocitos de pacientes y controles también indujo un incremento significativo en la síntesis de MMP-1, MMP-2, con concentraciones similares de ambas a las detectadas cuando los monocitos se estimularon con TNF- α e IFN- γ . Interesantemente, mientras que los niveles de MMP-9 producidos por los monocitos de ambos grupos al estimularlos con IL-17 fueron significativamente mayores, los niveles de TIMP-1 fueron también significativamente más bajos en comparación con los detectados por la exposición al TNF- α e IFN- γ , lo que resultó en un índice MMP-9/TIMP-1 mayor en ambos grupos de estudio, siendo importantemente más elevado en el grupo de pacientes.

Conclusiones. Las concentraciones elevadas de citocinas inflamatorias circulantes que caracterizan a la psoriasis parecen inducir una alteración funcional en los monocitos de los pacientes psoriásicos, con respuestas diferenciales a la estimulación adicional con TNF- α , IFN- γ y especialmente a IL-17 para la producción de MMPs, TIMP-1 e índice MMP-9/TIMP-1, lo que pudiera contribuir a la desestabilización y ruptura de las placas ateroscleróticas coronarias existentes en pacientes con psoriasis, induciendo el desarrollo de IAM.

PALABRAS CLAVE: psoriasis; monocitos; IL-17; MMP-9; TIMP-1; placa aterosclerótica; infarto agudo al miocardio

2. INTRODUCCIÓN

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta aproximadamente al 2% de la población general. No presenta una predilección de sexo y afecta predominantemente individuos entre la segunda y tercera décadas de la vida. Tiene múltiples formas clínicas incluyendo: psoriasis en placas (la forma más común), en gotas, inversa, pustular, palmoplantar, ungueal y eritodérmica. Puede estar asociada a artritis psorásica, la cual varía en prevalencia según estudios en diferentes poblaciones, estimándose del 11 al 30% de los pacientes con psoriasis.^{1,2}

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria sistémica en la que se encuentran niveles incrementados de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-17 e IL-21), con activación crónica de los sistemas inmunológicos innato y adaptativo, que causan daño a largo plazo a múltiples tejidos y órganos. Análisis retrospectivos poblacionales han comprobado que los pacientes con psoriasis moderada o grave tienen un riesgo incrementado de morbilidad y mortalidad cardiovascular en comparación con la población general.^{2,3} Un meta-análisis encontró que existe un riesgo aumentado de infarto agudo al miocardio (IAM) en pacientes con psoriasis. Incluyó 13 estudios con adecuado diseño, que distinguieron entre psoriasis leve y grave y que analizaron adecuadamente otras variables involucradas en síndrome metabólico y riesgo cardiovascular. Los resultados obtenidos señalaron que existe un riesgo incrementado de IAM tanto en pacientes con psoriasis leve (HR = 1.20, [95% CI: 1.06–1.35]) como en pacientes con enfermedad grave (HR = 1.70, [95% CI: 1.18–2.43]).^{4,5} Gelfand et. al. realizaron una gran cohorte retrospectiva que analizó a 3837 pacientes con psoriasis y los comparó con 127139 controles para determinar la incidencia de IAM en esta población. Determinaron que la incidencia de IAM por 1000 personas-año en el grupo control, psoriasis leve y psoriasis grave correspondió a 3.58 (95%, IC: 3.52-3.65), 4.04 (95% IC: 3.88-4.21) y 5.13 (95, IC:4.22-6.17), respectivamente. Además, encontraron que los pacientes con psoriasis presentaron un riesgo relativo de IAM que dependía de la edad, siendo éste mucho mayor en pacientes más jóvenes.⁶ Basados en los hallazgos antes mencionados, en los que se demuestra la relación de la psoriasis y síndrome coronario agudo (SCA), Lertam et. al. encontraron que pacientes con psoriasis comparados con pacientes con dislipidemia presentaron una prevalencia igual de placas ateroscleróticas de alto riesgo a pesar de que los pacientes con psoriasis presentaban una media de edad de 10 años menor y un riesgo cardiovascular calculado por la escala de Framingham significativamente menor que los pacientes con dislipidemia. Ambos grupos presentaron una prevalencia significativamente mayor comparados con voluntarios sanos.⁷

Estos datos sugieren que la inflamación crónica podría tener una función primordial en el desarrollo del proceso aterosclerótico acelerado en pacientes con psoriasis. Se puede considerar a la psoriasis como un prototipo de una desregulación inmunológica que junto con su comorbilidad cardiovascular, parecen emerger de la cronicidad de los niveles séricos elevados de citocinas (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-17 e IL-21) alterando el metabolismo de lípidos e incrementando

