



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD.**

**CAMPO DE CONOCIMIENTO: INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y EXPERIMENTAL
EN SALUD.**

CAMPO DISCIPLINARIO: FARMACOLOGÍA CLÍNICA.

***“EFECTO DEL TRATAMIENTO DOPAMINÉRGICO EN LA
RESPUESTA INMUNE PERIFÉRICA DE LA ENFERMEDAD DE
PARKINSON”.***

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

PRESENTA:

RAQUEL EUGENIA ESPINOSA CÁRDENAS

TUTORA

DRA. LAURA V. ADALID PERALTA

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE
LA SALUD**

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE, 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

I.	RESUMEN	2
II.	INTRODUCCIÓN	3
1.	<i>Enfermedad de Parkinson</i>	3
1.1	<i>Epidemiología</i>	3
1.2	<i>Fisiopatología</i>	4
1.3	<i>Manifestaciones clínicas</i>	7
1.4	<i>Diagnóstico</i>	9
1.5	<i>Escalas para la evaluación de la enfermedad</i>	11
1.6	<i>Tratamiento</i>	12
1.7	<i>Patología</i>	16
2.	<i>Neurodegeneración y neuroinflamación en la enfermedad de Parkinson</i>	19
2.1	<i>Mecanismos propuestos en la génesis de la neurodegeneración de la enfermedad de Parkinson</i>	19
2.2	<i>Neuroinflamación</i>	20
2.3	<i>Papel de la glía en el desarrollo de la enfermedad de Parkinson</i>	22
2.4	<i>Papel de los linfocitos T en el proceso neuroinflamatorio</i>	23
3.	<i>Respuesta inmune periférica en la enfermedad de Parkinson</i>	25
4.	<i>Receptores de dopamina en células inmunes</i>	26
5.	<i>Efecto del tratamiento dopaminérgico en la respuesta inmune</i>	29
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
IV.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	33
V.	JUSTIFICACIÓN	33
VI.	HIPÓTESIS	34
VII.	OBJETIVOS	34
VIII.	MATERIAL Y MÉTODOS	35
IX.	RESULTADOS	43
X.	DISCUSIÓN	69
XI.	CONCLUSIONES	78
XII.	REFERENCIAS	79
XIII.	ANEXOS	90

I. RESUMEN

La enfermedad de Parkinson (EP) se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia nigra. Fisiopatológicamente, se ha asociado a un proceso neuroinflamatorio, con infiltración de células periféricas del sistema inmune a sistema nervioso central y alteraciones en la respuesta inmune periférica. Se han observado efectos del tratamiento dopaminérgico en células inmunes, ya que éstas expresan receptores a dopamina. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la respuesta inmune en pacientes bajo tratamiento con levodopa y/o pramipexol. Se reclutaron 10 pacientes y 10 controles, se analizaron clínicamente al año y a los dos años de iniciar tratamiento. Se realizaron análisis de poblaciones inmunes por citometría de flujo y determinación de citocinas plasmáticas por ELISA. En la respuesta reguladora, incrementaron células Tregs activas y Tr1, así como células dendríticas tolerogénicas ILT3+ durante el seguimiento. Disminuyeron las células Bregs, B funcionales, células plasmáticas y CD8+regs. En la respuesta proinflamatoria, disminuyeron las poblaciones de células Th1, Th2 y Th17, e incrementaron monocitos no clásicos y clásicos, M1-like y células dendríticas activas HLA-DR+. El tratamiento con pramipexol y levodopa se asoció a incremento de la respuesta reguladora y a disminución de la respuesta proinflamatoria. Levodopa incrementó mediadores de la respuesta proinflamatoria. Los hallazgos de este trabajo sugieren que la administración de la combinación de ambos fármacos en pacientes con EP podría restaurar el balance entre la respuesta proinflamatoria y reguladora, posiblemente contrarrestando la neuroinflamación y de esta forma, mejorar la calidad de vida de los pacientes.

II. INTRODUCCIÓN

1. Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda patología neurodegenerativa más frecuente a nivel mundial después de la enfermedad de Alzheimer. Inicia en la edad adulta, entre los 40 a 60 años, su curso es progresivo y discapacitante (1).

Se conocen diversos factores de riesgo para el desarrollo de la EP, siendo el más importante, la edad; es por ello, que al incrementar el número de adultos mayores también ha incrementado la prevalencia de esta patología. Por otro lado, otros factores de riesgo importantes los constituyen la exposición a pesticidas, solventes y metales (2); además de los factores genéticos como las mutaciones en el gen *PARK2* o en *LRRK2*; que, a pesar de estar asociados a la enfermedad, no se consideran la causa de la forma idiopática de la misma (3).

1.1 Epidemiología

En 2016 se reportó que 6.1 millones de individuos a nivel global presentaron la enfermedad, en comparación con 2.5 millones de personas que la padecían en 1990. En 2016, 52.5% de los pacientes con EP fueron hombres. La prevalencia de la enfermedad incrementa después de los 50 años y cursa con un pico entre los 85 y los 89 años (2). Se ha estimado la prevalencia de la EP entre 0.3 y 1% en mayores de 40 años e incrementa al 2% en mayores de 60 años. En la Figura 1 se observa la prevalencia de la patología a nivel mundial. En México, se ha estimado una incidencia entre 40 a 50 casos por 100,000 personas/año. Así mismo, es la cuarta causa de consulta en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (1).

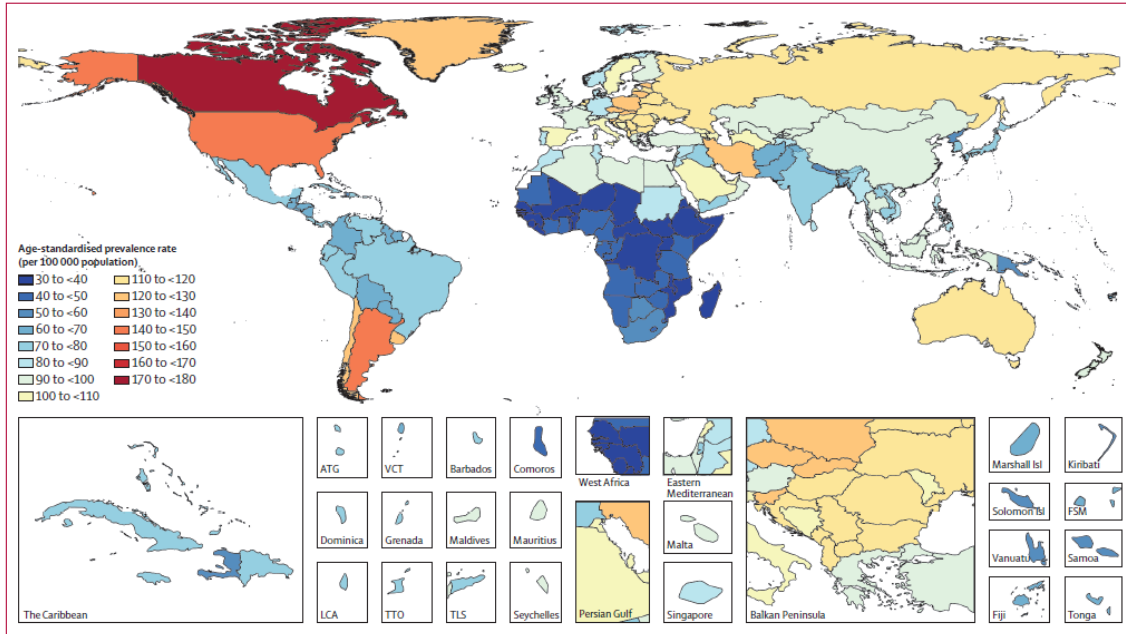


Figura 1: Prevalencia estandarizada por edad de la enfermedad de Parkinson por 100,000 habitantes por localización, en 2016. ATG=Antigua and Barbuda. FSM=Federated States of Micronesia. Isl=Islands. LCA=Saint Lucia. TLS=Timor-Leste. TTO=Trinidad and Tobago. VCT=Saint Vincent and the Grenadines. Tomado de: GBD 2016 Parkinson's Disease Collaborators. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Neurology, 2018.

1.2 Fisiopatología

La EP se caracteriza por la pérdida de neuronas productoras de dopamina, principalmente en la sustancia nigra pars compacta (SNpc) dentro del mesencéfalo. La dopamina (Figura 2) es uno de los principales neurotransmisores dentro del sistema nervioso central. Interviene en múltiples funciones como cognición, comportamiento, control de movimiento, regulación de la función cardiovascular y regulación endocrina. Además, es el precursor de la noradrenalina y adrenalina.

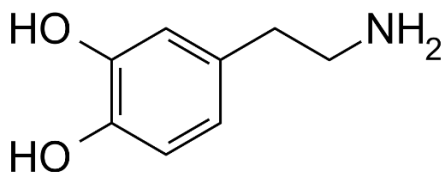


Figura 2: Fórmula química de la dopamina. Tomado de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dopamine#section=2D-Structure>

La dopamina ejerce sus efectos mediante su unión a receptores dopaminérgicos (DR) que se clasifican del receptor D1 al D5. En cuanto a su función motora, este neurotransmisor actúa en dos vías que se proyectan desde el núcleo estriado dorsal. Cada vía tiene efectos opuestos a su contraparte en la ejecución de los movimientos (4). En la vía directa, las neuronas espinales expresan el receptor D1 y se dirigen hacia la sustancia nigra pars reticulata (SNpr) y envían conexiones al globo pálido interno. La función de esta vía es liberar a las motoneuronas superiores de su inhibición tónica. En la vía indirecta, las neuronas espinales expresan receptores tipo D2 y envían sus proyecciones principales al globo pálido externo; se proyectan al núcleo subtalámico y a la porción ventral del tálamo y regresan al globo pálido interno de donde se dirigen a la SNpr y ejercen la función inhibitoria sobre las motoneuronas superiores. Entonces, se puede considerar que la vía indirecta actúa como “freno” en la función normal de la vía directa y de esta manera es posible el control de los movimientos finos. Las vías excitatorias e inhibitorias se describen en la Figura 3.

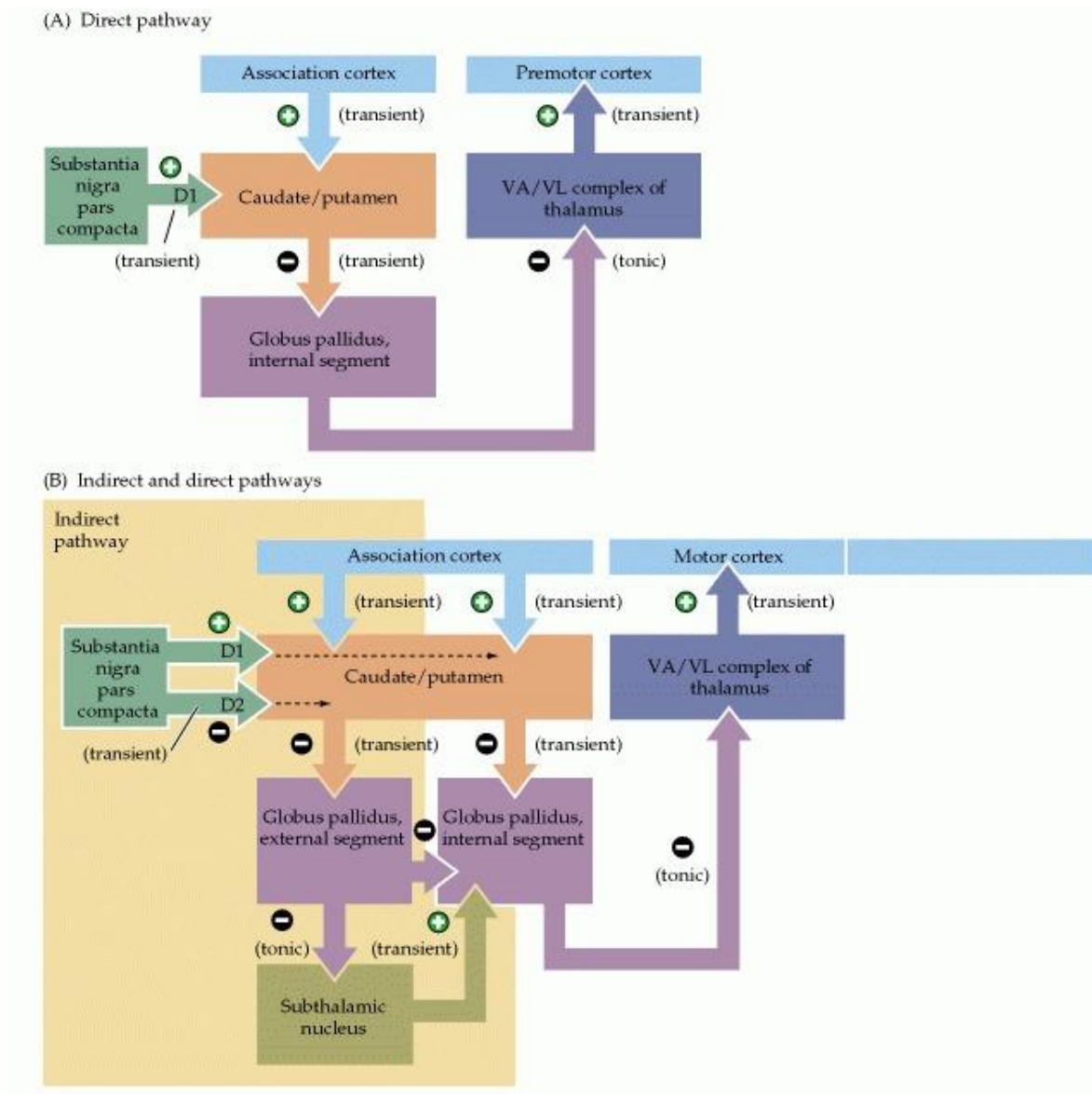


Figura 3: Vías directa (A) e indirecta (B) en el sistema de los núcleos de la base. Tomado de: Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al., editors. Neuroscience. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. Circuits within the Basal Ganglia System. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10847/>

La SNpc envía señales dopaminérgicas excitatorias al globo pálido interno e inhibitorias al globo pálido externo mediante la vía indirecta. En condiciones normales, estos efectos dopaminérgicos disminuyen el flujo inhibitorio de los núcleos de la base e incrementan la excitabilidad de las motoneuronas superiores.

En la EP, la destrucción de neuronas dopaminérgicas de la SNpc ocasiona que la función inhibitoria de los ganglios de la base sea anormalmente alta, por lo que la activación de las motoneuronas superiores y la corteza motora mediante el tálamo no puede llevarse a cabo. La depleción de dopamina en estos circuitos explica la mayor parte de los síntomas en la EP, particularmente la dificultad al iniciar el movimiento y, una vez iniciado, la dificultad para detenerlo (4).

1.3 Manifestaciones clínicas

Tradicionalmente, la EP ha sido considerada como un desorden propiamente motor, sin embargo, ahora se sabe que se trata de una condición compleja que incluye otras manifestaciones no motoras que pueden detectarse en etapas tempranas (5). En la EP se reconocen tres manifestaciones motoras cardinales que pueden presentar los pacientes en quienes se iniciará el protocolo diagnóstico que se describirá posteriormente. Estas manifestaciones cardinales consisten en:

1. Bradicinesia: definida como lentitud de movimiento y disminución en la amplitud o velocidad en movimientos continuos.
2. Rigidez: se define como resistencia al movimiento pasivo, sin que refleje falla en la relajación.
3. Temblor en reposo: se trata de un temblor de 4 a 6 Hz en un miembro en reposo, que se suprime al iniciar movimiento.

Anteriormente se consideraba a la inestabilidad postural como otro de los síntomas cardinales, sin embargo, éste se presenta en fases tardías de la patología y además no se considera como criterio para el diagnóstico según la Sociedad de Trastornos

del Movimiento (Movement Disorder Society - Parkinson's disease (MDS-PD)) (6) (Anexo A).

A partir de estos síntomas cardinales se han propuesto tres subtipos clínicos de la EP:

2. Tremórico dominante
3. Rígido-acinético
4. Dificultad de la marcha con inestabilidad postural

A pesar de que esta clasificación es reconocida, puede que no sea suficientemente útil al evaluar a un paciente, dado que la progresión es variable. Sin embargo, se conoce que el subtipo tremórico dominante tiene mejor pronóstico y una progresión más lenta que los otros tipos (7).

En la EP se pueden encontrar otros síntomas motores concomitantes como hipomimia, disartria hipocinética, disfagia, sialorrea, sacadas hipométricas, visión borrosa, micrografía, distonía, xifosis, escoliosis, dificultad para voltearse en la cama, festinación y congelamiento de la marcha, que incrementan el deterioro en la calidad de vida de los pacientes (8).

Por otro lado, existen síntomas no motores que le otorgan la complejidad sintomática mencionada a la EP; entre ellos, las alteraciones olfatorias (hiposmia), constipación, alteraciones del sueño REM y depresión pueden presentarse antes que los síntomas motores y en pacientes que los padezcan deberá mantenerse vigilancia estrecha ante la aparición de síntomas sugestivos de la enfermedad. Sin embargo, dentro de los síntomas ya mencionados, otros conllevan a mayor discapacidad a los pacientes. Entre ellos destacan la disfunción cognitiva y

demencia que se presentan en fases tardías de la enfermedad. Además, alucinaciones, sueños vívidos, insomnio, fatiga, somnolencia diurna, disfunción autonómica con nicturia y dolor comúnmente asociado a distonías (9).

1.4 Diagnóstico

En la actualidad, el diagnóstico de la enfermedad de Parkinson se realiza clínicamente, aunque el diagnóstico definitivo lo otorga el estudio histopatológico. Anteriormente, el diagnóstico clínico se basaba en los Criterios de Enfermedad de Parkinson del Banco de Cerebros del Reino Unido; sin embargo, estos mismos fueron revisados y actualizados por la MDS-PD (6).

En el Anexo A se describen los criterios de soporte, de exclusión y banderas rojas definidos por la MDS-PD (6).

Una vez que se ha establecido la presencia de parkinsonismo por medio de los síntomas cardinales ya descritos se procede a aplicar los siguientes criterios:

El diagnóstico de la EP clínicamente establecido requiere:

- Ausencia de criterios absolutos de exclusión
- Al menos dos criterios de soporte
- Ausencia de banderas rojas

El diagnóstico de EP clínicamente probable requiere:

- Ausencia de criterios absolutos de exclusión
- Presencia de banderas rojas contrapuestas con criterios de soporte:
- 1 bandera roja – 1 criterio de soporte
- 2 banderas rojas – 2 criterios de soporte

- No se permiten más de dos banderas rojas para esta clasificación

Existen métodos diagnósticos por imagen que pueden llevarse a cabo para establecer un diagnóstico exacto. Estos se utilizan en caso de que el paciente no cumpla los criterios clínicos o, que no cuente con una buena respuesta a tratamiento dopaminérgico.

Entre los estudios de imagen confirmatorios encontramos la resonancia magnética con espectrometría o volumetría; tomografía por emisión de un solo fotón con 123I-FP-CT (DaTscan) en la que se puede observar degeneración de la vía nigroestriatal y la tomografía por emisión de positrones con [18-F]-fluorodopa (Figura 4) (10).