cambios ateroscleróticos importantes en las arterias coronarias.^{8,9,10} La psoriasis y la aterosclerosis comparten muchos mecanismos inflamatorios como la respuesta inmune mediada por células Th1, alteraciones en la angiogénesis y la disfunción endotelial, los cuales parecieran ser los factores que vinculan ambas entidades.¹¹ En la psoriasis, el incremento local de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-17, IL-21) inicia la diferenciación de linfocitos T hacia un fenotipo Th1 que activa a los macrófagos, induce la proliferación de queratinocitos y estimula la producción de citocinas pro-inflamatorias (IFN- γ , IL-1, IL-6) y quimiocinas (IL-8) que influyen en el infiltrado inflamatorio para el desarrollo de las placas eritematoescamosas y para perpetuar el padecimiento.^{1,8} En la aterosclerosis, células inmuno-inflamatorias (especialmente los monocitos) se acumulan en los sitios de daño endotelial y contribuyen al desarrollo y progresión de la lesión aterosclerótica. Además, estas células regulan la inestabilidad de la placa mediante la síntesis incrementada de enzimas proteolíticas de componentes de la matriz extracelular (MEC) como las metaloproteasas (MMPs) que favorecen el desarrollo de los síndromes isquémicos coronarios agudos (SICA).¹² La estabilidad de la placa aterosclerótica depende de la integridad y resistencia de su capa fibrosa, por lo que cualquier estímulo inflamatorio que promueva el desequilibrio entre la síntesis y degradación de los componentes de la MEC que compongan la capa fibrosa favorece su vulnerabilidad.¹² La destrucción de la MEC es la causa más frecuente de ruptura de la placa que lleva a IAM. El balance entre la síntesis y la degradación de los diferentes componentes de la MEC es regulado por el equilibrio entre las MMPs, que favorecen su degradación, y los inhibidores específicos de MMPs (TIMPs), que regulan sus actividades proteolíticas.¹³ De tal suerte que, cualquier alteración en dicho balance contribuye a la progresión e inestabilidad de la placa aterosclerótica.

Por lo tanto, para este estudio consideramos que es posible que los monocitos de pacientes con psoriasis estén sensibilizados para producir una cantidad mayor de MMPs posterior a la estimulación de citocinas prototipo de la enfermedad como IL-17, TNF- α y el FN- γ . Siendo así, esto podría explicar en parte los mecanismos inmuno-inflamatorios involucrados en la desestabilización de la placa aterosclerótica en pacientes con psoriasis. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue comparar el efecto de las citocinas inflamatorias (IL-17, TNF- α e IFN- γ) en la síntesis de biomarcadores de la matriz extracelular (MMP-1, MMP-2, MMP-9 y TIMP-1) por monocitos de personas con y sin psoriasis.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental, prospectivo, transversal, comparativo y secuencial en pacientes con psoriasis y sujetos sin la enfermedad que acudieron a la consulta externa de Dermatología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González".

Para el grupo de pacientes, los criterios de inclusión fueron edad mayor a 18 años y diagnóstico clínico de psoriasis; mientras que los criterios de exclusión fueron: embarazo, lactancia, pacientes con enfermedades inflamatorias sistémicas, infecciones sistémicas, enfermedades autoinmunes, neoplasias malignas, enfermedades renales o hepáticas, enfermedad cardiovascular y que recibieran tratamientos sistémicos inmunosupresores o antiinflamatorios.

Para el grupo control se reclutaron sujetos mayores de 18 años que acudieron como acompañantes de otros pacientes a la consulta de Dermatología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González". Fueron pareados por edad y sexo con los sujetos de estudio. Se excluyeron aquellos sujetos que tuvieran embarazo, lactancia, pacientes con enfermedades inflamatorias sistémicas, infecciones sistémicas, enfermedades autoinmunes, neoplasias malignas, enfermedades renales o hepáticas, enfermedad cardiovascular y que recibieran tratamientos sistémicos inmunosupresores o antiinflamatorios.

Los criterios de eliminación en ambos grupos incluyeron: incapacidad por cualquier motivo para realizar la toma de muestras, pérdida de información y petición del paciente de ser retirado del estudio.

Todos los participantes aceptaron y firmaron el consentimiento informado antes de ser incluidos en el estudio. Se recolectaron los siguientes datos demográficos y variables clínicas de cada persona de ambos grupos: edad, sexo, talla, peso, tensión arterial, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, tipo de psoriasis, años de evolución con psoriasis, PASI actual, superficie corporal afectada, tratamientos actuales y tratamientos previos.

De cada participante se extrajeron 15ml de sangre periférica mediante punción de vena de fosa antecubital. Se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos a 7°C. Se recolectó el suero y se almacenó en alícuotas de 500µL que se mantuvieron congeladas a -76°C hasta su determinación. Para la obtención de células, los tubos con EDTA se centrifugaron a 1600 rpm durante 30min a 7°C para la separación de leucocitos. La obtención de monocitos del resto de los leucocitos se realizó por separación magnética con el uso de anticuerpo CD14+. Las células se contaron, ajustaron y sembraron en una cantidad de 5×10^5 cel/pozo en placas de cultivo celular de 24 pozos y se mantuvieron en incubación en medio RPMI-1640 suplementado (10% de suero fetal bovino, 5% de aminoácidos esenciales, 5% de estreptomicinas-gentamicina y 5% de HEPES). Después de 24 horas de incubación, los cultivos celulares fueron estimulados con 50ng/mL de IL-17, 10ng/mL de IFN- γ y 100ng/mL de TNF- α . A las 48 horas de estimulación se cosecharon los sobrenadantes y se almacenaron en alícuotas de 500µL que se mantuvieron congeladas a -70°C hasta su uso.

Se determinaron las concentraciones de IL-17, IFN- γ y TNF- α , MMP-1, MMP-2, MMP-9y TIMP-1 en el suero de cada paciente y de individuos control mediante la técnica de ELISA-sándwich, con el uso de kits comerciales (R&D Systems) y siguiendo las instrucciones del fabricante. Se determinaron, también por medio de la técnica ELISA-sándwich, las concentraciones de MMP-1, MMP-2, MMP-9y TIMP-1 en los sobrenadantes de los cultivos de monocitos no estimulados (basales) y estimulados con IL-17, IFN- γ y TNF- α .

Para el análisis estadístico se utilizaron las pruebas de chi-cuadrada para diferencias entre proporciones, prueba de ANOVA o Kruskal-Wallis para diferencias entre grupos, con análisis post hoc con la prueba de Dunns o de Mann-Whitney para comparaciones entre ambos grupos de estudio. Todos los análisis fueron realizadas a dos colas y se fijó un valor de $p=0.05$ para significancia estadística. Los análisis se realizaron con el paquete estadístico GraphPad Prism versión 7.0.

4. RESULTADOS

Se reclutaron 60 pacientes con psoriasis y 60 pacientes controles sanos. 48% y 55% correspondieron al sexo femenino y la edad media fue de 53 años y 52 años para casos y controles, respectivamente. En cuanto a las comorbilidades, hubo diferencias en el número de personas con diabetes mellitus, hipertensión arterial y dislipidemia, siendo más frecuentes en el grupo de personas con psoriasis. No hubo diferencias entre grupos en los parámetros de laboratorio realizados. El PASI promedio fue de 4.3 puntos, rango de 2.2 a 7.4. En cuanto a los medicamentos, el grupo de pacientes con psoriasis tuvieron más ingesta de hipoglucemiantes orales y anti-hipertensivos que el grupo control; no hubo diferencias en los otros medicamentos estudiados [Tabla 1].

Concentraciones de biomarcadores en suero

En comparación con las concentraciones detectadas en el suero de los sujetos control, los pacientes con psoriasis presentaron niveles séricos significativamente más elevados de TNF- α (480.9 vs 420 pg/mL, $p=0.0073$), IFN- γ (770.6 vs 652.9 pg/mL, $p=0.0403$) e IL-17 (1503 vs 707.1 pg/mL, $p<0.0001$) [Figura 1]. Mientras que los niveles de TNF- α e IFN- γ fueron ligeramente mayores (12.5% y 15.3%, respectivamente) en los pacientes psoriásicos en comparación con las concentraciones detectadas en el grupo control, los niveles de IL-17 fueron hasta un 53% mayores.

De manera similar, las concentraciones séricas de MMP-1 (1505 vs 1091.9 pg/mL, $p=0.0278$) y MMP-9 (1902.8 vs 1666.5 pg/mL, $p=0.0146$) fueron significativamente mayores en los pacientes con psoriasis que en los sujetos control. Por el contrario, las concentraciones de TIMP-1 en el suero de pacientes fueron importantemente menores que en los controles (1207.6 vs 1364.5 pg/mL, $p=0.0116$). No se encontraron diferencias en los niveles de MMP-2 entre el grupo de pacientes con psoriasis y el grupo de sujetos control (703.7 vs 752.6 pg/mL) [Figura 2]. Comparando con los niveles detectados en el grupo control, las concentraciones de MMP-1 se encontraron aumentadas un 24.5% y de MMP-9 de un 13%, sin embargo detectamos una disminución del 14% de TIMP-1. Como consecuencia del aumento de MMP-9 y la disminución importante de TIMP-1, la proporción MMP-9/TIMP-1 resultó 41% mayor en el grupo de pacientes que la calculada en el grupo control (2.2 vs 1.3, $p=0.0020$, respectivamente) [Figura 3].

Concentraciones de biomarcadores en sobrenadantes de cultivos de monocitos

Las concentraciones determinadas en los sobrenadantes de los cultivos de monocitos de pacientes y controles sin estimular (basales) sirvieron como valores de referencia. Las concentraciones basales de MMP-1 producidos por los monocitos de sujetos control fueron significativamente menores a los producidos por los monocitos de pacientes con psoriasis (590 vs 768.5 pg/ml, $p=0.0389$, respectivamente). Los monocitos de ambos grupos, al ser estimulados con TNF- α , IFN- γ e IL-17 durante 48 horas, incrementaron significativamente la síntesis de MMP-1. Los monocitos de los sujetos control produjeron

los mayores niveles de MMP-1 cuando se estimularon con IL-17 (de 590 a 831.8 pg/ml, $p=0.003$), lo que equivale a 1.4 veces la producción basal; mientras que los niveles menores con la exposición al IFN- γ (de 590 a 705.9 pg/ml, $p=0.0067$). **[Figura 4A]**. Los niveles basales de MMP-2 producidos por los monocitos de pacientes con psoriasis fueron mayores a los niveles basales producidos por los monocitos de los sujetos control (2041.4 vs 1518.6 pg/mL, $p<0.0001$). La estimulación tanto de los monocitos de controles como de pacientes con las tres citocinas incrementaron similarmente los niveles basales de MMP-2. Sin embargo, los monocitos de sujetos control produjeron más veces la producción basal (1.5) que las células de los pacientes con psoriasis (1.1 veces), siendo mayormente respondedores a todos los tipos de estimulación **[Figura 4B]**.

Por otro lado, la producción basal de MMP-9 por los monocitos de pacientes también fue mayor a la de los sujetos control (1452.3 vs 800.8 pg/mL, $p<0.0001$). Los monocitos de los sujetos control incrementaron sus niveles basales con la estimulación de las tres citocinas, donde los niveles menores se produjeron con la estimulación con IFN- γ (de 800.0 a 1170.6 pg/mL) y los niveles más elevados con la estimulación con IL-17 (de 800.8 a 1754.76 pg/mL), incrementando la producción basal hasta 2.2 veces. De manera similar, los monocitos de pacientes expuestos a las tres citocinas también incrementaron significativamente los niveles de MMP-9, los menores niveles se produjeron cuando las células se estimularon con TNF- α e IFN- γ , (de 1452.3 a 1955.3 y 2034.1, respectivamente) y los mayores cuando se estimularon con IL-17 (de 1452.3 a 2422.6), incrementando los niveles basales 1.7 veces **[Figura 4C]**.