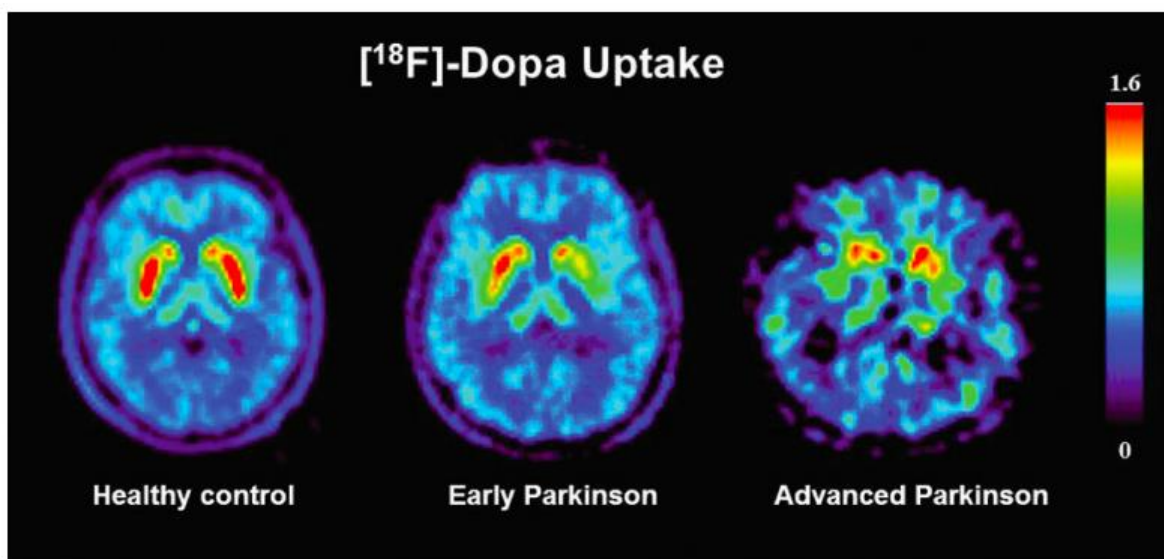


Figura 4: Imágenes axiales de una Tomografía por Emisión de Positrones (^{18}F -DOPA PET) a través del estriado. Se muestra un control sano (izquierda), un paciente con EP idiopática en fase temprana (centro) y un paciente con EP en fase tardía (derecha). Conforme avanza la enfermedad, la captación del radiomarcador es menor. Tomado de: Booth, T. C., Nathan, M., Waldman, A. D., Quigley, A.-M., Schapira, A. H., & Buscombe, J. (2014). The Role of Functional Dopamine-Transporter SPECT Imaging in Parkinsonian Syndromes, Part 1. *American Journal of Neuroradiology*, 36(2), 229–235.

1.5 Escalas para la evaluación en la progresión de la enfermedad

Además de los criterios diagnósticos, en la valoración de pacientes con EP se utilizan dos escalas validadas en las que se determina el estado clínico y la progresión de la patología.

- Movement Disorder Society – Unified Parkinson’s Disease Rate Scale (MDS-UPDRS): La escala MDS-UPDRS es la más ampliamente utilizada para la valoración clínica integral de los pacientes con EP, así como para determinar los beneficios relacionados con el tratamiento. La escala se divide en cuatro partes: La Parte I evalúa las experiencias no motoras de la vida diaria (máximo 13 puntos), la Parte II experiencias motoras de la vida diaria (máximo 13 puntos), la Parte III exploración motora (máximo 33 puntos) y la Parte IV complicaciones motoras (6 puntos máximo) (11) (Anexo B).
- Hoehn y Yahr (H&Y): La escala de Hoehn y Yahr se utiliza para estimar de forma general la disfunción motora y discapacidad en pacientes con EP. De acuerdo con el Movement Disorder Society Task Force Report, la puntuación de la escala se relaciona con las alteraciones de la vía nigroestriatal en neuroimagen, así como con la puntuación del MDS-UPDRS. El estadio 1 clasifica a los pacientes con enfermedad unilateral. En el estado 2 de Hoehn y Yahr, los pacientes se mantienen clínicamente estables, con enfermedad bilateral a pesar de los cambios en el tratamiento. A partir del estado 3 de Hoehn y Yahr, los pacientes presentan mayor inestabilidad motora a pesar de la modificación en el tratamiento o inicio de levodopa, así como mayor riesgo de demencia; además, se ha visto que disminuyen sus tasas de

supervivencia (12). En el estadio 4 los pacientes se encuentran con discapacidad severa, aunque son capaces de mantenerse de pie sin ayuda. Finalmente, en el estadio 5 permanecen en una silla de ruedas o en decúbito si no tienen ayuda (Anexo C).

1.6 Tratamiento

En la práctica clínica, los tratamientos disponibles para la EP son únicamente sintomáticos y aparentemente no revierten o retrasan la progresión de la enfermedad.

Existen cinco clases de fármacos con efecto antiparkinsoniano: levodopa (L-DOPA), agonistas dopaminérgicos (DAs), inhibidores de la monoaminoxidasa tipo B (MAO B), amantadina y anticolinérgicos.

La levodopa y los agonistas dopaminérgicos tienen la finalidad de suplir la ausencia de dopamina en los núcleos de la base. Levodopa lleva a cabo esta función como precursor de dicho neurotransmisor; por otro lado, los agonistas dopaminérgicos actúan sobre receptores de dopamina activando su función. Los inhibidores de la MAO contrarrestan el metabolismo de la dopamina, la amantadina disminuye las discinesias asociadas a levodopa y los anticolinérgicos disminuyen el temblor en reposo.

a) Levodopa: es el tratamiento de elección en pacientes mayores de 65 años y en pacientes con síntomas moderados a severos. Es el precursor inmediato de la dopamina; al ingerirla por vía oral es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica donde es rápidamente captada por neuronas dopaminérgicas y convertida en

dopamina. Las formulaciones de este fármaco se realizan combinándolo con un inhibidor de la descarboxilasa de L-aminoácidos periférica para evitar efectos adversos sistémicos como náusea, vómito e hipotensión ortostática y lograr que la levodopa llegue a sistema nervioso central atravesando barrera hematoencefálica. Los inhibidores de la descarboxilasa más utilizados son: carbidopa y benserazida (13).

La fórmula química de levodopa (Figura 5) es $C_9H_{11}NO_4$, su peso molecular es de 197.19 g/mol, también se le conoce como dihidroxifenilalanina. Se solubiliza en ácido clorhídrico 0.3N, su coeficiente de partición (LogP) es de -2.39 y su pKa de 2.32 (14).

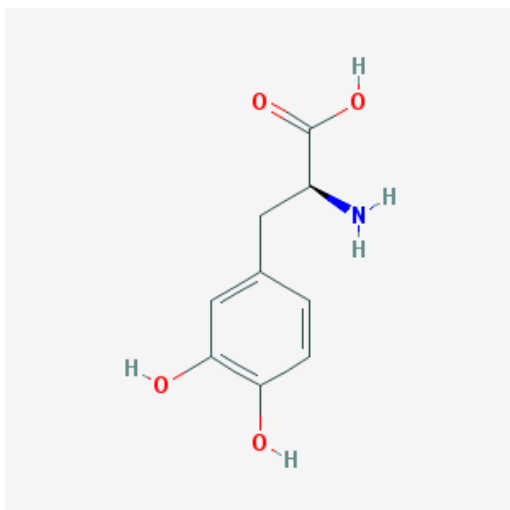


Figura 5: Fórmula química de levodopa. Tomado de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levodopa#section=2D-Structure>

Farmacocinéticamente, la levodopa se absorbe rápidamente en intestino delgado en ayuno, alcanza concentraciones máximas en 15 a 60 minutos, se metaboliza por la catecolmetiltransferasa (COMT) en 3-O-metildopa. Se elimina por vía renal en forma de dopamina y ácido homovanílico y su vida media ($t_{1/2}$) es de alrededor de 1 a 3 horas (13). El tratamiento con levodopa debe de iniciarse con las dosis más

bajas posibles e incrementarla poco a poco; la mayoría de los pacientes tienen adecuado control sintomático con alrededor de 300 a 600 mg/día de levodopa; sin embargo, si un paciente no mejora dramáticamente con dosis de 1000 a 1500 mg/día, se deberá dudar del diagnóstico de EP idiopática. Por otro lado, los efectos adversos más comunes de la levodopa son discinesias, fluctuaciones motoras y disminución del efecto con la misma dosis después de 5 a 10 años de iniciar levodopa, por lo que aún existe el debate entre iniciar el tratamiento con levodopa de forma temprana o retrasarlo hasta que sea completamente necesario. Sin embargo, hay que tener en cuenta que levodopa es más eficaz para el control sintomático que los agonistas dopaminérgicos (15).

b) Agonistas dopaminérgicos: estos fármacos proveen una alternativa segura y equivalente a la levodopa en pacientes con EP menores de 65 años. Se utilizan como monoterapia en fases iniciales de la enfermedad y entre ellos encontramos a los DAs no derivados de ergotamina como pramipexol, ropinirol y rotigotina; cada uno con diferentes afinidades a los cinco distintos tipos de receptores dopaminérgicos. Su administración puede conllevar la presencia de diversos efectos adversos como alucinaciones, edema, náusea y alteraciones en el control de impulsos como comportamiento sexual compulsivo, compras compulsivas y apuestas patológicas hasta en 50% de los pacientes, lo que da lugar a la suspensión de su uso.

Pramipexol: es un potente agonista de receptores D2/D3, se absorbe rápidamente y alcanza concentraciones plasmáticas máximas en 1 a 2 horas; tiene una biodisponibilidad del 90% y se elimina prácticamente sin cambios por vía renal.

La fórmula química del pramipexol (Figura 6) es $C_{10}H_{17}N_3S$. Su peso molecular es de 211.327 g/mol, es soluble en agua a una concentración de 3900 mg/L a 25°C. Su LogP es de 0.4 y tiene dos valores de pka: 4.65 y 10.31 (16).

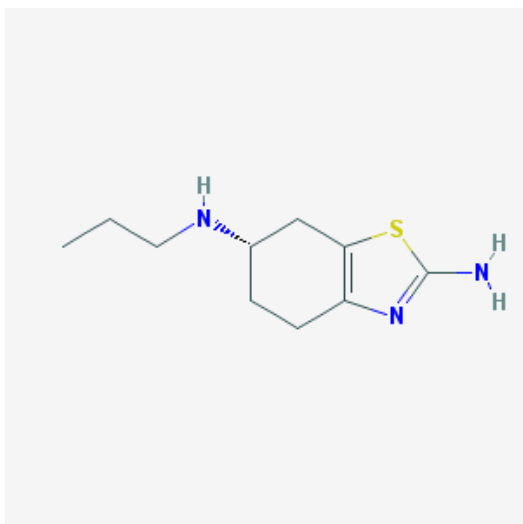


Figura 6: Fórmula química de pramipexol. Tomado de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pramipexole#section=2D-Structure>

La unión de pramipexol a receptores D2-like (D2, D3 y D4) provoca su activación. Estos receptores están acoplados a la proteína G G_{α_i} que directamente inhibe la formación de cAMP al inhibir la enzima adenilato ciclasa y disminuye la activación de la protein cinasa A. Se ha observado que la inhibición de adenilato ciclasa disminuye la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa en los receptores presinápticos, con el consecuente decremento de la secreción de dopamina por parte de las neuronas nigroestriatales. Por otro lado, activa la proteína calcineurina fosfatasa y desfosforila a la proteína DARPP-32. Gracias a esta desforforilación, la activación de los receptores D2-like estimula la locomoción (17).

La dosificación de pramipexol debe iniciar con 0.125 mg tres veces al día e ir aumentando semanalmente la dosis hasta llegar a un máximo de 4.5 mg diarios (18).

Inhibidores de la MAO B: indicados como monoterapia en pacientes con síntomas iniciales y muy leves de EP, en etapas avanzadas se pueden utilizar como coadyuvantes de levodopa. Entre ellos se encuentran: selegilina (dosis: 5 mg dos veces al día) y rasagilina (dosis: 1 mg cada 24h) (19).

Amantadina su mecanismo de acción es incierto, sin embargo, se considera adecuado para pacientes con temblor en reposo como síntoma predominante (dosis: 100-300 mg/día) (20).

Anticolinérgicos: trihexifenidilo (dosis: 5-10 mg/día) y benztropina (dosis: 0.5-2 mg/día). Pueden utilizarse en pacientes con temblor predominante en quienes no sea tan marcada la presencia de bradicinesia o alteraciones en la marcha y sean menores de 65 años (21).

1.7 Patología

La alteración principal que se ha encontrado en cerebros de pacientes posmortem con EP es la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la SNpc que conlleva depleción de dopamina y disrupción de la comunicación entre las vías del tálamo y la corteza motora, lo que se caracteriza clínicamente como parkinsonismo. Al momento en el que se presenta la primera alteración clínica se considera que se han perdido al menos 60% de las neuronas dopaminérgicas en la SNpc (22).

A pesar de que se han dilucidado factores genéticos y ambientales que contribuyen al desarrollo de la EP, aún no se conoce la causa exacta. Sin embargo, se han identificado algunos elementos característicos de la patología como neuroinflamación, estrés oxidativo, así como mal plegamiento y agregación de la proteína α -sinucleína (α -syn) que lleva a la formación de cuerpos de Lewy intra y extracelulares.

En 2003, Braak propuso la hipótesis que la enfermedad de Parkinson idiopática inicia cuando productos de microbios no especificados entran en contacto con neuronas olfatorias o entéricas; lo que promueve la agregación de α -syn, la cual se dispersa por el sistema nervioso central a través del bulbo olfatorio y el nervio vago. Eventualmente, la α -syn alcanza la sustancia nigra y posteriormente la corteza cerebral (Figura 7). Se ha demostrado que los agregados oligoméricos y fibrilares de α -syn son neurotóxicos; además, esta teoría está apoyada clínicamente por la presencia de hiposmia y constipación como síntomas no motores iniciales de la enfermedad, que coinciden con los sitios de entrada descritos por Braak (23).

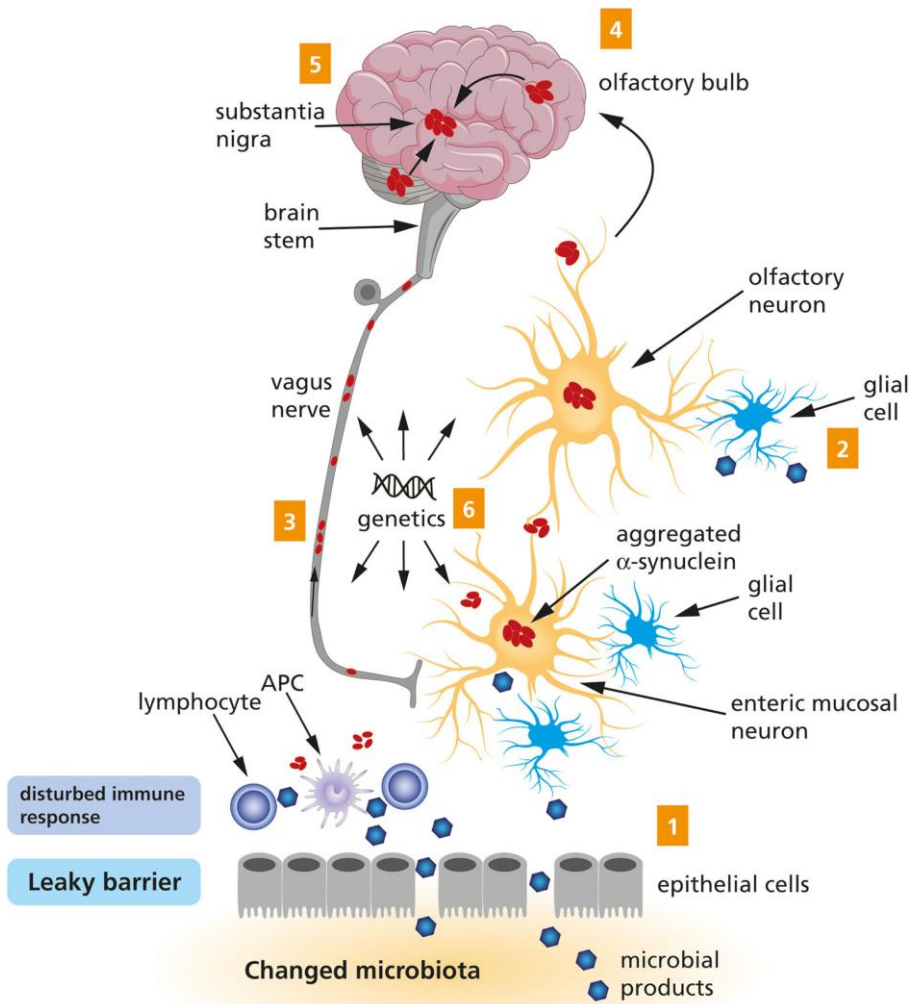


Figura 7: Teoría de Braak. Los agregados de α -syn se dispersan desde las neuronas entéricas u olfatorias hacia el sistema nervioso central a través del bulbo olfatorio o el nervio vago (3-4). Eventualmente los agregados de alfa sinucleína llegan a la sustancia nigra. Tomado de: Carmen D. Rietdijk, Paula Perez-Pardo, Johan Garssen, Richard J. A. van Wezel and Aletta D. Kraneveld. Exploring Braak's Hypothesis of Parkinson's Disease. *Frontiers in Neurology*, February, 2017, volume 8, article 37.

Por otra parte, existen otras teorías que pretenden explicar la degeneración neuronal, entre ellas, deficiencia en la proteólisis, disfunción mitocondrial o metabolismo anormal de hierro (24). Adicionalmente se han identificado anticuerpos dirigidos contra antígenos asociados a la EP, como anticuerpos anti-melanina, α -

syn y gangliósido GM1 (25). Es probable que todas estas teorías contribuyan en mayor o menor medida a la patogénesis de la enfermedad. Sin embargo, una de las teorías más estudiadas y que podría fungir como blanco terapéutico es aquella en la que se menciona que la EP cursa con una base neuroinflamatoria.

2. Neurodegeneración y neuroinflamación en la Enfermedad de Parkinson

2.1 Mecanismos propuestos en la génesis de la neurodegeneración de la enfermedad de Parkinson

La neurodegeneración puede entenderse como el conjunto de factores involucrados en la muerte neuronal; en el caso de la EP, muerte de neuronas dopaminérgicas. En el contexto de esta patología, la conjunción de diversos mecanismos podría explicar el proceso de muerte neuronal. En los pacientes con EP, el estrés oxidativo se considera uno de los factores subyacentes claves para la disfunción celular. Las neuronas dopaminérgicas son proclives a desarrollar estrés oxidativo, dado que enzimas como tirosina hidroxilasa y monoaminoxidasa generan especies reactivas de oxígeno (ROS). Por otra parte, se ha observado que la pérdida de la función de *PARK7* incrementa el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial, lo que conlleva disfunción en los complejos I y III de la cadena respiratoria con deterioro de la respiración mitocondrial y producción de ROS (26).

Las ROS ocasionan degradación de componentes celulares como lípidos, proteínas e incluso ADN, con consecuencias como la peroxidación de lípidos, que ocasiona ruptura de membrana mitocondrial y disfunción de organelos celulares. La pérdida de la integridad de la membrana mitocondrial ocasiona activación de proteínas

proapoptóticas como Bax y Bak, que promueven la formación de un complejo de citocromo C con Apaf-1 y caspasa-9, lo que lleva a la activación de esta última; la cual activa a caspasa-3 que ocasiona fragmentación del ADN y formación de cuerpos apoptóticos con la consecuente muerte celular (27).

A su vez, el estrés oxidativo mitocondrial lleva a la oxidación de dopamina que reduce la actividad enzimática de la glucocerebrosidasa, un marcador de disfunción lisosomal. Se ha considerado que esta disfunción conlleva la incapacidad de degradación de α -syn con formación de agregados de esta proteína que son hallazgos patológicos característicos de la enfermedad y a su vez, se han visto implicados en la disfunción del proteasoma (28).

Por otra parte, el envejecimiento, la exposición a pesticidas, a solventes orgánicos y a monóxido de carbono, juegan un papel muy importante en la génesis de la neurodegeneración, ya que incrementa la vulnerabilidad de las neuronas dopaminérgicas al estrés oxidativo (26).