Interesantemente, las concentraciones basales de TIMP-1 sintetizados por los monocitos de pacientes fueron menores que los niveles producidos por los monocitos de sujetos controles (951.3 vs 1178.3, $p=0.00014$). Los monocitos de sujetos control no modifican la producción de TIMP-1 posterior al estímulo con TNF- α , IFN- γ e IL-17. En contraste, los monocitos de pacientes con psoriasis disminuyen considerablemente la producción de TIMP-1 (de 951.3 a 658.6 pg/ml, $p<0.0001$), 1.5 veces menor a la producción basal cuando son estimulados con IL-17 **[Figura 4D]**.

Finalmente, el cálculo del índice MMP-9/TIMP-1 se realizó en cada uno de los sujetos de estudio. Se observó que el índice MMP-9/TIMP-1 calculado con los niveles basales de ambas moléculas fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con psoriasis que en el grupo de controles (1.3 vs 0.7, $p<0.0001$). En el grupo control, la estimulación con los tres tipos de citocinas incrementaron significativamente dicho índice, el menor se obtuvo con la estimulación con IFN- γ (de 0.7 a 0.9) y el mayor con la IL-17 (de 0.7 a 1.4). De manera similar, en el grupo de pacientes también se observó un incremento significativo en el índice MMP-9/TIMP-1 con las tres citocinas, el menor resultó de la estimulación con TNF- α (de 1.3 a 2.0) y la mayor cuando se estimularon los monocitos con IL-17 (de 1.3 a 3.8) **[Figura 5]**.

5. DISCUSIÓN

Gran cantidad de estudios epidemiológicos desarrollados a nivel mundial han demostrado que la psoriasis está asociada con un incremento en la incidencia de CAD, particularmente con un riesgo aumentado de desarrollar IAM.

La inflamación en la psoriasis no está limitada a las lesiones cutáneas, por el contrario, se considera a la psoriasis como una entidad sistémica en vez de una enfermedad dermatológica únicamente. Prueba de ello es que los pacientes psoriásicos tienen mayor probabilidad de padecer hipertensión, hiperlipidemia, diabetes mellitus tipo II y un incremento en el índice de masa corporal (IMC) y CAD con la presencia del doble de placas coronarias comparados con sujetos sanos.^{4,5} A este respecto, la hipótesis inflamatoria ha ganado gran popularidad en la explicación de fisiopatología de la aterogénesis, ya que se ha observado un incremento en el riesgo de desarrollar CAD en enfermedades inflamatorias crónicas como la psoriasis. De manera que, actualmente se considera que el vínculo entre la psoriasis y la aterosclerosis es el hecho de que ambas condiciones se caracterizan por una respuesta inmune tipo Th1 y activación de Th17, presentando una similitud de mecanismos inmuno-inflamatorios tanto locales como sistémicos implicadas en la formación, progresión y complicación de las placas psoriáticas, pero también de las placas ateroscleróticas.¹² Cabe mencionar que la activación de los mecanismos inflamatorios sistémicos incluye la estimulación de los leucocitos circulantes. Particularmente los monocitos cuando son activados por citocinas pro-inflamatorias como el TNF- α e IFN- γ , entre muchas otras, participan importantemente en la fisiopatología de la psoriasis y en aterosclerosis por su capacidad para sintetizar MMPs. Las metaloproteasas son capaces de degradar la matriz extracelular y cuya alteración en su regulación está relacionada con la fisiopatología de la psoriasis al alterar la migración adecuada de queratinocitos;^{14,15} así como en la fisiopatología de CAD, particularmente en la ruptura de la capa fibrosa cubre las placas ateroscleróticas que es la causa más frecuente de los síndromes coronarios agudos (SICA), incluyendo al IAM. La actividad proteolítica de las MMPs está finamente regulada por proteínas inhibidoras endógenas (TIMPs) que se unen 1:1 con la MMPs, por lo que el balance proteolítico depende de la concentración relativa entre ambas moléculas. Por consiguiente, cualquier estímulo que cause el desbalance MMPs/TIMPs promoverá una degradación excesiva de la matriz extracelular, exacerbando la actividad inflamatoria de las placas psoriásica y la desestabilización y ruptura de las placas de ateroma.¹⁶

Los niveles elevados de MMP-1, MMP-2 y MMP-9 que se detectaron en el suero de pacientes con psoriasis también ya ha sido descritos anteriormente en múltiples estudios relacionados.¹⁷ Por ejemplo, Flisiaket y colaboradores encontraron niveles séricos de MMP1 y su inhibidor TIMP-1 significativamente más elevados en pacientes con psoriasis comparados con controles sin la enfermedad. Estos autores encontraron una relación de los niveles de TIMP-1 con el PASI, no así con los niveles de MMP-1.¹⁸ Myers et al. encontraron niveles significativamente más elevados de MMP-1 y TIMP-1 en suero de pacientes con artritis psoriásica que en controles sin la enfermedad.^{19,20} A diferencia de estos autores, nosotros en este estudio encontramos niveles significativamente disminuidos de TIMP-1 en el suero de los pacientes, lo que contribuyó, junto

con los niveles elevados de MMP-9, al incremento importante del índice MMP-9/TIMP-1 que ha sido previamente relacionado con la desestabilización de la placas ateroscleróticas en pacientes con CAD según describen Cheng y colaboradores.^{21, 22}