2.2. Neuroinflamación

La neuroinflamación se define como la respuesta inflamatoria que ocurre dentro del cerebro o la médula espinal. Es mediada por la producción de citocinas, quimiocinas, ROS y segundos mensajeros que son secretados por células residentes del sistema nervioso central (SNC) como la glia (microglia y astrocitos), células endoteliales y células inmunes periféricas. Este proceso puede conllevar el reclutamiento de otras células inmunes, edema, daño tisular y potencialmente, muerte celular. Sin embargo, la neuroinflamación tiene aspectos positivos y

negativos, dependiendo del grado en el que se presente y su finalidad en el proceso fisiológico o patológico que se encuentre en el SNC (Figura 8) (29).

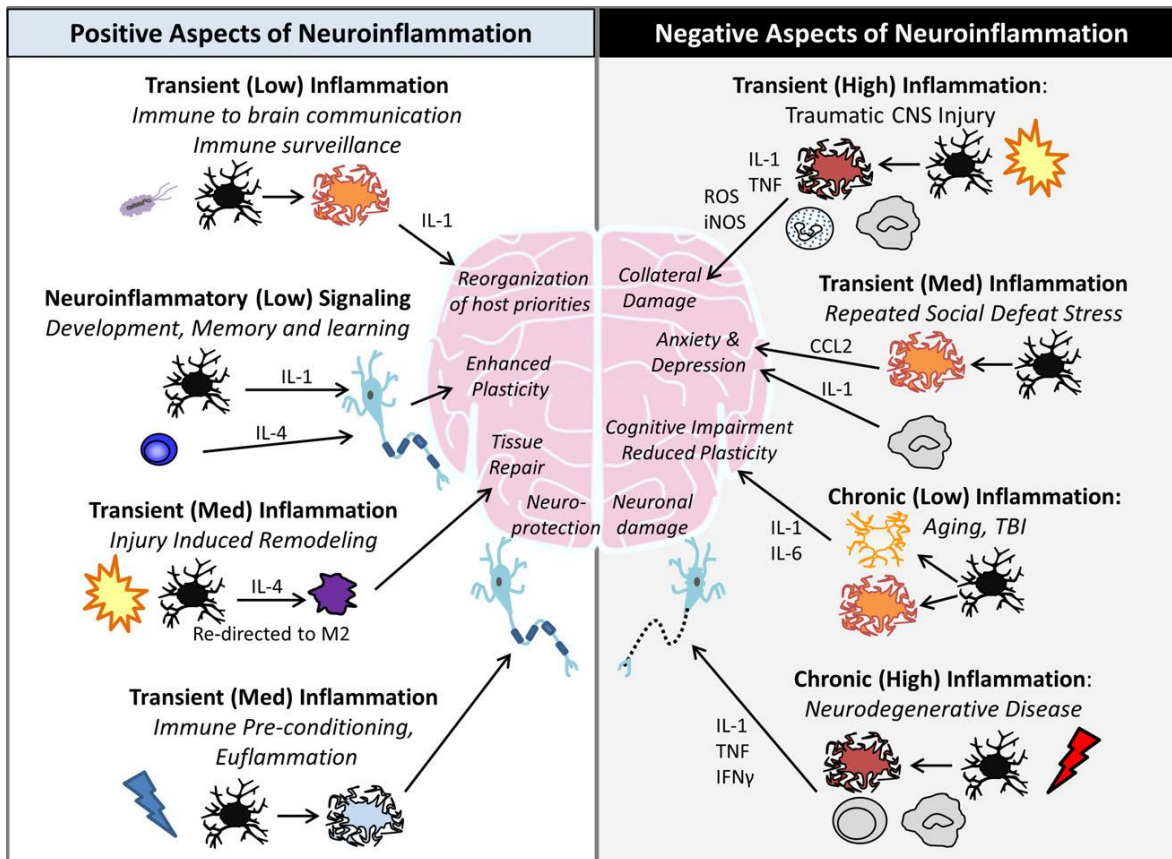


Figura 8: Aspectos positivos y negativos de la neuroinflamación. Izquierda: aspectos positivos de la neuroinflamación como vigilancia inmune, memoria, aprendizaje, remodelación posterior a lesión y pre-condicionamiento inmune. Derecha: aspectos negativos de la neuroinflamación como lesión en SNC, estrés social, envejecimiento y neurodegeneración. Tomado de: DiSabato, D. J., Quan, N., & Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: the devil is in the details. *Journal of Neurochemistry*, 139, 136–153.

Los aspectos positivos de la neuroinflamación pueden observarse en procesos transitorios como comunicación celular, mediada por interleucina IL-1 β , desarrollo de memoria y aprendizaje mediada por la interacción de neuronas y linfocitos productores de IL-4, así como microglia productora de IL-1 β y remodelación tisular posterior a una lesión. En cuanto a los aspectos negativos, la activación de la

microglia conlleva secreción de citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6 y factor de necrosis tumoral (TNF)- α , quimiocinas como CCL2, CCL5 y CXCL1 y ROS, que, en conjunto, provocarán reclutamiento de células inflamatorias periféricas que conllevan lesión tisular, daño neuronal, decremento en la plasticidad neuronal e incluso alteraciones cognitivas (29).

2.3 Papel de la glía en el desarrollo de la enfermedad de Parkinson

Existe numerosa evidencia que demuestra que la inflamación sostenida, la infiltración de linfocitos T y la activación glial son características comunes tanto en pacientes como en modelos animales de la EP y juegan un papel vital en la degeneración de las neuronas dopaminérgicas (30).

En 1988, McGeer y cols. encontraron en tejidos humanos postmortem de SNpc la presencia de microglia activada, sugiriendo por primera vez la participación de la neuroinflamación en la patogenia de la EP, ya que la microglia es considerada la célula inmune residente del SNC por excelencia (31). Estas células pueden activarse hacia dos fenotipos distintos, la microglía M1 que se considera proinflamatoria por las citocinas que secreta, como TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-12 y ROS. Por otra parte, la microglia tipo M2 se considera antiinflamatoria por su capacidad de secretar citocinas como IL-10, factor de crecimiento transformante (TGF) β , IL-4 e IL-13 (32).

La presencia de proteínas mal plegadas (como α -syn) en el microambiente del parénquima cerebral, inducen la activación de la microglia hacia un fenotipo M1 por señalización vía (TLR4). Esta activación a largo plazo induce significativamente la

expresión de citocinas proinflamatorias que contribuyen a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la vía nigroestriatal (33).

También se ha encontrado que, en la EP, los astrocitos juegan un papel importante en la neuroinflamación. Fisiológicamente, estas células se encargan de mantener la homeostasis en la neurona y el microambiente del SNC, sin embargo, se ha observado que, posterior a la activación microglial sostenida, los astrocitos se activan en respuesta a citocinas proinflamatorias amplificando la neuroinflamación y, por tanto, el incremento de la muerte de células dopaminérgicas en la SNpc (34). Por otro lado, se ha observado que las mutaciones en el gen *PARK7* (DJ-1) que se encuentra principalmente en astrocitos, decrementa el ingreso de glutamato a estas células, lo que permite que dicho neurotransmisor se encuentre en mayor concentración de forma extracelular, contribuyendo a la neurodegeneración. También se ha observado que, al incrementar las concentraciones extracelulares de α -syn, esta proteína puede ser endocitada por los astrocitos y ocasionar disfunción en ellos y como consecuencia alteraciones en la barrera hematoencefálica (35).

2.4 Papel de los linfocitos T en el proceso neuroinflamatorio

Además de esta respuesta mediada por células residentes de SNC, en la EP se ha dilucidado que los linfocitos T contribuyen de manera fundamental a la neurodegeneración de células dopaminérgicas. En condiciones fisiológicas, estas células, y otras estirpes inmunes, se encuentran alrededor del parénquima cerebral, en el espacio perivascular que se continúa con el espacio subaracnoideo y que está

en contacto con los vasos linfáticos meníngeos. El espacio perivascular se encuentra en estrecho contacto con la barrera hematoencefálica (BHE), la cual incrementa su permeabilidad por pérdida de uniones estrechas conforme aumenta la edad de los sujetos y esto permite el paso de células inmunes a través de la BHE. Además, se ha encontrado que, durante la neuroinflamación, hay mayor expresión de integrinas en los linfocitos T e incrementa la expresión de la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y de la molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1) en las células endoteliales que conforman la BHE (36).

Se ha demostrado infiltración de células T activadas a la SNpc en modelos murinos y presencia de linfocitos T CD8+ y CD4+ en cortes de SNpc de pacientes postmortem con EP. La activación de células T puede deberse a que antígenos como α -syn sean reconocidos por células presentadoras de antígeno y presentados a linfocitos T naïve que se activarán, proliferarán y finalmente llegarán a sistema nervioso por las vías ya comentadas. En la SNpc se han encontrado predominantemente linfocitos T CD8+ y en menor medida linfocitos T CD4+. De estos últimos, se ha reportado presencia de linfocitos Th1, Th17 y células T reguladoras; los primeros son capaces de producir IFN γ que a su vez activará a la microglia hacia un fenotipo M1. Por otro lado, se ha descrito que las células T reguladoras reprimen la producción de ROS por la microglia inducida por formas nitradas de α -syn, sin embargo, también se ha observado que existe una desregulación en la función de las células T reguladoras en la EP y ésta promueve la activación microglial y por tanto la neurodegeneración de las células dopaminérgicas (37).

3. Respuesta inmune periférica en la Enfermedad de Parkinson

Además de las alteraciones ya mencionadas a nivel de SNC, particularmente en la SNpc, se han descrito cambios en la inmunidad periférica en pacientes con EP, aunque la influencia de estos en la génesis o progresión de la enfermedad no se tiene del todo entendida hasta la fecha.

A nivel periférico se ha reportado que existen alteraciones en linfocitos T CD4+, particularmente decremento en su frecuencia (37), así como reducción del ratio de linfocitos T CD4+:CD8+ debido a que disminuyen los porcentajes de células T cooperadoras (Th) e incrementan las células T citotóxicas (Tc) (38). Sin embargo, se ha observado que la respuesta inmune en pacientes con EP se torna hacia un fenotipo Th1, ya que se demostró que el ratio de células productoras de IL4:interferón (IFN) γ estaba disminuido (39). Por otro lado, se han reportado incrementos en células T de memoria (CD4+CD45RO+) respecto a células T naïve (CD4+CDRA+) (38); lo que sugiere que la inmunidad periférica en la EP consiste en una respuesta previamente activada donde las células Th1 productoras de IFN γ deben jugar un papel importante durante la progresión de la patología.

En cuanto a las células T reguladoras, existe controversia entre dos estudios (Chen, 2018 y Rosenkranz, 2007): en uno de ellos, donde se incluyeron 30 pacientes y 33 controles, las células CD4+FOXP3+ se encontraron disminuidas en pacientes con la EP (36), sin embargo, en otra determinación de células CD4+CD25+CD127- en 113 pacientes y 96 controles, no se encontró diferencia significativa en esta población entre grupos (40). Cabe destacar que en ambos estudios los pacientes recibían tratamiento con levodopa.

Nuestro grupo de investigación recientemente encontró en pacientes con EP vírgenes al tratamiento, una disminución significativa de subpoblaciones de células T reguladoras entre éstos y controles pareados (41), lo que indica que la patología puede inducir alteraciones en la respuesta inmune reguladora sistémica y esto podría tener alguna implicación a nivel central.

Finalmente, se ha reportado que existe disminución en las poblaciones de células B y células Natural Killer (NK) en pacientes con EP, así como de células dendríticas (42); sin embargo, existen otros fenotipos inmunes que no han sido estudiados, principalmente los reguladores.

4. Receptores de la dopamina en células inmunes

En la actualidad, la dopamina se considera uno de los principales neurotransmisores del SNC, y se involucra en distintas funciones como cognición, comportamiento, control del movimiento, regulación endocrina y de la función cardiovascular. Se considera que las células nerviosas son su principal fuente, sin embargo, ahora se sabe que los linfocitos y otras células inmunes son capaces de sintetizar y secretar dopamina (43).

Como ya se mencionó; se conocen cinco tipos de receptores dopaminérgicos, nombrados D1R, D2R, D3R, D4R y D5R que se agrupan en dos familias: D1-like y D2-like. Se ha encontrado que la mayor parte de las células del sistema inmune expresa estos receptores.

Los receptores D1-like incluyen a D1R y D5R. Estos se acoplan a proteína $G\alpha$ s activan la vía adenilato ciclasa y a su vez el incremento de cAMP y posteriormente

la fosforilación de la proteína DARPP-32, lo que conlleva la inhibición de la proteína fosfatasa-1 (PP-1) e incremento en las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} con la consecuente fosforilación del factor de transcripción CREB. Esta vía se ha visto implicada en la inhibición de la proliferación y citotoxicidad de linfocitos T CD4+ y CD8+ (Figura 9) (17)(44)(45).

La familia de receptores D2-like incluye a D2R, D3R y D4R, que al unirse a la proteína $G_{\alpha i}$ inhiben la producción de cAMP con la consecuente desfosforilación de la proteína DARPP-32 y reducción del factor de transcripción CREB, que se ha asociado a un efecto regulador en linfocitos T, lo que sugiere modulación de los linfocitos T mediante la acción de dopamina en receptores D2-like y en la vía cAMP-CREB (Figura 9) (17)(45).

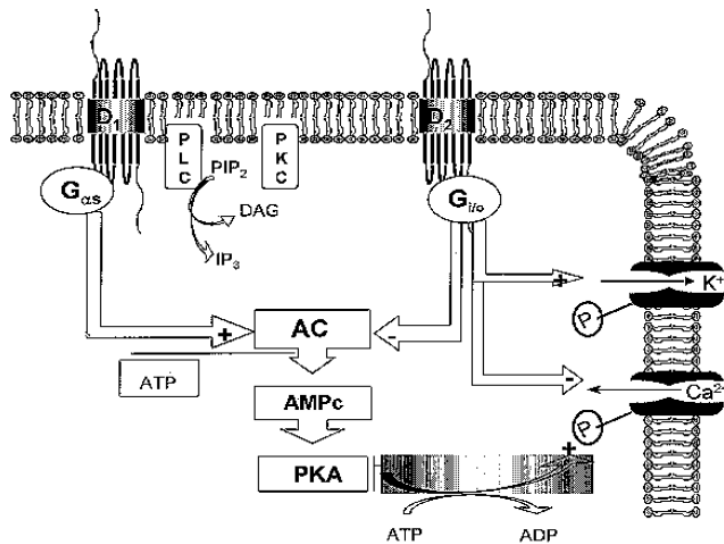


Figura 9: Mecanismos de transducción de señales acoplados a las familias D1 y D2 de receptores dopaminérgicos. AC, adenil ciclasa; AMPc, monofosfato cíclico de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina; ADP, difosfato de adenosina; DAG, diacilglicerol; IP3, 1,4,5-trifosfato de inositol; PIP2, 4,5-difosfato de fosfatidilinositol; PKA, cinasa de proteína activada por AMPc; P, fosforilación; PKC, cinasa C de proteína. PLC, fosfolipasa C. Tomado de: Bahena Trujillo, R., Flores, G., & Arias-Montaño, J. A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el SNC. *Revista Biomédica*, 11(1), 39–60. Retrieved from <http://revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/218/230>.

La presencia de los cinco tipos de receptores dopaminérgico está absolutamente demostrada en células inmunes. La estimulación o bloqueo de estos receptores es clave en la función que ejercen las células inmunes.

La expresión de los receptores D3R y D5R es estable y siempre detectable en los leucocitos de todos los individuos, mientras que la expresión de D2R y D4R es variable. La expresión del receptor D1R ha sido demostrada en células T efectoras y células T reguladoras, células dendríticas, macrófagos y microglia. En células B se ha encontrado mayor expresión de receptores D2R-D5R que en otras células inmunes.

Se ha demostrado que los receptores D2R/D3R son capaces de inducir la activación de células T mediante dopamina. Así mismo, se sabe que la activación de estos receptores estimula la secreción de citocinas antiinflamatorias como IL-10. Por otra parte, la activación de receptores D1R/D5R conlleva secreción de citocinas proinflamatorias como $TNF\alpha$ (46).

La dopamina ejerce una función autocrina/paracrina en células T reguladoras. La estimulación de receptores D1-like en estas células induce su regulación a la baja y decreta la producción de IL-10 y $TGF\beta$ (43).

El conocimiento de la modulación de células inmunes a través de la acción de dopamina mediante sus receptores confiere la posibilidad de modificar la respuesta inmune a través del tratamiento dopaminérgico para la enfermedad de Parkinson (principalmente levodopa y agonistas dopaminérgicos como pramipexol).

5. Efecto del tratamiento dopaminérgico en la respuesta inmune

El tratamiento de la EP se ha considerado puramente sintomático. Sin embargo, tras el descubrimiento de la presencia de receptores dopaminérgicos en las células inmunes, se ha intentado entender el efecto farmacológico de levodopa y agonistas dopaminérgicos en la respuesta inflamatoria. De esta manera, se podrían descubrir otros mecanismos que pudieran contribuir a la mejoría clínica en estos pacientes.

Como se ha comentado, la levodopa es la piedra angular en el tratamiento de la EP y se han demostrado sus efectos en el sistema inmune, como disminución de células esplénicas productoras de $INF\gamma$ en un modelo murino de EP tras cursar con tratamiento sostenido (47). De forma contraria, otros estudios han demostrado que levodopa incrementa la respuesta proinflamatoria. En 29 pacientes con EP, tratados con levodopa, se observó incremento significativo de las células NK aunque contrastantemente, se observó disminución de las células Th1 (48). Por otro lado, se encontró que la administración de levodopa a 60 pacientes incrementó las concentraciones plasmáticas de $TNF\alpha$ (49) y de forma interesante, se encontró que carbidopa (inhibidor de la descarboxilasa de L-DOPA) periférica que se administra junto con levodopa) bloquea la expresión de CD25 y CD69 en linfocitos T CD4+ y CD8+; inhibiendo de esta forma su proliferación (50). Los hallazgos anteriores demuestran que levodopa es capaz de inducir una respuesta proinflamatoria, sin embargo, también puede ocasionar disminución de células inmunes y este efecto pudiera ser dosis dependiente (46).

Es poco común encontrar pacientes con monoterapia basada en agonistas dopaminérgicos, sin embargo, existen modelos murinos que describen el efecto

antiinflamatorio de estos fármacos. En un estudio, se indujo lesión de la SNpc en ratones “wild type” (WT) mediante la administración de 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) y posterior a la administración de quinipirole (agonista dopaminérgico de receptores D2R) y se observó disminución de las citocinas IL-1 β , TNF α e IL-6 en muestras de tejido de SNpc (51).

El agonista dopaminérgico más empleado en la actualidad es el pramipexol. Existen estudios que demuestran el efecto antiinflamatorio de este fármaco en modelos murinos. Uno de ellos demostró que durante la administración simultánea de MPTP y pramipexol, se presentó supervivencia de neuronas dopaminérgicas (tirosina hidroxilasa+ (TH+)) en cortes de putamen y núcleo caudado debido a que el efecto del tóxico fue antagonizado por pramipexol (52). También se demostró disminución significativa de edema subcutáneo, lesión tisular e infiltración de neutrófilos a las 24 horas de la administración de pramipexol en ratas a las que se indujo previamente inflamación (53). Por otro lado, se ha demostrado el efecto antioxidante del pramipexol en un cultivo de neuronas dopaminérgicas (MES 23.5) tratadas con 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) (tóxico que induce depleción de neuronas dopaminérgicas) y pramipexol, en las que se encontró incremento celular de glutatión, glutatión peroxidasa y catalasa (54).

Además, el efecto antiinflamatorio del pramipexol ha sido demostrado en otras patologías, como en un modelo de encefalitis autoinmune experimental (EAE), en el que después de 40 días de administración de pramipexol 1mg/kg/día, se observa la disminución en la producción de citocinas proinflamatorias IL-17, IL-1 β y TNF α en nódulos linfáticos (55). En un modelo murino de depresión inducida por LPS, se

encontró que la administración de pramipexol en dosis de 1mg/kg/día por 7 días disminuyó las concentraciones plasmáticas de IL-1 β y los síntomas relacionados con la depresión (56).