Los monocitos son considerados como células con gran plasticidad y adaptabilidad al ambiente en el cuál están inmersos, adquiriendo diferentes capacidades para la síntesis de MMPs y TIMPs. Lo anterior está relacionado a cambios funcionales inducidos cuando éstos son expuestos a diferentes perfiles y concentraciones de citocinas en circulación. En virtud de que la estimulación con TNF- α , IFN- γ y en especial la IL-17 alteraron la síntesis de MMP-1 y MMP-9, mayormente por los monocitos de los pacientes con psoriasis, evidencia un fenotipo funcional alterado (sensibilización o pre-activación) en estos pacientes, como resultado a la exposición previa a los niveles elevados de estas citocinas en circulación que caracterizan tanto a la psoriasis como a la enfermedad aterosclerótica. A este respecto, los niveles séricos elevados de TNF- α , IFN- γ e IL-17 que se detectaron en el presente estudio apoyan esta noción.

Por otro lado, nuestros resultados demuestran que los monocitos de pacientes con psoriasis cuando se estimularon con TNF- α , IFN- γ e IL-17, aumentaron significativamente la síntesis de MMP-1 y MMP-9, además de una disminución significativa del inhibidor TIMP-1, lo que se traduce en un desbalance elevado de MMP-9/TIMP-1. Esto podría significar que cualquier estímulo (infección, daño tisular, inflamación no relacionada con la psoriasis) que genere mayor producción sistémica de estas citocinas podría causar un desbalance MMPs/TIMP-1 capaz de inducir desestabilización de la placa aterosclerótica coronaria presentes en estos pacientes.

El hecho de que el mayor desbalance de MMP-9/TIMP-1 se indujo con la exposición de los monocitos de pacientes con psoriasis a la IL-17, podría sugerir un nuevo blanco terapéutico sistémico que pudiera disminuir el riesgo de desarrollar IAM en estos pacientes, por lo que sería necesario un mayor número de investigaciones que fundamenten esta idea. Sería interesante conocer qué sucede con la expresión de biomarcadores de matriz extracelular, específicamente metaloproteinasas, al estimular monocitos con las tres citocinas al mismo tiempo, ya que simularía de manera más cercana lo que ocurre en un paciente con psoriasis. Además, faltan estudios para corroborar estos hallazgos moleculares con las manifestaciones clínicas de los pacientes en cuanto al desarrollo de eventos coronarios. Sin embargo, este estudio apoya al entendimiento de los mecanismos que correlacionan la inflamación sistémica en los pacientes con psoriasis y los hallazgos epidemiológicos que muestran un aumento en el riesgo cardiovascular,

6. CONCLUSIÓN

Las concentraciones elevadas de citocinas inflamatorias circulantes que caracterizan a la psoriasis parecen inducir una alteración funcional en los monocitos de los pacientes psoriásicos, con respuestas diferenciales a la estimulación adicional con TNF- α IFN- γ especialmente a IL-17 para la producción de MMPs, TIMP-1 e índice MMP-9/TIMP-1, lo que pudiera

contribuir a la desestabilización y ruptura de las placas ateroscleróticas coronarias existentes en pacientes con psoriasis, induciendo el desarrollo de IAM.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med* 2009; 361: 496-509.
2. Espinoza-Hernández CJ, Lacy-Niebla RM, Soto-López ME, Kresch-Tronik NS, Vega-Memije ME. Prevalencia del síndrome metabólico en pacientes con psoriasis. *GacMedMex* 2014; 150: 311-316.
3. Abuabara K, Azfar RS, Shin DB, Neimann AL, Troxel AB, Gelfand JM. Cause-specific mortality in patients with severe psoriasis: A population-based cohort study in the United Kingdom. *Br J Dermatol* 2010;163: 586–592.
4. Miller IM, Ellervik C, Yazdanyar S, Jemec GB. Meta-analysis of psoriasis, cardiovascular disease, and associated risk factors. *J Am Acad Dermatol* 2013; 69: 1014-1024.
5. Armstrong AW, Harskamp CT, Armstrong EJ. Psoriasis and metabolic syndrome: A systematic review and metaanalysis of observational studies. *J Am AcadDermatol* 2013; 68: 654-662.
6. Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. Risk of Myocardial Infarction in Patients With Psoriasis. *JAMA* 2006; 296: 1735-1745.
7. Lerman JB, Joshi AA, Chaturvedi A, Aberra TM, Dey AK, Rodante JA, et al. Coronary Plaque Characterization in Psoriasis Reveals High Risk Features Which Improve Following Treatment in a Prospective Observational Study. *Circulation*. 2017; 136: 277-280.
8. Alexandroff AB, Pauriah M, Camp RDR, Lang CC, Struthers AD, Armstrong DJ. More than skin deep: atherosclerosis as a systemic manifestation of psoriasis. *Br J Dermatol* 2009; 161: 1–7.
9. Mehta NN, Azfar RS, Shin DB, Neimann AL, Troxel AB, Gelfand JM. Patients with severe psoriasis are at increased risk of cardiovascular mortality: cohort study using the General Practice Research Database. *Eu HeartJournal* 2010; 31: 1000–1006.
10. González-Gay MA, González-Vela C, González-Juanatey C. Psoriasis: una enfermedad cutánea relacionada con riesgo cardiovascular elevado. *ActasDermosifiliogr* 2012; 103: 595-598
11. Boehncke WH- Epidemiology and potential pathomechanisms of cardiovascular comorbidities in psoriasis: areport from the GRAPPA 2010 annual meeting. *J Rheumatol* 2012; 39: 441-444.
12. Lekic A, Brekalo Z, Kvesic A, Kovacevic M, Baricev-Novakovic Z, Sutic I, et al. *Scand J Immunol* 2017; 86: 65-71.
13. Mezentsev A, Nikolaev A, Bruskin S. Matrix metalloproteinases and their role in psoriasis. *Gene* 2014; 540: 1–10.
14. Starodubtseva NL, Sobolev VV, Soboleva AG, Nikolaev AA, Bruskin SA. Expression of genes for metalloproteinases (MMP-1, MMP-2, MMP-9, and MMP-12) associated with psoriasis. *Genetika* 2011: 1254-1261.

15. Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, Crowther M, Jones L, Bell PRF, Thompson MM. Increased Matrix Metalloproteinase-9 Activity in Unstable Carotid Plaques A Potential Role in Acute Plaque Disruption. *Stroke* 2000;31:40-47.
16. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased Expression of Matrix Metalloproteinases and Matrix Degrading Activity in Vulnerable Regions of Human Atherosclerotic Plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493–2503.
17. Caiazzo G, Fabbrocini G, Di Caprio R, Raimondo A, Scala E, Balato N, Balato A. Psoriasis, Cardiovascular events, and Biologics: Lights and Shadows. *Front Immunol* 2018; 9:1668.
18. Flisiak I, Porebski P, Chodynicka B. Effect of Psoriasis Activity on Metalloproteinase-1 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 in Plasma and Lesional Scales. *Acta Derm Venereol* 2006; 86: 17–2.
19. Myers A, Lakey R, Cawston TE, Kay LJ, Walker DJ. Serum MMP-1 and TIMP-1 levels are increased in patients with psoriatic arthritis and their siblings. *Rheumatology* 2004; 43: 272–276.
20. Giannelli G, Erriquez R, Iannone F, Marinosci F, Lapadula G, Antonaci S. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 levels in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22: 335–338.
21. Chang M, Hashimi S, Mao X, Zeng QT. Relationship of adiponectin and matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor or metalloproteinase-1 ration with coronary plaque morphology in patients with acute coronary syndrome. *Can J Cardiol* 2008;24:385-390.
22. Springall R, Amezcua-Guerra LM, Gonzalez-Pacheco H, Furuzawa-Carballeda J, Gomez-Garcia L, et al. Interferon-Gamma Increases the Ratio of Matrix Metalloproteinase-9/Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 in Peripheral Monocytes from Patients with Coronary Artery Disease. *PLoS ONE* 2013;8: e72291.

8. TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Datos demográficos de ambos grupos. ns: no significativo

	CONTROLES n=60	CASOS n=60	VALOR p
Edad, mediana (IQR 25-75)	52 (45 - 58)	53 (44 - 59)	ns
Mujeres, n(%)	33 (55)	29 (48.3)	ns
IMC, mediana (IQR 25-75)	27.2 (24.6 - 30.0)	29.1 (26.1 - 33.0)	0.0246
Factores riesgo cardiovascular, n(%)			
Diabetes mellitus	1 (1.85)	11 (20)	0.004
Hipertensión	0 (0)	9 (16.4)	0.0028
Dislipidemia	1 (1.85)	13 (23.6)	0.0009
Tabaquismo	5 (9.4)	13 (23.6)	ns
Laboratorios, mediana (IQR 25-75)			
Proteína C Reactiva mg/dL	0.166 (0.092 - 0.379)	0.250 (0.116 - 0.467)	ns
Glucosa, mg/dL	101.0 (95.0 - 108.5)	102.0 (93.5 - 116.5)	ns
Creatinina, mg/dL	0.800 (0.675 - 0.955)	0.820 (0.715 - 0.920)	ns
Colesterol Total, mg/dL	190.0 (171.5 - 226.0)	188.0 (164.0 - 214.5)	ns
LDL, mg/dL	118.0 (90.0 - 135.5)	112.0 (96.0 - 135.5)	ns
HDL, mg/dL	41.0 (35.5 - 50.5)	39.0 (34.5 - 46.0)	ns
Triglicéridos, mg/dL	162.0 (115.5 - 250.5)	144.0 (104.0 - 215.5)	ns
PASI	0 (0)	4.3 (2.2 - 7.4)	
Comorbilidades, n(%)			
Cardiopatía	0 (0)	0 (0)	ns
Hipotiroidismo	0 (0)	6 (11)	0.0294
Otras	2 (3.7)	5 (9.1)	ns
Medicación			
Anti-hipertensivos	1 (1.85)	10 (18.2)	0.0110
Hipoglucemiantes orales	1 (1.85)	9 (16.4)	0.0198
Insulina	0 (0)	2 (3.7)	ns
Hipolipemiantes	0 (0)	4 (7.3)	ns
Esteroides sistémicos	0 (0)	0 (0)	ns
Anti-inflamatorios	0 (0)	1 (1.85)	ns
Anti-agregantes	0 (0)	4 (7.3)	ns