Lo anteriormente mencionado demuestra que pramipexol cuenta con efectos antiinflamatorios tanto a nivel central como en células inmunes periféricas, que podrían contrarrestar el efecto proinflamatorio del tratamiento con levodopa.

En la mayor parte de los pacientes con EP se administra tratamiento combinado, el cual ha mostrado también efectos sobre las células inmunes periféricas como disminución de linfocitos CD4+CD25+ en pacientes con EP tratados con pramipexol y levodopa. También se ha reportado un decremento en concentraciones plasmáticas de TNF α , IL-6 e IL-8 (57). Otro estudio mostró que, en 56 pacientes tratados con levodopa o agonistas dopaminérgicos, los fenotipos Th2 y Th17 periféricos se encuentran disminuidos; en cuanto al fenotipo Th1, no se encontraron diferencias entre pacientes y controles (58). Finalmente, en un estudio más, con pacientes tratados con levodopa y pramipexol, se encontró que las células CD11c+HLA-DR+ disminuyen con respecto a los controles y a los pacientes no tratados (59). Lo anterior sugiere que el tratamiento combinado reduce la respuesta proinflamatoria periférica en pacientes con EP.

El estudio de la respuesta inmune reguladora periférica en pacientes bajo tratamiento ha sido escaso. Se ha descrito disfunción de las células T reguladoras a nivel periférico. Se conoce que estas células producen altas concentraciones de catecolaminas (dopamina, noradrenalina y adrenalina). Se ha observado que las

catecolaminas inducen la depleción de células T reguladoras CD4+CD25+ mediante un efecto autocrino/paracrino a través de receptores D1-like (43).

El estudio de las células reguladoras en pacientes con EP bajo tratamiento dopaminérgico mostró que en pacientes que recibieron levodopa y pramipexol no se encontraron diferencias en las células T reguladoras entre pacientes y controles (58). Por otro lado, se encontró que las células T reguladoras activas y naïve se encontraron disminuidas en pacientes tratados con ambos fármacos comparados contra controles (57). Este contraste coincide con lo que previamente fue mencionado en pacientes sin tratamiento (60). Además, nuestro grupo de trabajo encontró que, en pacientes sin tratamiento dopaminérgico, las subpoblaciones de células T reguladoras clásicas, activadas y Tr1 estaban disminuidas respecto a los controles y después de un año, el tratamiento promovió la recuperación de los porcentajes de estas células (61). Finalmente, un estudio reciente demostró que las células CD8+ reguladoras en sangre periférica son decrementadas por acción de dopamina y por el agonista de receptores D1-like SKF-38393 (62).

Por tanto, se ha observado disfunción de células T reguladoras en pacientes con EP que podrían recuperarse posterior al tratamiento dopaminérgico, siendo una clave importante para el control del proceso neuroinflamatorio y de la neurodegeneración.

Como se mencionó con anterioridad, la estimulación de receptores D1-like induce depleción de células reguladoras (43) y los receptores D2-like actúan en forma contraria a los primeros (44), por lo que, es posible que la proliferación de células reguladoras se incremente al estimular los receptores D2-like con pramipexol, ya que este fármaco es un agonista de este tipo de receptores.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EP es uno de los trastornos neurodegenerativos más frecuentes a nivel mundial, con altos índices de discapacidad y deterioro en la calidad de vida en los pacientes que la padecen.

Se conoce que el proceso neurodegenerativo se relaciona en gran medida con la neuroinflamación y por ello el sistema inmune puede jugar un papel muy importante en la patogenia de la enfermedad tanto a nivel central como periférico.

Se han descrito alteraciones inmunes periféricas en los pacientes con EP que pudieran relacionarse con el tratamiento con levodopa y/o pramipexol que reciben los pacientes para el control de su sintomatología.

Sin embargo, aún no se han descrito ampliamente las modificaciones que lleven a cabo los fármacos como levodopa o la combinación de levodopa y pramipexol en las poblaciones inmunes efectoras y reguladoras en estos pacientes, por lo que el conocimiento de la acción de estos fármacos en el sistema inmune nos permitiría regular la respuesta inflamatoria en beneficio de los pacientes con EP.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El tratamiento con levodopa o la combinación levodopa y pramipexol en pacientes con enfermedad de Parkinson modifica la respuesta inmune periférica?

V. JUSTIFICACIÓN

La EP cuenta con una prevalencia mundial de 0.3% en pacientes mayores de 40 años, con una incidencia anual de 8 a 18.6/100,000 personas. El tratamiento

farmacológico ha mostrado eficacia en el control sintomático de la enfermedad. Sin embargo, actualmente se conoce que dicha patología cuenta con una base neuroinflamatoria, además de alteraciones en el sistema inmune periférico. A pesar de que se ha determinado que el tratamiento dopaminérgico modifica las células del sistema inmune periférico, no se ha demostrado el efecto de levodopa o la combinación de pramipexol y levodopa en la respuesta inflamatoria, lo que permitiría el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento que actúen sobre la patogenia de la enfermedad en estos pacientes.

VI. HIPÓTESIS

- H_A : El tratamiento combinado con pramipexol y levodopa incrementa la respuesta inmune reguladora periférica, mientras que levodopa la disminuye en pacientes con EP.
- H_0 : El tratamiento combinado con pramipexol y levodopa no incrementa la respuesta inmune reguladora periférica, mientras que levodopa no la disminuye en pacientes con EP.

VII. OBJETIVOS

Objetivo general

- Determinar el efecto del tratamiento con levodopa o la combinación de pramipexol y levodopa en el estado clínico y en el perfil inmunológico de pacientes con EP a uno y dos años de seguimiento.

Objetivos específicos

- Determinar el estado clínico de los pacientes con EP tratados con pramipexol y/o levodopa a uno y dos años de seguimiento.
- Determinar los fenotipos de células proinflamatorias y reguladoras en pacientes tratados con pramipexol y/o levodopa y controles a uno y dos años de seguimiento.
- Determinar el perfil de citocinas reguladoras y efectoras en pacientes tratados con pramipexol y/o levodopa y controles a uno y dos años de seguimiento.
- Determinar la relación que existe entre la dosis administrada de pramipexol y/o levodopa, el estado clínico y el perfil inmunológico en pacientes y controles con seguimiento a uno y dos años.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS

- *Tipo de estudio*

Se llevó a cabo un estudio piloto, observacional, descriptivo, longitudinal, prospectivo, en una muestra de pacientes con EP tratados con pramipexol y/o levodopa a uno y dos años de seguimiento.

- *Universo del estudio*

Pacientes diagnosticados con EP en diversos estadios clínicos de la enfermedad que acudieron al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez.

- ***Tamaño de muestra***

Este estudio fue piloto por lo que el muestreo fue por conveniencia incluyendo inicialmente a 33 pacientes y 22 controles, sin embargo, durante el seguimiento hubo una considerable pérdida de sujetos de investigación, por lo que se seleccionaron 10 pacientes y 10 controles pareados por edad y sexo.

Los controles fueron sujetos adultos sin enfermedad de Parkinson u otras patologías neurológicas que pudieran tener enfermedades crónico-degenerativas controladas y que no tomaran antiinflamatorios esteroideos.

En la siguiente tabla se describen los criterios de selección de los pacientes.

- ***Criterios de selección***

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Criterios de eliminación
Mayores de 18 años	Menores de edad	Falta de continuidad en el seguimiento del estudio
Diagnóstico de EP idiopática en el INNN	Negativa a participar en el estudio	Suspensión de tratamiento con pramipexol y/o levodopa
Tratamiento con pramipexol y/o levodopa	Comorbilidades crónico-degenerativas no controladas, enfermedades autoinmunes, infecciosas o cáncer	Inicio de tratamiento con esteroides
Parámetros de laboratorio (BH, QS, perfil hormonal, perfil viral) normales	Tratamiento para otras enfermedades neurológicas distintas a la EP.	
Firma de consentimiento informado		

- **Variables del estudio**

Variable	Tipo	Clasificación operacional	Clasificación estadística
Dosis de pramipexol	Independiente	1.5-4.5 mg/día	Cuantitativa discreta
Dosis de levodopa	Independiente	250-1000 mg/día	Cuantitativa discreta
Estado clínico del paciente	Dependiente	UPDRS. (ver Anexo B). Estados de Hoehn y Yahr (ver Anexo C).	Cualitativa Ordinal
Fenotipo inmunológico de poblaciones celulares periféricas	Dependiente	% subpoblaciones de: Linfocitos T reguladores CD8+ reguladores Células B reguladoras Monocitos clásicos, no clásicos e intermedios TH1 TH2 TH17 Células dendríticas	Cuantitativa continua
Perfil de citocinas	Dependiente	Concentración plasmática de : Citocinas proinflamatorias IFN γ , IL-1, IL-4, IL-12, IL-6, IL13, IL-17A, GM-CSF, TNF α .	Cuantitativa continua

Citocinas
antiinflamatorias
IL-10, TGF- β e IL-35.

- ***Material y métodos específicos***

Este estudio deriva de un protocolo de investigación autorizado por el comité de ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez (Anexo D) en el que se analizó el perfil inmunológico en una cohorte de pacientes con EP sin tratamiento. En el presente se estudiaron las variables ya mencionadas en la misma cohorte de pacientes al año y a los dos años de haber iniciado el tratamiento con levodopa y/o pramipexol.

Valoración clínica

Los pacientes fueron tratados por dos años con pramipexol y/o levodopa. Los pacientes tratados con levodopa recibieron una dosis diaria en rango entre 250 – 1000 mg. Los pacientes tratados con pramipexol recibieron una dosis diaria de 1.5 a 4.5 mg. Se realizaron valoraciones clínicas en pacientes y controles al año y a los dos años de seguimiento. Los pacientes fueron valorados con la escala Hoehn y Yahr y tanto pacientes como controles fueron valorados con las escalas UPDRS, Schwab-England (Anexo E) y el inventario de depresión de Beck (Anexo F). Se obtuvieron muestras de sangre periférica de pacientes y controles en ambos momentos del seguimiento y se determinó perfil bioquímico, hormonal, biometría hemática y marcadores de inflamación aguda.

Análisis del fenotipo de poblaciones inmunoregulatoras

En ambos momentos del seguimiento se obtuvieron muestras de sangre periférica de pacientes y controles. Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se obtuvieron por medio del gradiente de Ficoll-Hypaque.

Posteriormente, las células fueron marcadas con anticuerpos específicos para determinar su inmunofenotipo.

El análisis del fenotipo de las diferentes poblaciones inmunes se realizó por citometría de flujo. Para el análisis de las células T reguladoras se definió una región de la expresión de los linfocitos CD4+ contra granularidad de los linfocitos. La misma región se definió para el análisis de células CD8+. Para el análisis de la población correspondiente a las células B reguladoras se definió una región en donde se expresen las células B, igualmente, se definió una región donde se expresan los monocitos para su análisis y para el análisis de células dendríticas se definió una región que expresara éstas en un cuadrante talla contra granularidad.

La definición de cada uno de los fenotipos estudiados se describe en la Tabla 1:

Tabla 1: Definición de fenotipos analizados por citometría de flujo

Fenotipos reguladores	
Células T reguladoras	
Células T reguladoras supresoras	CD4+CD25+FOXP3+CD127-
T regs activas	CD4+CD45RO+FOXP3 ^{HI}
No T regs	CD4+CD45RO+FOXP3 ^{MED}
Resting T regs	CD4+CD45RO-FOXP3 ^{LOW}
Tr1	CD4+CD25 ^{HI} IL-10+
Th3	CD4+CD25 ^{HI} TGFβ+
Células CD8+ reguladoras	
CD8+ citolíticas	CD8+CD56+CD161-
CD8+ regs	CD8+CD28-FOXP3+
CD8+ funcionales	CD8+CD45RO+IL-10+CCR7+

Células B reguladoras

Células plasmáticas	CD19-CD138+
Células plasmáticas productoras de IL-10	CD19-CD138+IL10+
B regs funcionales	CD24+CD38+
B regs funcionales productoras d IL-10	CD24+CD38+IL10+
Células B regs	CD19+CD5+CD1d+FOXP3+IL10+
Células dendríticas tolerogénicas	
B7.H1+DCs	CD11c+B7.H1
SLAM 1+ DCs	CD11c+SLAM 1+
ILT3+ DCs	CD11c+ILT3+
CD205+ DCs	CD11c+CD205+

Monocitos

Monocitos no clásicos	CD16+CD14 ^{LOW}
Monocitos no clásicos productores de IL-12	CD16+CD14 ^{LOW} IL12+
Monocitos no clásicos con expresión de HLA-DR	CD16+CD14 ^{LOW} HLA-DR+
Monocitos no clásicos productores de IL-10	CD16+CD14 ^{LOW} IL10+
Monocitos intermedios	CD16+CD14 ^{HI}
Monocitos intermedios productores de IL-12	CD16+CD14 ^{HI} IL-12+
Monocitos intermedios con expresión de HLA-DR	CD16+CD14 ^{HI} HLA-DR+
Monocitos intermedios productores de IL-10	CD16+CD14 ^{HI} IL-10+
Monocitos clásicos	CD16-CD14 ^{HI}
Monocitos clásicos productores de IL-12	CD16-CD14 ^{HI} IL-12+
Monocitos clásicos con expresión de HLA-DR	CD16-CD14 ^{HI} HLA-DR+
Monocitos clásicos productores de IL-10	CD16-CD14 ^{HI} IL-10+
Monocitos M1-like	CD16 ^{HI} CD14 ^{HI} CD163 ^{LOW} HLA-DR ^{HI} IL12+
Monocitos M2-like	CD16 ^{LOW} CD14 ^{HI} CD163 ^{HI} HL-DR ^{LOW} IL-10+

Fenotipos proinflamatorios**Células dendríticas activas**

HLA-DR+ DCs	CD11c+HLA-DR+
CD40+ DCs	CD11c+CD40+
CD86+ DCs	CD11c+CD86+
CD80+ DCs	CD11c+CD80+

Células T CD4+ proinflamatorias

Células Th1 productoras de IFN γ	CD4+Tbet+IFN γ +
-----------------------------------------	-------------------------

Células Th1 productoras de TNF α	CD4+Tbet+TNF α +
Células Th2 productoras de IL-13	CD4+GATA3+IL-13+
Células Th2 productoras de IL-4	CD4+GATA3+IL-4+
Células Th17 productoras de IL-17	CD4+ROR γ +IL-17+
Células Th17 productoras de IL-6	CD4+ROR γ +IL-6+

Análisis del perfil de citocinas

Para analizar la respuesta proinflamatoria periférica se midieron las siguientes citocinas por ELISA: TNF α , IFN γ , IL-12p70, IL-1 β , IL-4, IL13, IL-6 e IL-17A. También se analizaron las citocinas antiinflamatorias IL-10, TGF- β e IL-35.

- Análisis estadístico

Se realizó el análisis descriptivo de las variables demográficas de pacientes y controles. Se determinaron las frecuencias de género, edad, comorbilidades, síndrome clínico y el tratamiento antiparkinsoniano. Se determinó la media y desviación estándar de las puntuaciones de las escalas UPDRS, Hoehn y Yahr Schwab-England y el inventario de depresión de Beck, fenotipos inmunes reguladores y efectores y citocinas plasmáticas. Se realizó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk para cada variable y para el análisis bivariado se realizó t de Student pareada o no pareada o U de Mann-Whitney o prueba de Wilcoxon según correspondiera. Finalmente se realizaron correlaciones entre los fenotipos inmunes, el perfil de citocinas, el estado clínico de los pacientes (por Hoehn y Yahr y UPDRS) y la dosis de los fármacos recibida. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Graph Pad Prism 7.

IX. RESULTADOS

- Valoración clínica

Los resultados de las variables demográficas y las comorbilidades de pacientes y controles, así como los síntomas no motores en pacientes se muestran en la Tabla 2. En cuanto al tratamiento otorgado a los pacientes, al año, 33.33% tomaban únicamente pramipexol, 38.09% únicamente levodopa y 28.57% tomaban la combinación de ambos fármacos. A los dos años de seguimiento se observó que los pacientes que únicamente recibieron pramipexol representaron sólo el 20%, mientras que 40% tomaron sólo levodopa y el otro 40% la combinación de ambos fármacos.

- Determinación de escalas durante el seguimiento en pacientes y controles

La parte I de la escala UPDRS mostró incremento significativo en pacientes respecto a controles al año y a los dos años de seguimiento. Por otra parte, las escalas UPDRS II, III y Total, así como Shwab-England mostraron incremento significativo en pacientes respecto a controles a la inclusión, al año y a los dos años de seguimiento (Figura 10).

No se encontraron diferencias significativas entre pacientes y controles en la determinación de la escala UPDRS IV y el inventario de depresión de Beck ni a la inclusión, al año o a los dos años de seguimiento.

- ***Determinación de escalas entre pacientes durante el seguimiento***

Respecto a la escala Hoehn y Yahr, no se encontraron diferencias significativas entre los pacientes a la inclusión, al año o a los dos años de seguimiento (2.5 ± 0.816 , 1.7 ± 1.398 y 2.05 ± 0.985 , $p = 0.104$, $p = 0.171$, $p = 0.569$ respectivamente). En las escalas UPDRS III y UPDRS Total se observó disminución significativa en la escala entre pacientes a la inclusión y a los dos años de seguimiento (Figura 10).

Para analizar de forma más detallada el efecto del tratamiento en los pacientes a lo largo del seguimiento se llevó a cabo la estratificación de estos de acuerdo con el tratamiento recibido (levodopa y la combinación de pramipexol con levodopa o solo pramipexol). En cuanto al análisis de las escalas estratificadas por tratamiento (Hoehn y Yahr, UPDRS I, UPDRS II, UPDRS III, UPDRS Total y Shwab-England), se encontró incremento de la puntuación de estas entre pacientes y controles, sin embargo, no se encontraron diferencias entre tratamientos (Figura 11).

No se encontraron diferencias significativas entre pacientes en las escalas UPDRS IV y el inventario de depresión de Beck.

Tabla 2: Variables clínicas, síntomas asociados a la Enfermedad de Parkinson y comorbilidades.