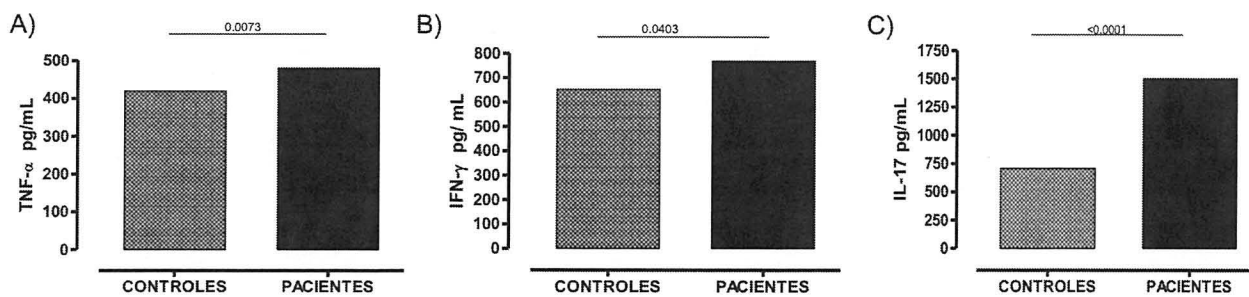


Figura 1: Concentraciones de TNF- α (A), IFN- γ (B) e IL-17 (C) determinadas en el suero de pacientes con psoriasis y sujetos control. Los valores están expresados en medianas. Significancia estadística $p=0.05$.

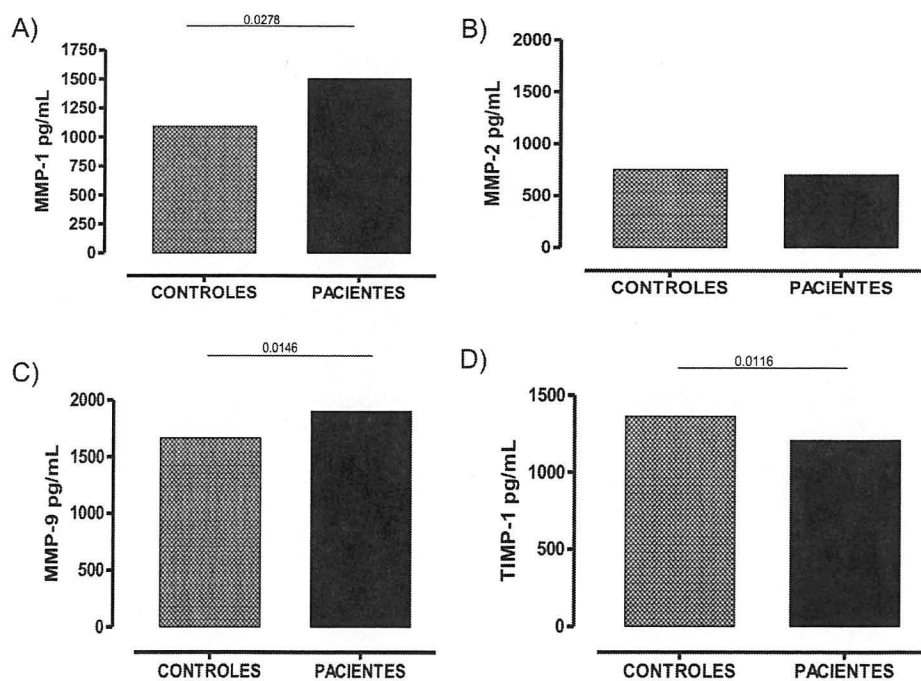


Figura 2: Concentraciones de MMP-1 (A), MMP-2 (B), MMP-9 (C) y TIMP-1 (D) determinadas en el suero de pacientes con psoriasis y sujetos control. Los valores están expresados en medianas. Significancia estadística $p=0.05$.

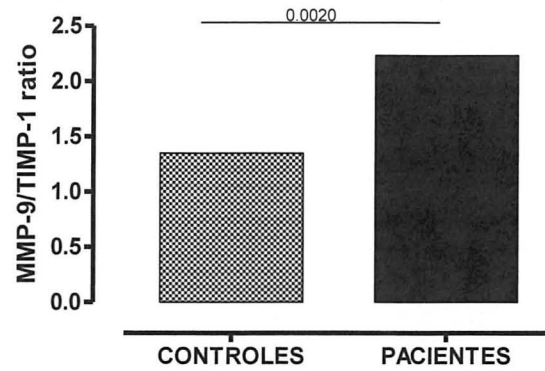


Figura 3: Proporción MMP-9/TIMP-1 calculado con las concentraciones detectadas en el suero de pacientes con psoriasis y con sujetos control. Los valores están expresados en medianas. Significancia estadística $p=0.05$.