	Inclusión		1 año		2 años	
	Controles (n = 10)	Pacientes (n = 10)	Controles (n = 10)	Pacientes (n = 10)	Controles (n = 10)	Pacientes (n = 10)
Edad[^]	55±11.60	55±10.93	55.5±11.73	56.6±11.15	56.42±10.35	57.6±11.22
Valor de p para Edad		0.860		0.833		0.814
Hombre:Mujer[¥]	50:50	50:50	50:50	50:50	50:50	50:50
Índice de masa corporal (IMC)[^]	26.54±4.51	27.16±5.92	27.55±4.58	27.13±3.62	27.17±4.38	26.87±5.68
Valor de p para IMC		0.795		0.548		0.963
Tiempo de evolución de los síntomas[^]	NA	3.67±2.5	NA	4.67±2.5	NA	5.56±2.65
			Síntomas no motores[¥]			
Sialorrea	NA	20	NA	40	NA	40
Alteraciones del sueño	NA	50	NA	40	NA	40
Hiposmia	NA	50	NA	20	NA	20
Constipación	NA	20	NA	30	NA	30

	Comorbilidades[¥]					
Diabetes mellitus tipo 2	0	20	20	0	20	0
Hipertensión arterial sistémica	10	30	20	30	20	30
Dislipidemia	10	10	20	10	20	10
Síndrome tremórico:acinético[¥]	NA	70:30	NA	80:20	NA	70:30

[^]Datos expresados como el valor promedio \pm DE; [¥]Datos expresados como porcentaje (%)
 NA: No Aplica

Figura 10: Valoración mediante escalas durante el seguimiento

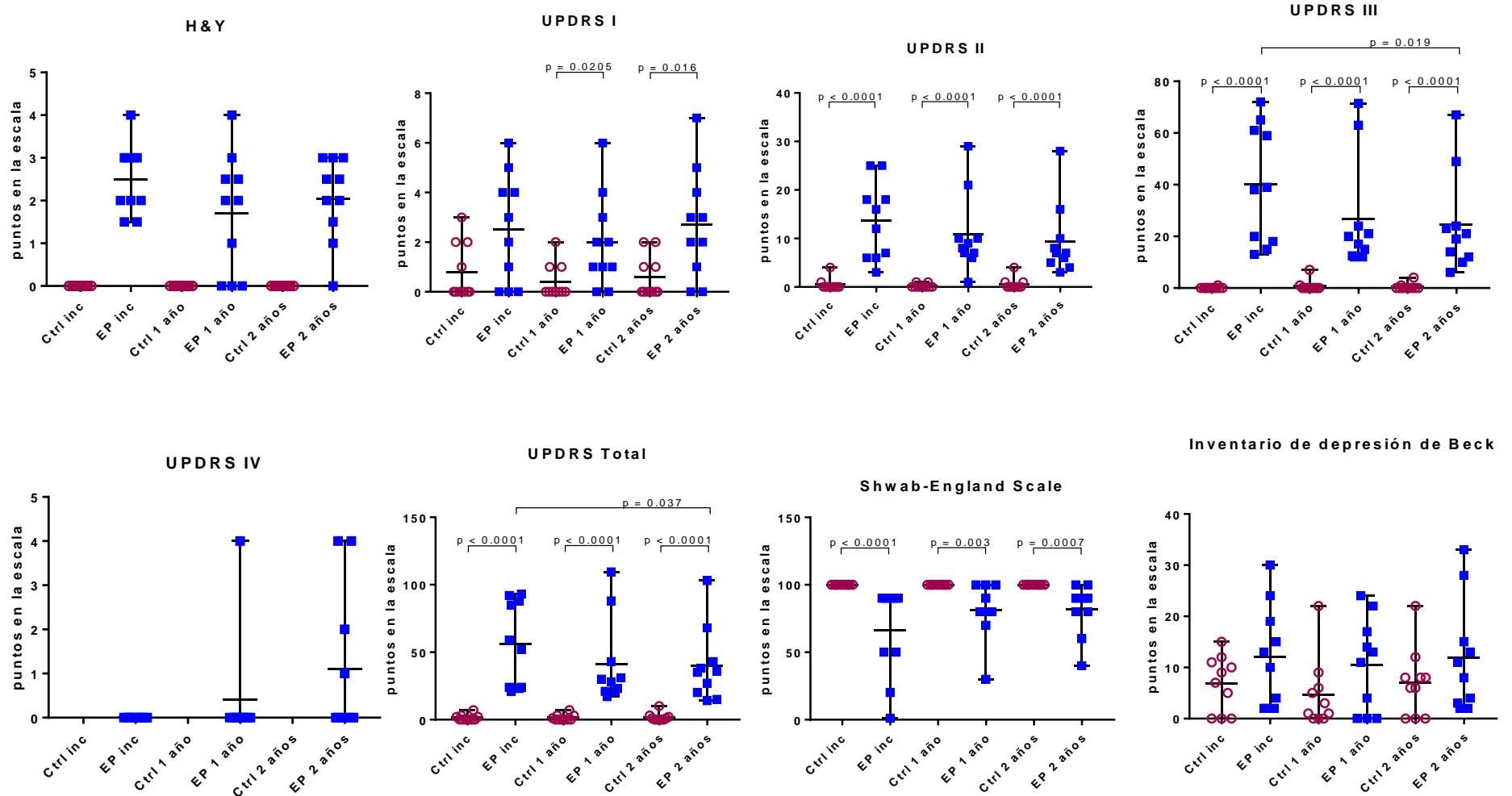


Figura 10. Escalas durante el seguimiento en pacientes y controles Media con rango de las escalas H&Y, UPDRS I, UPDRS II, UPDRS III, UPDRS IV, UPDRS Total y escala de Shwab-England e inventario de depresión de Beck entre pacientes y controles a lo largo del seguimiento.

Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 11: Escalas estratificadas por tratamiento

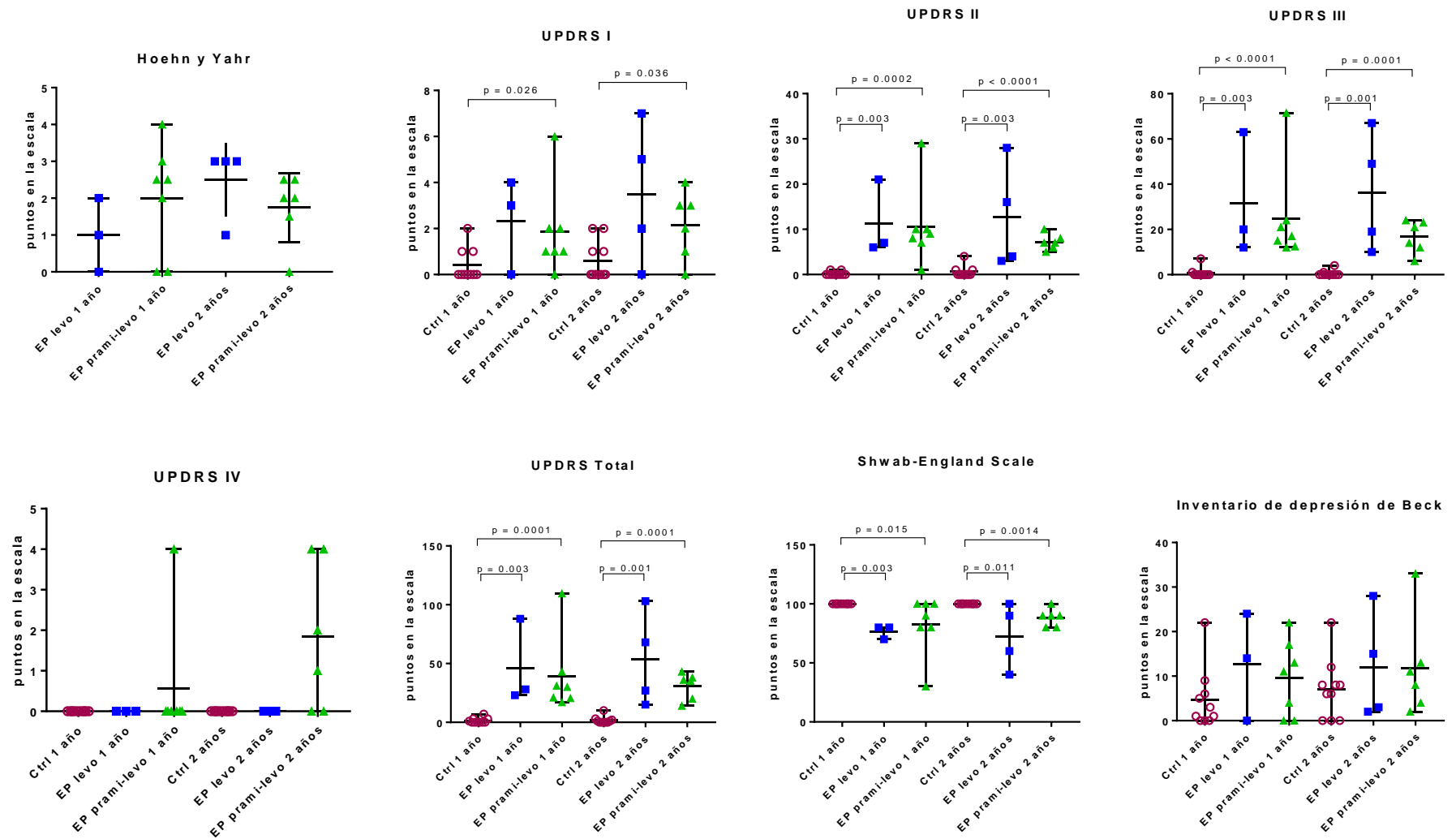


Figura 11. Escalas estratificadas por tratamiento. Media con rango de las escalas H&Y, UPDRS I, UPDRS II, UPDRS III, UPDRS IV, UPDRS Total y escala de Shwab-England e inventario de depresión de Beck entre pacientes estratificados por tratamiento (levodopa o pramipexol y levodopa). Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

- ***Poblaciones inmunes reguladoras entre pacientes y controles a lo largo del seguimiento***

El análisis de poblaciones reguladoras (células T reguladoras, células CD8+ reguladoras, células B reguladoras y células dendríticas tolerogénicas) entre pacientes y controles únicamente demostró disminución significativa de las células T reguladoras activadas y las células Tr1 en pacientes respecto a controles a la inclusión (Figura 12a). En el seguimiento no se observaron diferencias significativas entre pacientes y controles en estas poblaciones celulares.

El resto de las poblaciones reguladoras analizadas no mostró diferencias significativas entre pacientes y controles durante el seguimiento

- ***Poblaciones inmunes reguladoras en el seguimiento de pacientes***

El análisis de subpoblaciones de células T reguladoras arrojó que el porcentaje de células T reguladoras activas incrementa significativamente en los pacientes al año y a los dos años de seguimiento comparados con la inclusión. Las células Tr1 incrementaron en pacientes al año de seguimiento respecto a la inclusión. Por el contrario, las células Th3, disminuyen en pacientes a los dos años de seguimiento comparadas con las células a la inclusión y al año de seguimiento (Figura 12a). La estratificación de pacientes por tratamiento recibido mostró decremento significativo en las células Th3 de pacientes tratados con pramipexol o la combinación de pramipexol y levodopa a los dos años de seguimiento comparados con el año de seguimiento (Figura 12b). Además, se encontró una correlación negativa estadísticamente significativa entre el porcentaje de células Th3 y la dosis diaria de pramipexol recibida (Figura 12c).

El análisis de las células CD8+ reguladoras, mostró que la subpoblación de células CD8+regs (CD8+CD28-FOXP3+) incrementó significativamente en pacientes al año de seguimiento respecto a la inclusión. Sin embargo, a los dos años de seguimiento, esta subpoblación disminuyó significativamente respecto a la inclusión y el año de seguimiento (Figura 13a). El análisis estratificado mostró que en ambos grupos de tratamiento (levodopa y la combinación de levodopa y pramipexol), las células CD8regs disminuyeron a los dos años respecto al año de tratamiento (Figura 13b). En cuanto a las subpoblaciones de células B, las células plasmáticas y las células B funcionales disminuyeron en pacientes a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión y el año de seguimiento. Las células Bregs disminuyeron significativamente en pacientes al año y a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión (Figura 14a). El análisis estratificado por tratamiento mostró que en los pacientes que recibieron la combinación de fármacos al año de seguimiento tuvieron un incremento significativo de las células B funcionales respecto a aquellos tratados con levodopa; sin embargo, bajo tratamiento con la combinación, a los dos años de seguimiento se observó disminución significativa del porcentaje de esta subpoblación respecto al año de tratamiento (Figura 14b).

Las células dendríticas tolerogénicas mostraron que la subpoblación de células CD11c+B7.H1+ incrementaron en pacientes al año de seguimiento respecto a la inclusión. Las células CD11c+ ILT3+ incrementaron en pacientes a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión (Figura 15a). El análisis por grupos de tratamiento mostró que las células CD11c+SLAM1F+ disminuyeron a los dos años en pacientes tratados con levodopa respecto a controles. Estas células incrementaron en pacientes tratados con pramipexol o la combinación respecto a

los pacientes tratados con levodopa igualmente a los dos años de seguimiento (Figura 15b).

El análisis de otras poblaciones reguladoras no mostró diferencias significativas durante el seguimiento (Figuras 12 a 15).

Figura 12: Células T reguladoras

Figura 12a: Células T reguladoras durante el seguimiento

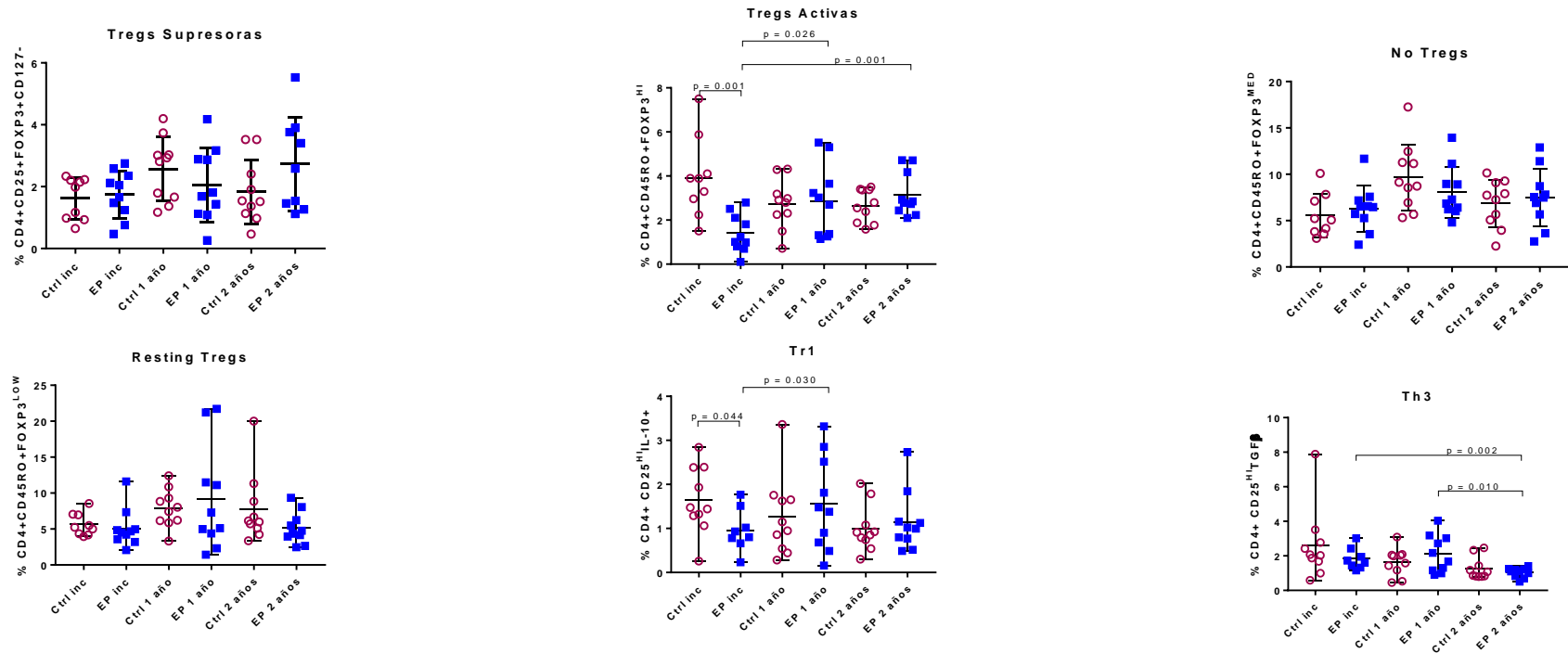


Figura 12b: Células T reguladoras estratificadas por tratamiento

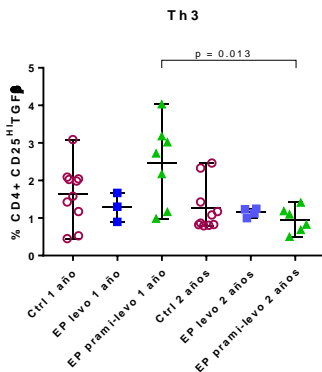


Figura 12b: Correlación con tratamiento

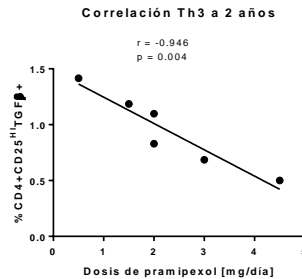


Figura 12. Células T reguladoras. 12a. Media con rango de las células Tregs activas, Tr1 y Th3. **12b.** Medias con rango de células Th3 estratificadas por tratamiento. **12c.** Correlación entre dosis diaria de pramipexol y células Th3. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 13: Células CD8 reguladoras

Figura 13a: Células CD8 reguladoras durante el seguimiento

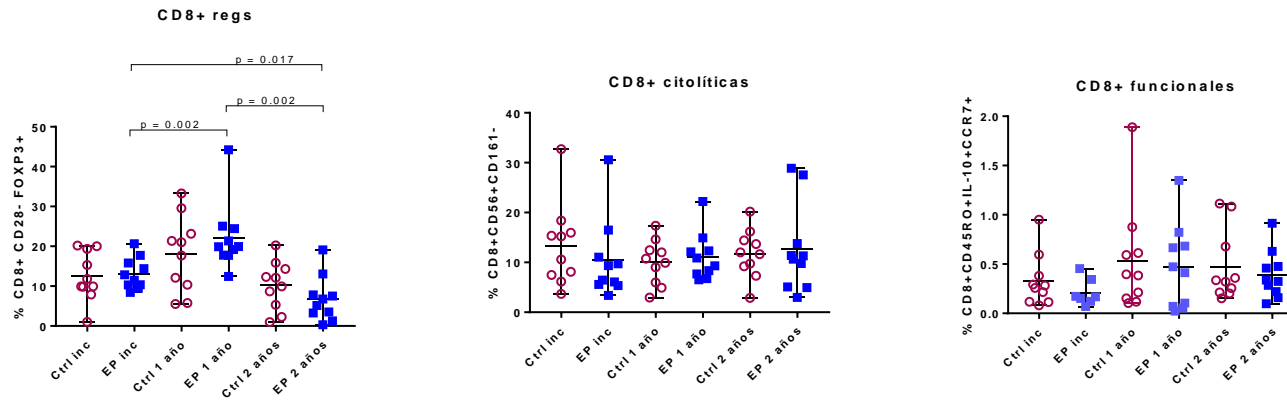


Figura 13b: Células CD8 reguladoras estratificadas por tratamiento

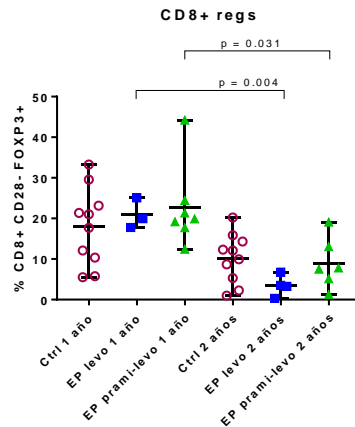


Figura 13. Células CD8 reguladoras. 13a. Media con rango de las células CD8+regs. **13b.** Medias con rango de células CD8+regs estratificadas por tratamiento. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 14: Células B reguladoras

Figura 14a: Células B reguladoras durante el seguimiento

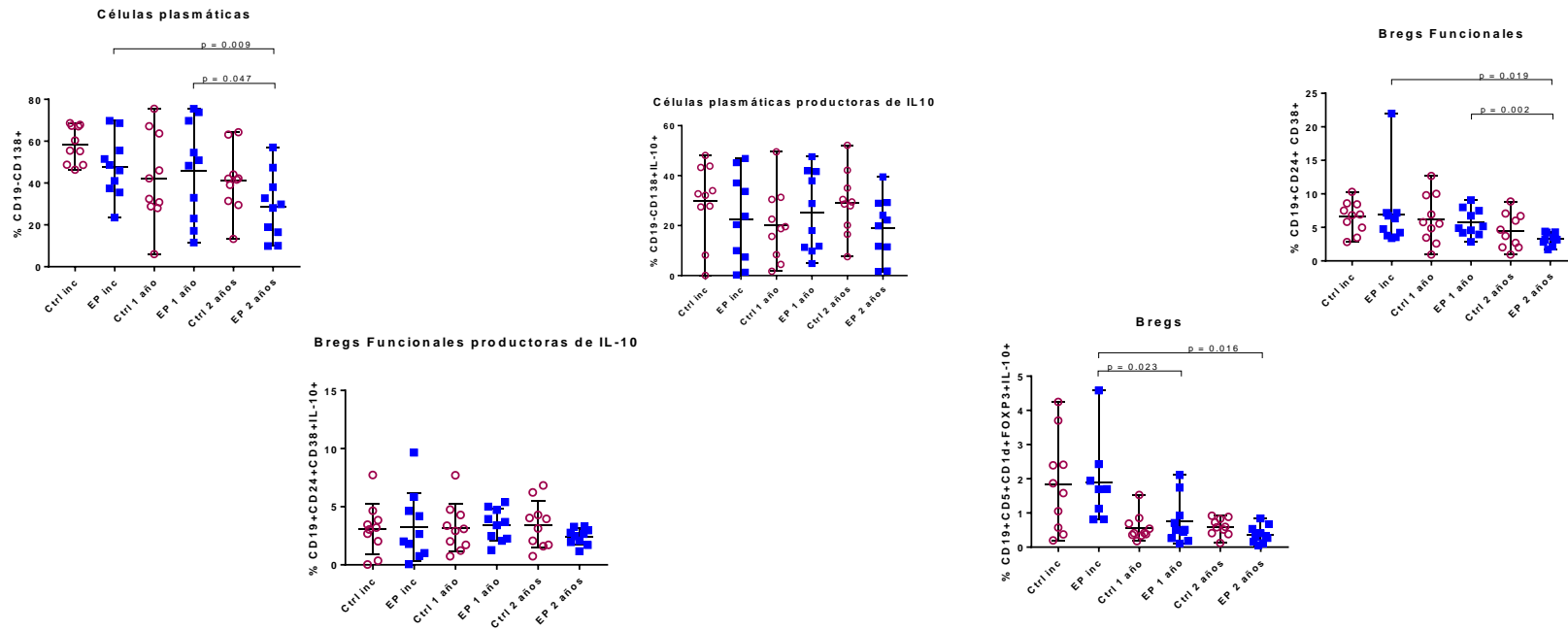


Figura 14b: Células B reguladoras estratificadas por tratamiento

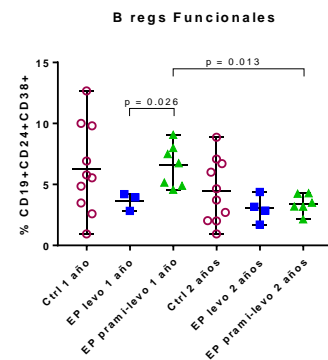


Figura 14. Células B reguladoras. 14a. Media con rango de las células plasmáticas, B funcionales y Bregs. 14b. Medias con rango de células B funcionales estratificadas por tratamiento. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 15: Células Dendríticas tolerogénicas

Figura 15a: Células dendríticas tolerogénicas durante el seguimiento

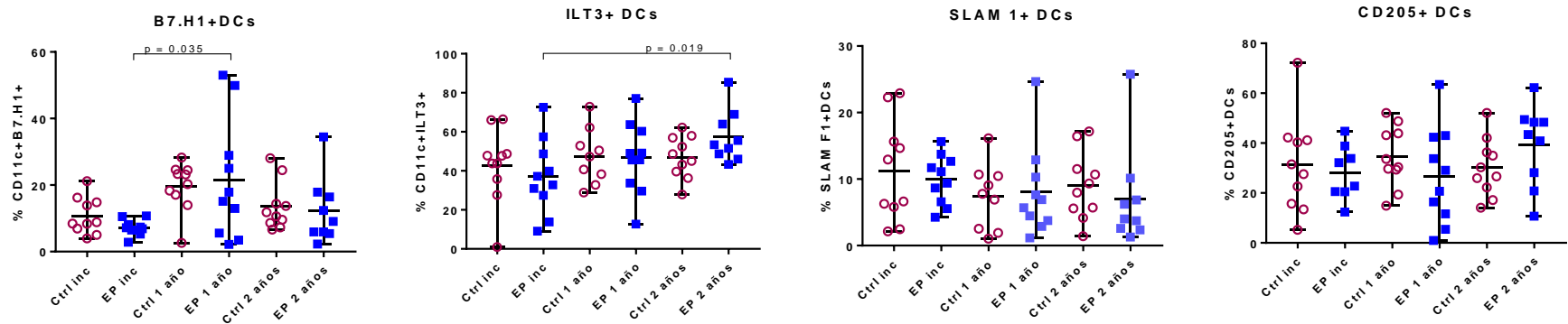


Figura 15b: Células dendríticas tolerogénicas estratificadas por tratamiento

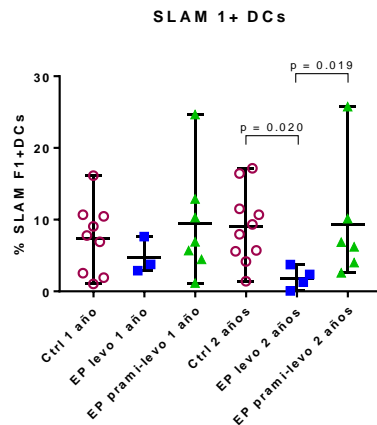


Figura 15. Células dendríticas tolerogénicas. 15a. Media con rango de las células B7.H1+DCs e ILT3+DCs. **15b.** Medias con rango de SLAM1+DCs estratificadas por tratamiento. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

- ***Poblaciones inmunes proinflamatorias entre pacientes y controles a lo largo del seguimiento.***

Se encontró incremento significativo en células Th2 productoras de IL-13 y productoras de IL-4 en pacientes respecto a controles a la inclusión. Por otra parte, se encontró incremento significativo en células Th17 productoras de IL-6 en pacientes respecto a controles a un año de seguimiento (Figuras 16 y 17).

- ***Poblaciones inmunes proinflamatorias en el seguimiento de pacientes***

El análisis de las células Th1 productoras de $IFN\gamma$ mostró decremento significativo en pacientes a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión. En cuanto a las células Th1 productoras de $TNF\alpha$, se encontró decremento de éstas en pacientes a los dos años de seguimiento comparados con el año de seguimiento (Figura 16a), así mismo, estas células disminuyeron en pacientes tratados con pramipexol o la combinación de fármacos a los dos años comparados con el año de seguimiento (Figura 16b).

Los linfocitos Th2 productores de IL-13 disminuyeron en pacientes a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión (Figura 16c).

Las células Th17 productoras de IL-17 disminuyeron en pacientes a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión y al año de seguimiento. Las células Th17 productoras de IL-6 disminuyeron en pacientes a los dos años de seguimiento en comparación con el año de seguimiento (Figura 17a). Estas células incrementan bajo tratamiento con pramipexol o la combinación de fármacos respecto a controles al año de seguimiento (Figura 17b).

Finalmente, las células dendríticas HLA-DR⁺ incrementaron significativamente al año y a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión (Figura 17c). También se encontró una correlación positiva entre el porcentaje de estas células y la dosis de levodopa diaria que recibieron los pacientes (Figura 17d).

El análisis de otras poblaciones de células dendríticas activas no mostró diferencias significativas durante el seguimiento (Tabla 3).

Figura 16: Poblaciones inmunes proinflamatorias

Figura 16a: Células Th1 durante el seguimiento

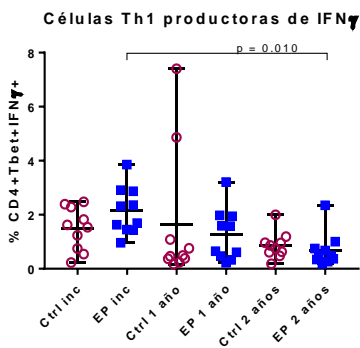


Figura 16b: Células Th1 estratificadas por tratamiento

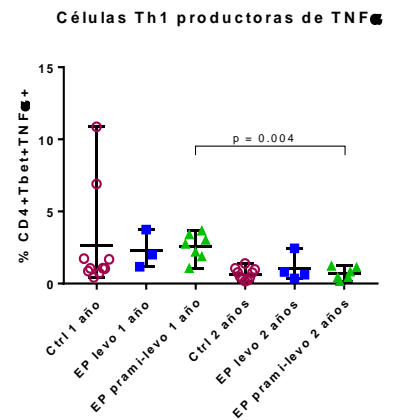
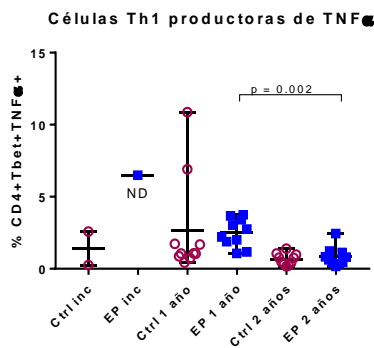


Figura 16c: Células Th2 durante el seguimiento

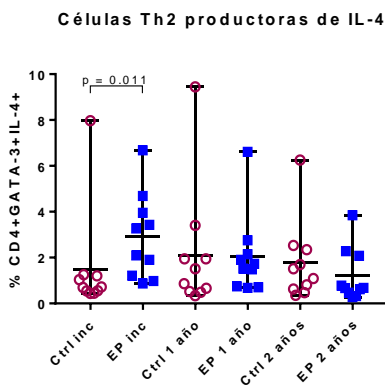
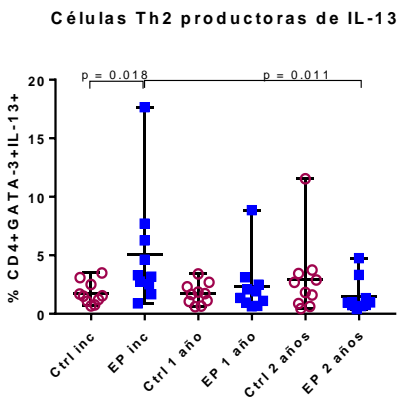


Figura 16. Poblaciones inmunes proinflamatorias. 16a. Media con rango de las células Th1 productoras de IFN γ y TNF α . **16b.** Medias con rango de células Th1 productoras de TNF α estratificadas por tratamiento. **16c.** Media con rango de células Th2. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 17: Poblaciones inmunes proinflamatorias

Figura 17a: Células Th17 durante el seguimiento

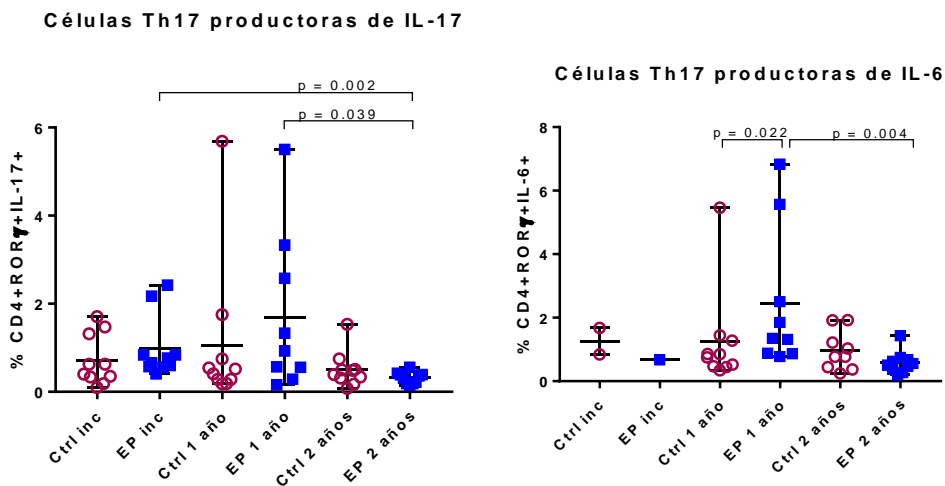


Figura 17b: Células Th17 estratificadas por tratamiento

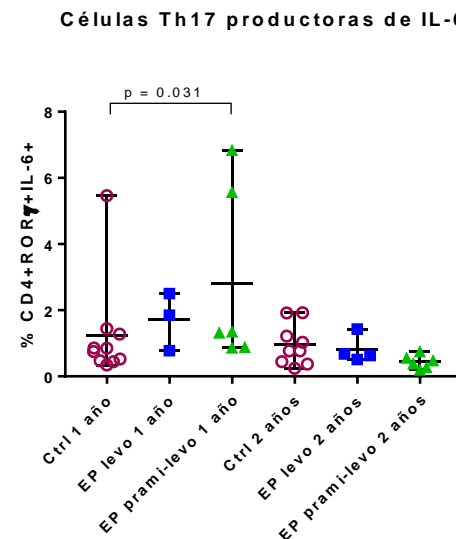


Figura 17c: Células dendríticas activas durante el seguimiento

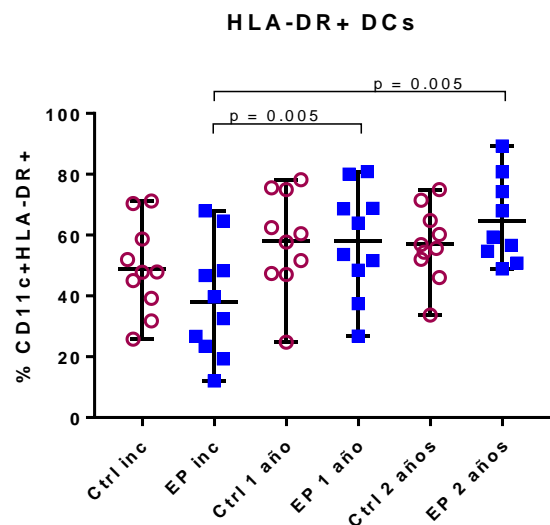


Figura 17d: Correlación con tratamiento

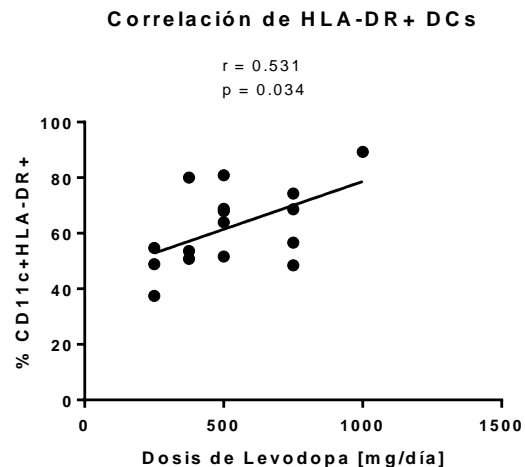


Figura 17. Poblaciones inmunes proinflamatorias. 17a. Media con rango de las células Th17 productoras de IL-17 e IL-6. **17b.** Medias con rango de células Th17 productoras de IL-6 estratificadas por tratamiento. **17c.** Media con rango de células dendríticas HLA-DR+. **17d.** Correlación entre células dendríticas activas HLA-DR+ y dosis diaria de levodopa. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

- ***Monocitos en pacientes y controles durante el seguimiento***

La comparación entre pacientes y controles mostró incremento significativo en monocitos no clásicos totales, monocitos clásicos productores de IL-12 y monocitos clásicos que expresan HLA-DR a los dos años de seguimiento (Figura 18 y Figura 19).

- ***Monocitos en pacientes a lo largo del seguimiento***

Se realizó el análisis de poblaciones de monocitos no clásicos, intermedios y clásicos y sus subpoblaciones productoras de IL-12, HLA-DR e IL-10.

El análisis de monocitos no clásicos mostró que estas células incrementan en pacientes a los dos años de seguimiento comparadas con la inclusión (Figura 18a).

Esta población incrementa al año de seguimiento en pacientes tratados con pramipexol o la combinación de fármacos al año de seguimiento en comparación con controles (Figura 18b). Los monocitos no clásicos productores de IL-12 incrementan en pacientes tratados con la combinación en comparación con los controles al año de tratamiento (Figura 18b). Los monocitos no clásicos HLA-DR+ incrementan a los dos años de seguimiento en pacientes tratados con levodopa respecto a los tratados con pramipexol o la combinación (Figura 18b).

Por otra parte, los monocitos intermedios y los monocitos intermedios HLA-DR+ disminuyeron en pacientes tratados con pramipexol o la combinación de fármacos respecto a los tratados con levodopa al año de seguimiento (Figura 19).

Los monocitos clásicos totales y los monocitos clásicos que expresan HLA-DR incrementaron significativamente en pacientes al año y a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión. Los monocitos clásicos productores de IL-10

incrementaron en pacientes a los 2 años de seguimiento respecto a la inclusión y al año de seguimiento (Figura 20a). En pacientes tratados con levodopa a los dos años comparados contra controles incrementaron los monocitos clásicos totales, HLA-DR+ e IL-10+ (Figura 20b). Se encontró una correlación negativa y estadísticamente significativa entre los monocitos clásicos totales y la dosis diaria de pramipexol recibida por los pacientes (Figura 20c).

Finalmente, los monocitos M2-like y M1-like incrementaron en pacientes a los dos años de seguimiento respecto a la inclusión (Figura 21a) y se encontró una correlación significativa y negativa entre estas células y la dosis de pramipexol que recibieron los pacientes (Figura 21b).

El análisis de otras subpoblaciones de monocitos no mostró diferencias significativas durante el seguimiento (Tabla 4).

Figura 18: Monocitos no clásicos

Figura 18a: Monocitos no clásicos durante el seguimiento

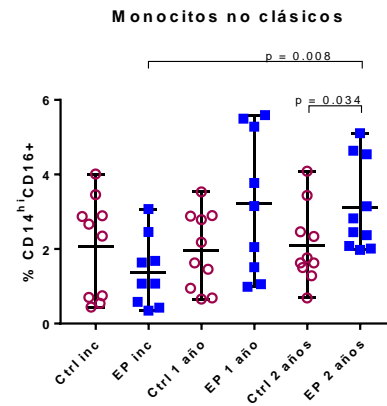


Figura 18a: Monocitos no clásicos estratificados por tratamiento

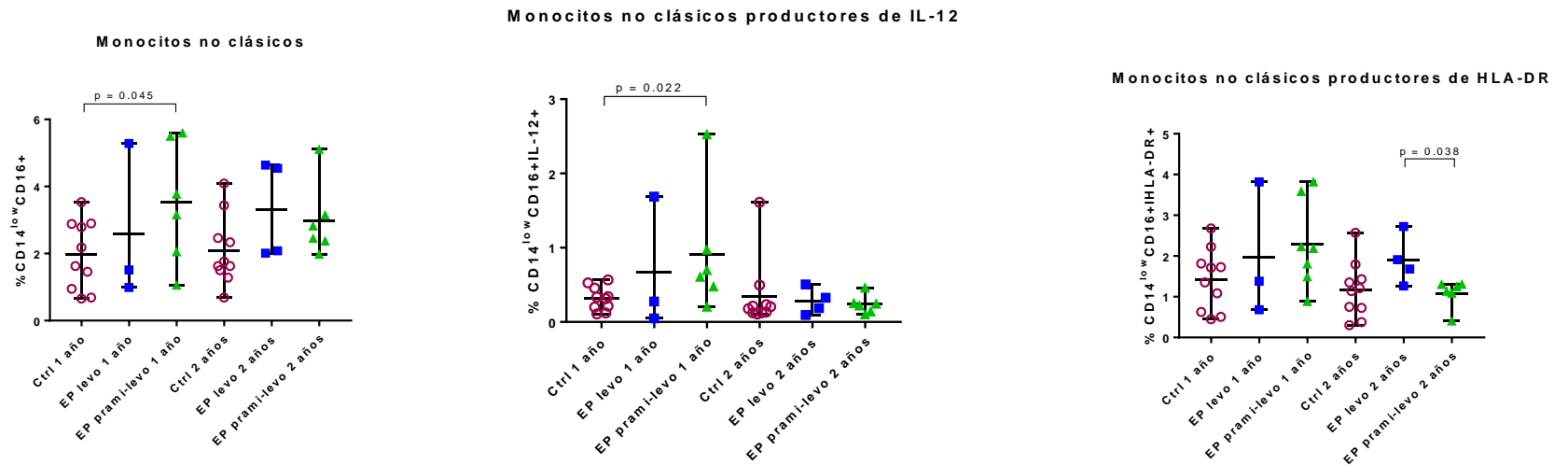


Figura 18. Monocitos no clásicos. 18a. Media con rango de monocitos no clásicos totales. **18b.** Medias con rango de monocitos no clásicos productores de IL-12 y HLA-DR estratificados por tratamiento. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 19: Monocitos intermedios estratificados por tratamiento