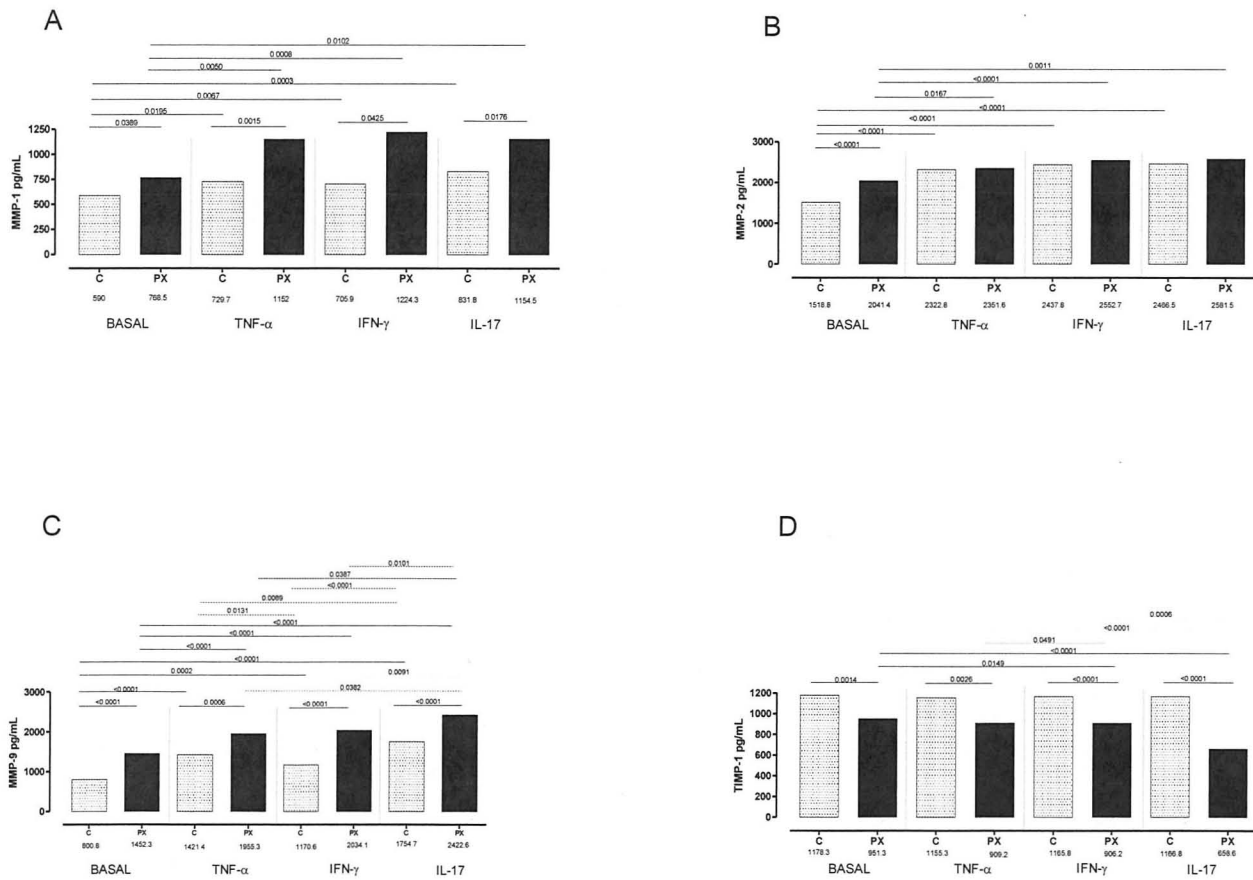


Figura 4: Concentración de MMP-1(A), MMP-2 (B), MMP-9 (C) y TIMP-1 (D) en el sobrenadante de cultivos de monocitos de pacientes con psoriasis y sujetos control estimulados con TNF- α , IFN- γ e IL-17. Los valores están expresados en medianas. Significancia estadística $p=0.05$.

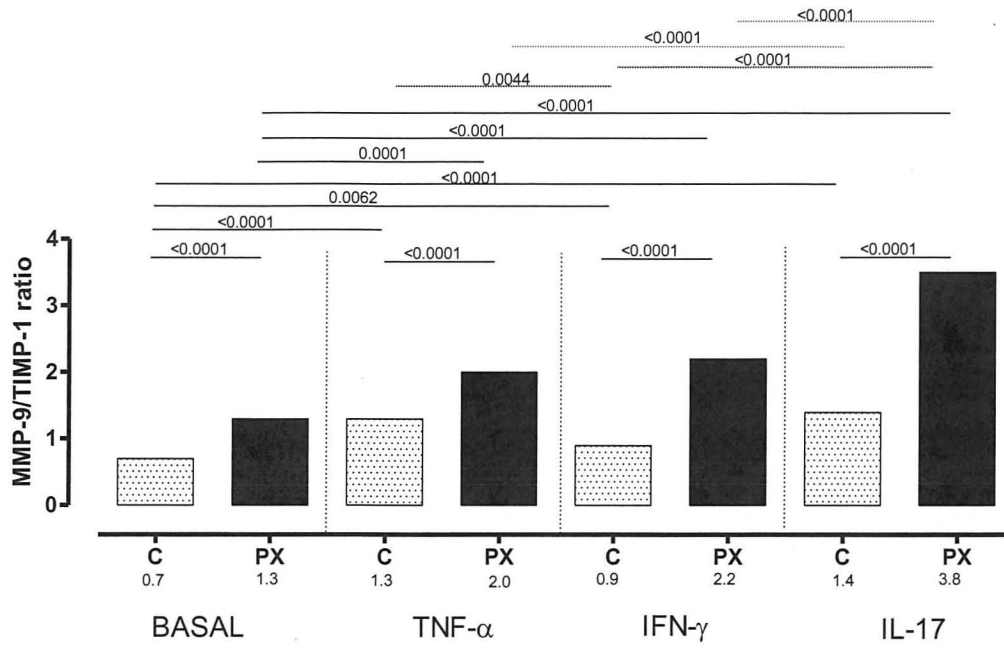


Figura 5: Proporción MMP-9/TIMP-1 en sobrenadante de cultivos de monocitos de pacientes con psoriasis y sujetos control estimulados con TNF- α , IFN- γ e IL-17. Los valores están expresados en medianas. Significancia estadística $p=0.05$