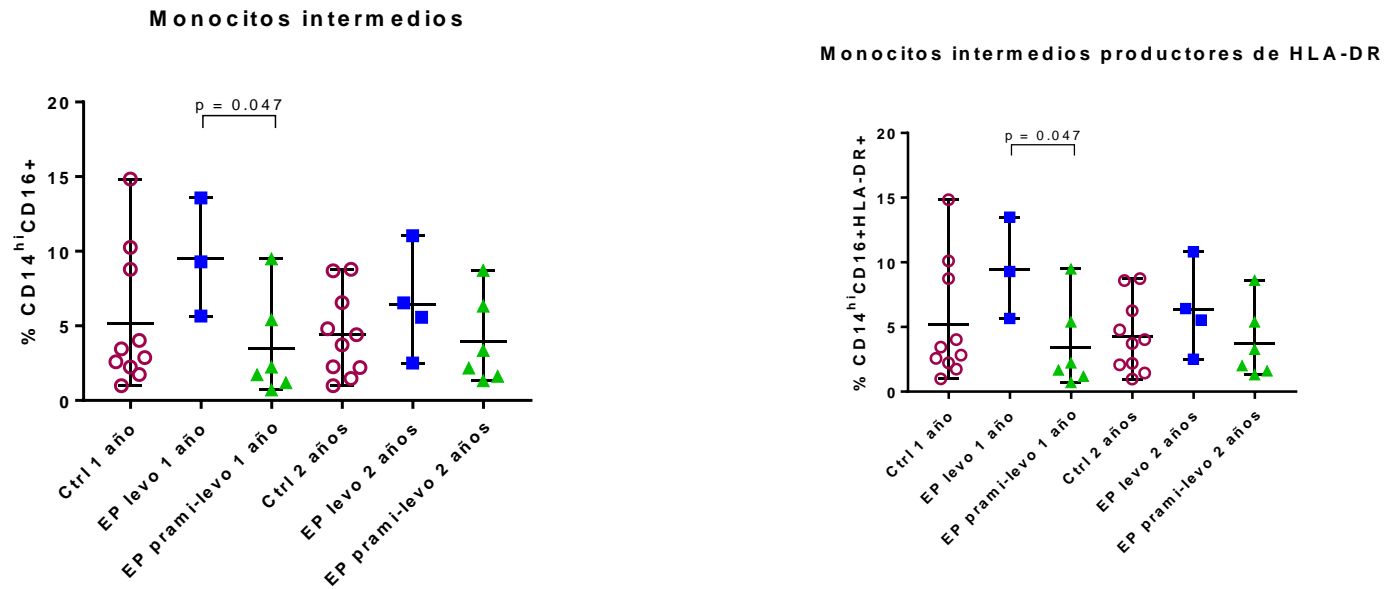


Figura 19. Monocitos intermedios estratificados por tratamiento. Media con rango de monocitos intermedios estratificados por tratamiento. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 20: Monocitos clásicos

Figura 20a: Monocitos clásicos durante el seguimiento

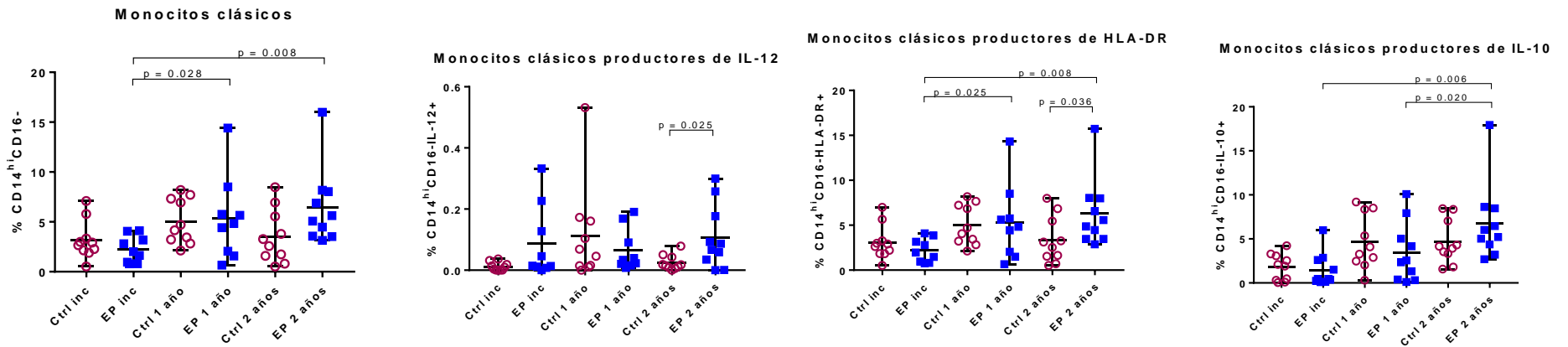


Figura 20b: Monocitos clásicos estratificados por tratamiento

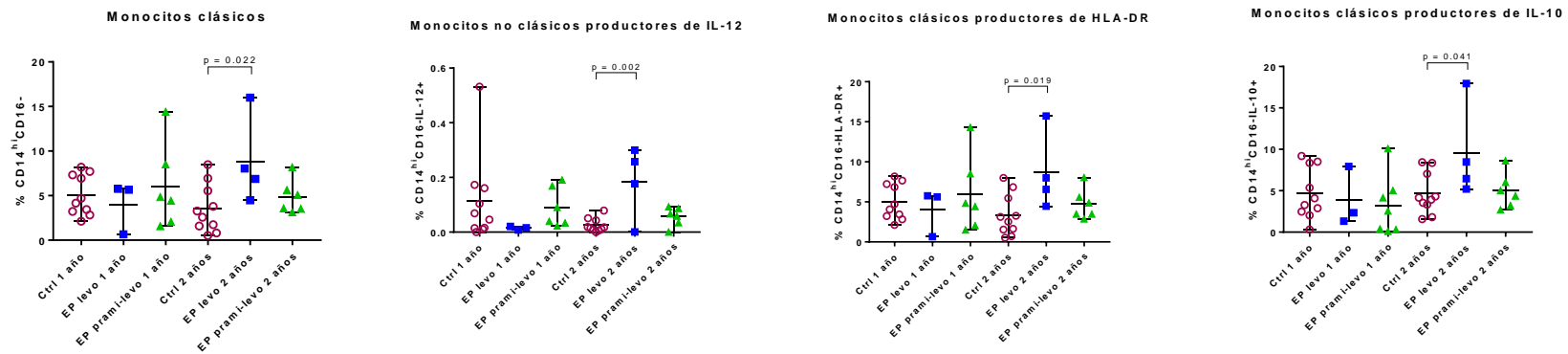


Figura 20c: Correlaciones entre monocitos clásicos y dosis de tratamiento

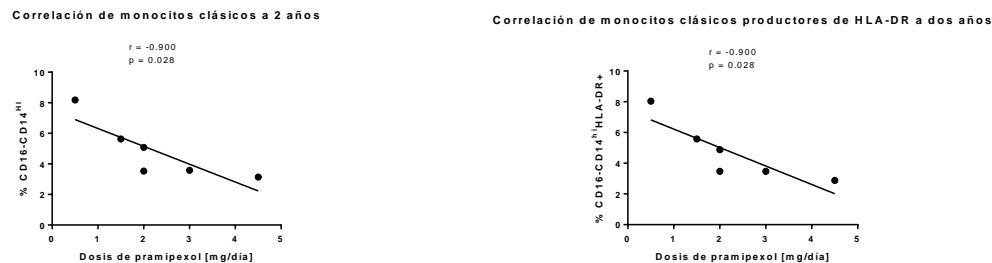


Figura 20. Monocitos clásicos. 20a. Media con rango de monocitos clásicos totales, IL-12+, HLA-DR+ e IL-10+ durante el seguimiento. **20b.** Media con rango de monocitos clásicos totales, IL-12+, HLA-DR+ e IL-10+ estratificados por tratamiento. **20c.** Correlaciones entre monocitos clásicos y monocitos clásicos HLA-DR+ con la dosis diaria de tratamiento. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Figura 21: Monocitos M1-like y M2-like

Figura 21a: Monocitos M1-like y M2-like durante el seguimiento

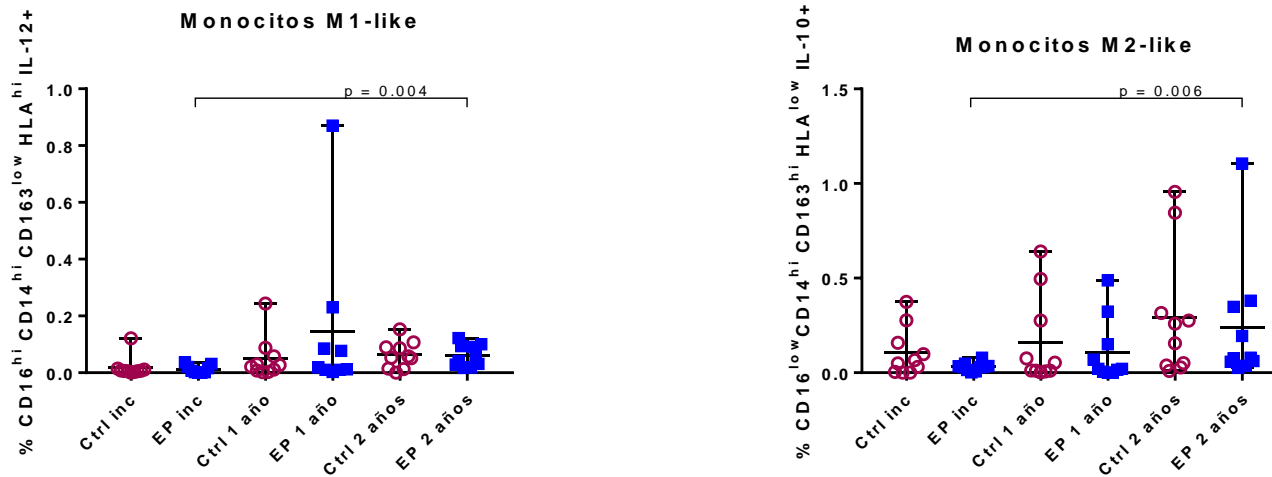


Figura 21b: Correlación de monocitos M1-like y dosis diaria del tratamiento.

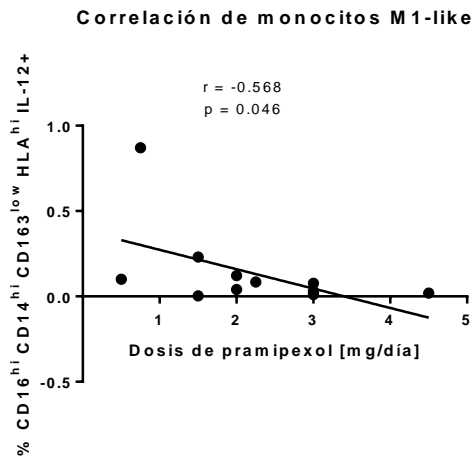


Figura 21. Monocitos M1-like y M2 like. 21a. Media con rango de monocitos M1-like y M2-like. **21b.** Correlación de monocitos M1-like y dosis diaria de pramipexol. Las diferencias significativas se muestran con el valor de p.

Tabla 3: Células dendríticas activas

	Ctrl inc*	PD inc*	Ctrl 1 año*	PD 1 año*	Ctrl 2 años*	PD 2 años*	+	++	+++	++++	+++++	++++++
HLA-DR+ DCs	48.96±14.92	38.13±18.8	58.01±16.36	58.02±17.7	57±12	64.74±14.17	0.171	0.998	0.215	0.005	0.005	0.392
CD40+ DCs	4.239±3.077	7.95±8.416	13.62±17.15	9.324±7.156	5.538±4.487	7.017±5.461	0.573	0.912	0.526	0.641	0.812	0.417
CD86+ DCs	56±14.92	49.52±22.19	64.79±18.31	57.13±22.59	62.57±10.39	63.96±16.14	0.469	0.415	0.824	0.329	0.293	0.617
CD80+ DCs	21.83±10.48	17.92±7.842	32.58±17.65	27.67±12.13	18.72±13.11	31.49±15.87	0.394	0.478	0.072	0.088	0.132	0.437

+ valor de p para Ctrl vs PD a la inclusión

++ valor de p para Ctrl vs PD al año de seguimiento

+++ valor de p para Ctrl vs PD a los dos años de seguimiento

++++ valor de p para PD inc vs PD al año de seguimiento

+++++ valor de p para PD inc vs PD a los 2 años de seguimiento

++++++ valor de p para PD 1 año vs PD 2 años

*Datos expresados como media ± DE.

Tabla 4: Subpoblaciones de monocitos

	Ctrl inc*	PD inc*	Ctrl 1 year*	PD 1 year*	Ctrl 2 years*	PD 2 years*	+	++	+++	++++	+++++	+++++
IL-12 producers' Non-classical monocytes	0.324±0.322	0.514±0.430	0.318±0.161	0.834±0.801	0.343±0.46	0.254±0.141	0.277	0.062	0.616	0.945	0.130	0.071
HLA-DR producers' Non-classical monocytes	1.15±0.766	0.860±0.782	1.418±0.752	2.007±1.094	1.166±0.683	1.407±0.606	0.497	0.185	0.413	0.109	0.130	0.228
IL-10 producers' Non-classical monocytes	1.041±0.938	1.639±1.258	1.387±0.610	1.835±1.122	1.996±1.001	2.568±1.644	0.244	0.281	0.630	0.668	0.232	0.275
Intermediate monocytes	3.43±2.117	2.71±2.235	5.183±4.551	5.476±4.501	4.391±2.837	4.921±3.276	0.480	0.905	0.703	0.173	0.080	0.726
IL-12 producers' Intermediate monocytes	0.253±0.143	0.528±0.455	1.052±1.265	0.867±0.483	0.592±0.344	0.742±0.589	0.086	0.720	0.497	0.351	0.378	0.610
HLA-DR producers' Intermediate monocytes	3.352±2.082	2.671±2.246	5.151±4.532	5.453±4.487	4.279±2.812	4.749±3.197	0.501	0.968	0.731	0.167	0.100	0.696
IL-10 producers' Intermediate monocytes	2.256±2.16	1.336±1.584	3.337±3.115	3±2.943	2.991±2.294	2.395±1.786	0.315	0.684	0.525	0.275	0.131	0.999

+ valor de p para Ctrl vs PD a la inclusión

++ valor de p para Ctrl vs PD al año de seguimiento

+++ valor de p para Ctrl vs PD a los dos años de seguimiento

++++ valor de p para PD inc vs PD al año de seguimiento

+++++ valor de p para PD inc vs PD a los 2 años de seguimiento

++++++ valor de p para PD 1 año vs PD 2 años

*Datos expresados como media ± DE.

- **Citocinas plasmáticas estratificadas por grupo de tratamiento**

En cuanto al análisis de citocinas plasmáticas se encontró incremento de IFN γ e IL-17 en pacientes respecto a controles al año de seguimiento. La concentración de IL-13 y de TGF β disminuyó en pacientes respecto a controles al año de seguimiento (Tabla 5).

Se realizó el análisis de citocinas plasmáticas al año de seguimiento entre los dos grupos de tratamiento: pacientes tratados con levodopa y pacientes tratados con pramipexol o la combinación de pramipexol y levodopa. En cuanto a las citocinas proinflamatorias, se encontró que IFN γ incrementa en pacientes de ambos grupos respecto a controles. La concentración de IL-17 incrementa igualmente en ambos grupos de pacientes respecto a controles (Figura 22). En cuanto a las citocinas antiinflamatorias se encontró que las concentraciones de TGF β disminuyen en pacientes tratados con la combinación respecto a los controles (Figura 22). El análisis del resto de las citocinas no mostró diferencias significativas entre ambos grupos.

Figura 22: Citocinas plasmáticas estratificadas por tratamiento

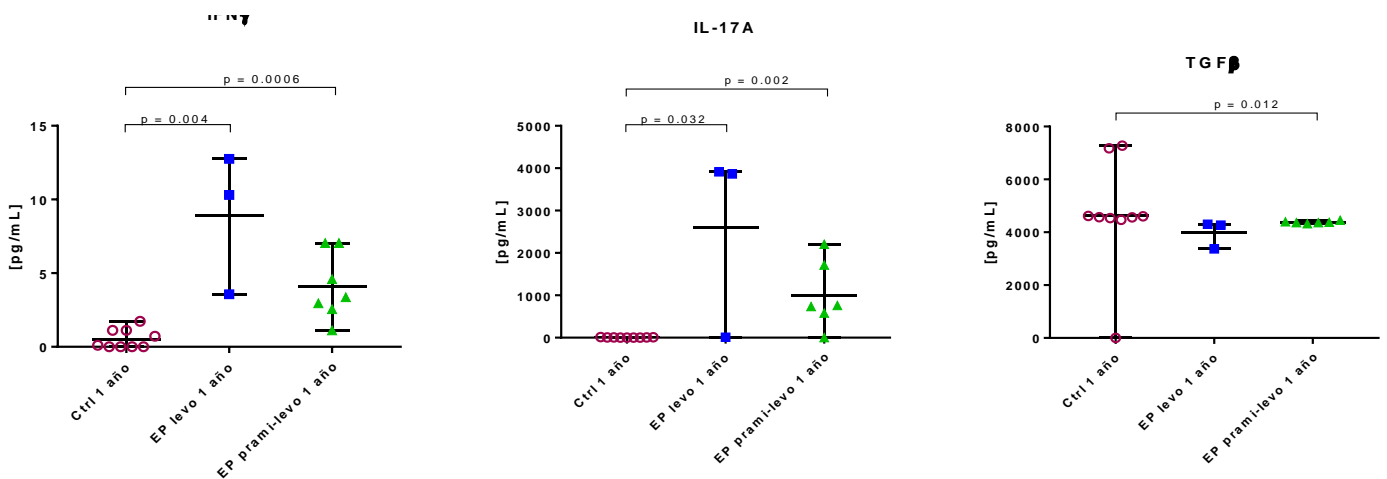


Figura 22: Citocinas plasmáticas. Concentración plasmática [pg/mL] de IFN γ , IL-17A y TGF β de pacientes y controles estratificados por tratamiento al año de seguimiento. Diferencias estadísticamente significativas se muestran con el valor de p.

Tabla 5: Citocinas plasmáticas

	Ctrl inc*	PD inc*	Ctrl 1 year*	PD 1 year*	+	++	+++
Citocinas proinflamatorias							
TNF α	20.95 \pm 24.88	16.43 \pm 10.44	5.95 \pm 2.123	16.21 \pm 25.74	0.516	0.510	0.322
IFN γ	3.428 \pm 2.168	5.816 \pm 7.308	0.533 \pm 0.661	5.531 \pm 3.71	0.836	<0.0001	0.557
IL-12p70	0	0	0	0	ND	ND	ND
IL-13	0	0.471 \pm 1.071	20.76 \pm 20.78	2.334 \pm 5.552	0.474	0.031	0.500
IL-4	0.516 \pm 1.89	0.036 \pm 0.115	1.012 \pm 3.035	4.49 \pm 13.26	0.474	0.861	0.500
IL-1 β	0	0	0	0	ND	ND	ND
IL-17	1954 \pm 1486	2018 \pm 1335	5.578 \pm 5.097	1539 \pm 1431	0.920	0.005	0.553
IL-6	0	0	0.443 \pm 1.33	8.369 \pm 22.39	0.999	0.500	0.500
Citocinas antiinflamatorias							
IL-10	2.147 \pm 1.009	2.593 \pm 1.182	2.303 \pm 0.671	2.978 \pm 2.026	0.376	0.617	0.492
TGF β	3704 \pm 1476	4547 \pm 416.6	4645 \pm 2091	4287 \pm 340.4	0.481	0.017	0.322
IL-35	6.683 \pm 18.97	0.964 \pm 3.05	12.01 \pm 21.9	13.42 \pm 40.32	0.737	0.759	0.750

+ valor de p Ctrl vs PD a la inclusión

++ valor de p Ctrl vs PD al año de seguimiento

+++ valor de p PD inc vs PD al año

ND: No Determinado

X. DISCUSIÓN

La finalidad de este estudio fue determinar la respuesta clínica e inmunológica en una cohorte de pacientes tratados con levodopa y/o pramipexol al año y a los dos años de haber iniciado dicho manejo y la comparación de estos contra controles pareados por edad y sexo.

La valoración clínica mediante la determinación de escalas demostró que los pacientes cursan con puntajes significativamente más altos en la escala UPDRS y Shwab-England respecto a los controles, lo que sugiere que, en una valoración integral, como ofrece el UPDRS los pacientes muestran mayor deterioro en el estado cognitivo y sus actividades de la vida diaria (UPDRS I y II) en comparación con controles sin patología (11). Por otra parte, la escala Shwab-England, es una herramienta mediante la que se asienta la pérdida de la independencia y de las actividades de la vida diaria en los pacientes con enfermedad de Parkinson. En este estudio, el incremento de su puntuación en pacientes contra controles concuerda con lo encontrado en el UPDRS I; los pacientes con enfermedad de Parkinson cursan con pérdida de la capacidad de realizar actividades de la vida diaria y de su independencia (63).

En cuanto a la respuesta clínica en el seguimiento de pacientes, se encontró mejoría en el UPDRS Total y la parte motora de éste después de dos años de seguimiento, además en esta cohorte, la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos en la escala Hoehn y Yahr, UPDRS y Shwab-England sugieren eficacia similar de ambos fármacos, a pesar de que la literatura reporta que levodopa es más efectivo que pramipexol en el control de los síntomas motores de pacientes con EP (64). Por

otra parte, después de dos años de seguimiento, encontramos que los pacientes permanecieron con una puntuación en Hoehn y Yahr menor de 3, lo que sugiere que el tratamiento logró mantener la estabilidad en la sintomatología de los pacientes y disminuyó el riesgo de progresión a demencia (12).

Este estudio sugiere que levodopa y la combinación de pramipexol y levodopa ejercen efecto en células inmunes a nivel periférico. Sin embargo, dada la administración conjunta de levodopa y carbidopa (inhibidor de la descarboxilasa de L-DOPA periférica), podría pensarse que no puede existir efecto de este fármaco a nivel periférico. Se ha encontrado que, posterior a la administración de 500 mg de levodopa, se detectan niveles plasmáticos de dopamina de 3.08 ± 0.40 ng/mL, lo que pudiera ejercer el efecto que hemos descrito en las células de la respuesta inmune (65).

El hallazgo de decremento de células T reguladoras (Tregs activas y Tr1) en pacientes comparados con controles únicamente a la inclusión sugiere que el tratamiento dopaminérgico (levodopa y/o pramipexol) pudiera ocasionar recuperación de estas células hacia niveles comparables con controles sin la patología neurodegenerativa. Este resultado podría relacionarse con el tratamiento con pramipexol, ya que, de acuerdo con lo encontrado por Izumi y colaboradores en 2007, el pramipexol disminuye la muerte neuronal al reducir el contenido intracelular de dopamina (66). Es posible que el incremento en células Tregs activas y Tr1 se deba a la disminución de la concentración intracelular de dopamina, como sugiere Izumi, 2007.

El incremento de células T reguladoras activas y TR1 en pacientes bajo tratamiento podría sugerir que la estimulación de receptores D2/D3 por pramipexol incrementó

estas poblaciones reguladoras, como ha sido descrito por Levite en 2012 (46), sin embargo, interesantemente, observamos el comportamiento contrario en las células Th3, que disminuyen en pacientes tratados con pramipexol. Es posible, que, de acuerdo con la teoría de Cosentino, et al, 2007 (43), la estimulación de receptores dopaminérgicos D2/D3 incrementa la acción autocrina/paracrina de la dopamina en estas células (particularmente en receptores D1), lo que ocasionaría decremento paradójico de este fenotipo y su producción de TGF β como fue encontrado en dicho estudio.

Existen escasos estudios que reporten el comportamiento de otras poblaciones reguladoras, sin embargo, Nasi y cols. en 2019 reportaron que el tratamiento con un agonista D1 decrementó las células CD8⁺ reguladoras (62), lo que concuerda con lo encontrado en nuestro estudio. Además, también se ha observado que el tratamiento con carbidopa (un inhibidor de L-DOPA descarboxilasa periférica) que es coadministrado con levodopa bloquea la expresión de CD25 y CD69 en linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺; inhibiendo de esta forma su proliferación (50). Este mecanismo pudiera explicar la disminución de linfocitos T CD8⁺ reguladores.

En cuanto a las células B reguladoras, la disminución de sus subpoblaciones (células plasmáticas, Bregs y células B funcionales) puede explicarse por el efecto de la levodopa (las células B funcionales de pacientes tratados solo con levodopa disminuyeron al año en comparación con los pacientes tratados con la combinación de fármacos) sobre receptores D1-like, que ha demostrado decremento de poblaciones reguladoras y de la secreción de IL-10 por éstas (46).

El estudio de las células dendríticas en la enfermedad de Parkinson ha sido escaso, en particular en cuanto a fenotipos tolerogénicos, sin embargo, se ha reportado en un modelo murino de EP, que la estimulación de células dendríticas de médula ósea con GM-CSF incrementa su diferenciación hacia poblaciones reguladoras que inducen la activación de linfocitos T reguladores (67). En nuestros hallazgos, el incremento de células dendríticas SALM1F+ se asoció al tratamiento combinado con pramipexol, lo que sugiere que el efecto previamente descrito pudiese darse también con este agonista dopaminérgico. Por otra parte, se sabe que las células dendríticas tolerogénicas, como aquellas que expresan ILT3 incrementen la inducción de linfocitos T reguladores (68). De esta forma se podría relacionar el incremento encontrado en las células dendríticas tolerogénicas ILT3+ y el aumento de células Tregs activas y Tr1.

Durante el seguimiento de pacientes, las subpoblaciones de células Th1 disminuyeron durante el seguimiento, en particular las productoras de TNF α tratadas con la combinación de fármacos, lo que sugiere que este fenómeno puede relacionarse con un efecto del pramipexol, ya que la estimulación de receptores D2/D3 disminuye las poblaciones inmunes efectoras periféricas (46).

A la inclusión, las células Th2 productoras de IL-13 e IL-4 incrementaron en pacientes respecto a controles, contrario a lo reportado por Baba y colaboradores en 2005, quienes encontraron disminución de células Th2 productoras de IL-4 comparadas con células Th1 productoras de IFN γ en pacientes con EP, aunque cabe mencionar que los pacientes de su cohorte fueron tratados con levodopa y

agonistas dopaminérgicos y a la inclusión, nuestros pacientes fueron vírgenes al tratamiento (39).

Las células Th2 productoras de IL-13 disminuyeron durante el seguimiento en pacientes a los dos años, lo que concuerda con el estudio de Baba, 2005 previamente mencionado, donde, en pacientes tratados con levodopa y agonistas dopaminérgicos las subpoblaciones de células Th2 disminuyeron (39).

Por otra parte, las células Th17 productoras de IL-6 incrementaron en pacientes respecto a controles al año de iniciar tratamiento dopaminérgico. Este fenómeno puede ser explicado por la teoría de Contreras, 2006 (69), en donde se observó que la estimulación de receptores dopaminérgicos en células Th naïve dirige su diferenciación y proliferación hacia un fenotipo Th17.

Existen pocos estudios que reconozcan la producción de IL-6 por parte de células Th17. Se sabe que estas células requieren IL-6 para su diferenciación. Sin embargo, en un modelo experimental de formación de granuloma por paracoccidiodomicosis se encontró que la ausencia de IL-6 producida por células Th17 incrementa el riesgo de producción del granuloma. Lo anterior sugiere que IL-6 producida por células Th17 es importante en el control de infecciones crónicas (70).

De forma interesante encontramos que las subpoblaciones de células Th17 disminuyeron durante el seguimiento. Anteriormente se había propuesto que la estimulación dopaminérgica por receptores D3 incrementa la diferenciación y proliferación de células Th17 (69); sin embargo, nuestros resultados sugieren que el incremento intracelular de dopamina pudiera ser deletéreo para estas células, ya que altas concentraciones de este neurotransmisor provocan estrés oxidativo al ser

metabolizado por la MAO, produciendo H_2O_2 y esto explicaría el decremento después de dos años de tratamiento dopaminérgico (71).

Por otra parte, nuestros hallazgos en cuanto a la disminución de células Th2 y Th17 están en concordancia con lo descrito por Kustrimovic, 2018 (58), donde explica que este decremento puede deberse a una parcialización de la respuesta Th1 en pacientes con enfermedad de Parkinson, teoría igualmente propuesta por Baba, 2005 (39).

Las células dendríticas proinflamatorias HLA-DR+ incrementan durante el seguimiento y proporcionalmente con la dosis de levodopa administrada en nuestro estudio. Este resultado contradice el hallazgo de Ciamarella en 2013, donde encontraron dichas células disminuidas en pacientes tratados con la combinación de levodopa y agonistas dopaminérgicos (59), lo que sugiere que, en nuestro hallazgo, su incremento pudiera estar relacionado con la administración de levodopa, dada la correlación positiva y significativa que describimos.

El incremento de monocitos no clásicos y subpoblaciones de monocitos clásicos en pacientes después de dos años de tratamiento sugiere que el tratamiento dopaminérgico estimula la proliferación de estas células. En 2014, Grozdanov encontró incremento de monocitos clásicos con alta expresión de la vía FAS en pacientes con enfermedad de Parkinson tratados con levodopa. Al inhibir esta vía el ratio monocitos no clásicos:monocitos clásicos incrementó (72). Además, en el estudio de Macchi y cols. en 2015 se asoció la presencia de incremento de la vía FAS en monocitos con disminución de los niveles periféricos de dopamina (73). Por tanto, en nuestro estudio, el incremento de poblaciones de monocitos clásicos puede ser explicado por la sustitución de la ausencia de dopamina en pacientes

tratados durante el seguimiento y la inhibición de la vía FAS en estas células explicaría el incremento de monocitos no clásicos.

Retomando los hallazgos de Grozdanov, 2014 y Macchi, 2015 (72)(73), el incremento en los monocitos no clásicos puede deberse a la inhibición de la vía FAS/FASL por la sustitución de dopamina en estas células con el tratamiento dopaminérgico. Por otro lado, el hallazgo de incremento en monocitos clásicos asociado a tratamiento con levodopa igualmente es concordante con el estudio de Grozdanov (67), quien describió este fenómeno en pacientes tratados con levodopa y agonistas dopaminérgicos; por lo que se puede sugerir que el tratamiento con levodopa incrementa los monocitos clásicos periféricos, al igual que nuestro hallazgo en monocitos intermedios. Por otra parte, el incremento en monocitos M1-like se relaciona con decremento en la dosis de pramipexol, por lo que es posible, que al igual que las otras subpoblaciones de monocitos, tanto los monocitos M1-like y M2-like incrementen sus porcentajes gracias al tratamiento con levodopa.

Finalmente, el análisis por grupos de tratamiento de citocinas plasmáticas sugiere incremento de citocinas proinflamatorias (IFN γ e IL-17) debido a los fármacos con acción dopaminérgica (48)(69), mientras que en cuanto a TGF β , su disminución concuerda con los hallazgos anteriormente descritos para la subpoblación de células Th3.

En resumen; nuestros hallazgos sugieren que el tratamiento con la combinación de levodopa y pramipexol se podría asociar al incremento en la respuesta inmune reguladora. De ésta, se ha descrito que las células T reguladoras pueden infiltrar SNC en pacientes con enfermedad de Parkinson para modular a la microglia y a la

respuesta proinflamatoria montada en esta patología (36). Si bien, las células dendríticas tolerogénicas no se han encontrado en SNC de pacientes con EP, es posible que, al ser estimuladas por ambos fármacos, pudieran establecer diferenciación de linfocitos T hacia una respuesta reguladora que mediaría el regreso a la homeostasis inmune en esta enfermedad. Igualmente se demostró que pramipexol es capaz de modular la respuesta inmune proinflamatoria como se ha sugerido en diversos estudios (51)(52)(53).

Por otra parte, el tratamiento con levodopa decrementó la respuesta reguladora, lo que confirma hallazgos de estudios anteriores (46)(62) y, de forma interesante se asoció al incremento en células dendríticas activas y a monocitos clásicos, ambos tipos celulares relacionados con la activación de la respuesta proinflamatoria. Además, se ha observado que los monocitos son células capaces de infiltrar barrera hematoencefálica y de esta manera promover la neuroinflamación en los pacientes con EP (36).

En la Figura resumen se observa la relación entre el tratamiento administrado a los pacientes durante el seguimiento y el incremento o disminución de subpoblaciones inmunes reguladoras y proinflamatorias, así como el posible desenlace fisiopatológico y clínico podría obtenerse a partir de estos resultados.

Figura Resumen

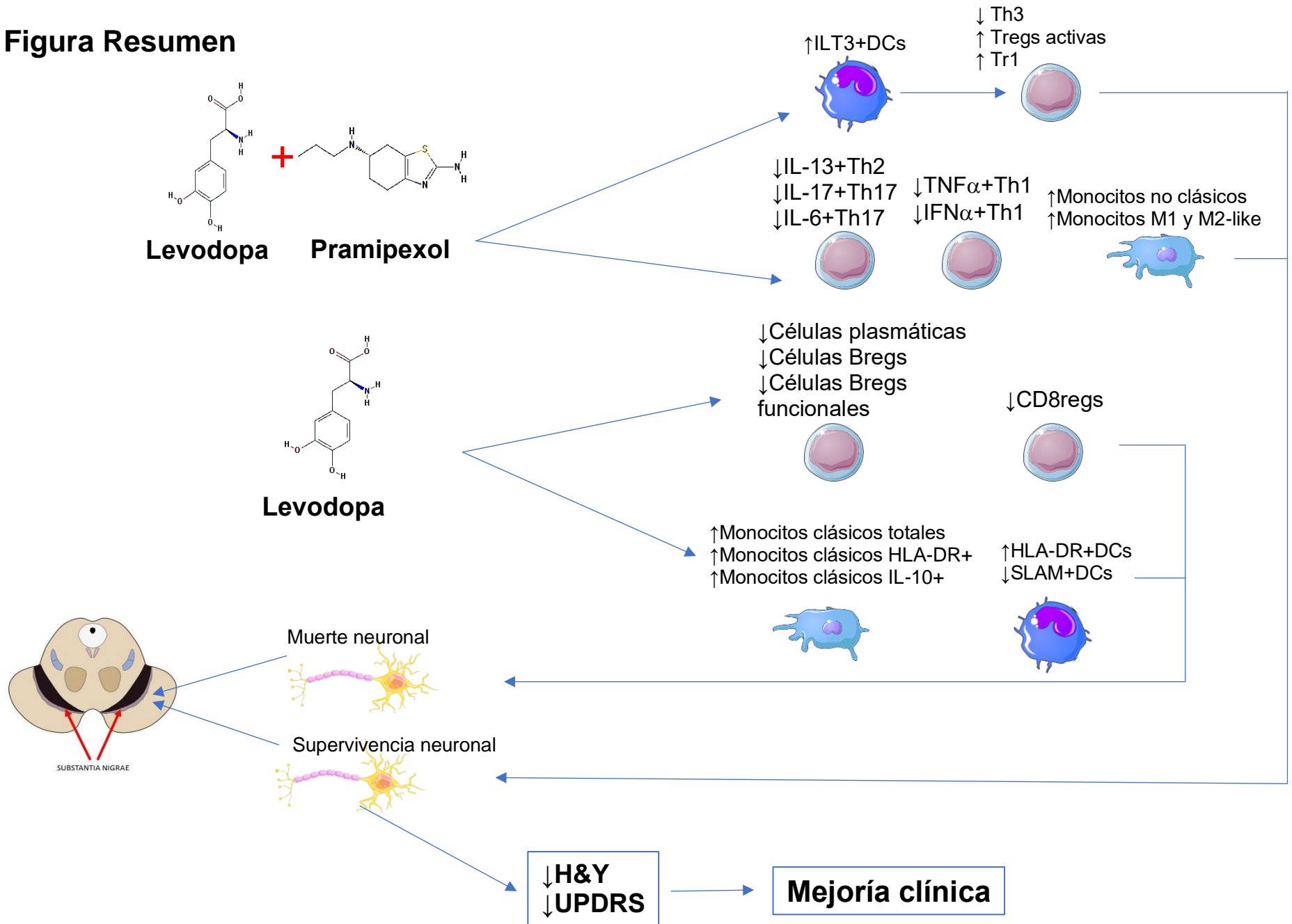


Figura resumen: Efecto del tratamiento sobre poblaciones inmunes periféricas reguladoras y proinflamatorias y su posible consecuencia fisiopatológica y clínica.

XI. CONCLUSIONES

El tratamiento con pramipexol y levodopa mejoró el estado clínico de los pacientes determinado por las escalas aplicadas a dos años de seguimiento. Esta mejoría clínica pudiera estar relacionada con el incremento en la respuesta reguladora en los pacientes que recibieron la combinación pramipexol/levodopa. Este trabajo sugiere que el tratamiento combinado puede ser mejor que el tratamiento con levodopa o pramipexol por separado, además que se ha descrito que pramipexol es un fármaco menos eficaz que levodopa para el control motor de los pacientes con EP y ocasiona efectos adversos poco tolerados por los pacientes.

El tratamiento con levodopa se ha podido asociar al incremento de células que promueven respuesta proinflamatoria, mientras que, la combinación de pramipexol y levodopa demostró incrementar células reguladoras y disminuir ciertos fenotipos proinflamatorios. Los hallazgos de este trabajo sugieren que el tratamiento combinado con levodopa y pramipexol es el más indicado para los pacientes con EP, ya que ambos fármacos podrían devolver el balance entre respuesta reguladora y proinflamatoria. Lo anterior sugiere que el tratamiento combinado tiene el potencial de contrarrestar la neuroinflamación asociada a pacientes con EP para mejorar su calidad de vida desde el proceso fisiopatológico de la enfermedad.

XII. REFERENCIAS

1. Diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad de Parkinson inicial y avanzada en el tercer nivel de atención. México, Secr Salud [Internet]. 2010; Available from: www.cenetec.salud.gob.mx
2. Ray Dorsey E, Elbaz A, Nichols E, Abd-Allah F, Abdelalim A, Adsuar JC, et al. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2018;17(11):939–53.
3. Singleton AB, Farrer MJ B V. The genetics of Parkinson's disease: progress and therapeutic implications. *Mov Disord.* 2013;28(1):14–23.
4. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia A-S, McNamara JO, et al. *Circuits within the Basal Ganglia System* [Internet]. Neuroscience. 2nd edition. 2001. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10847/>
5. Langston JW. The parkinson's complex: Parkinsonism is just the tip of the iceberg. *Ann Neurol.* 2006;59(4):591–6.
6. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord* [Internet]. 2015;30(12):1591–601. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26474316>
7. Nutt JG. Motor subtype in Parkinson's disease: Different disorders or different stages of disease? *Mov Disord.* 2016;31(7):957–61.
8. Lim S, SH F, Lang A. Overview of the extranigral aspects of parkinson

disease. Arch Neurol [Internet]. 2009;66(2):167–72. Available from:
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L354200361%5Cnhttp://archneur.ama-assn.org/cgi/reprint/66/2/167%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2008.561%5Cnhttp://cy7sh3vq3t.search.serialssolutions.com?sid=EMBASE&sid=EMBAS>

9. Hussl A, Poewe W. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Expert Rev Neurother.* 2013;13(6):581–3.
10. Tolosa E, Wenning G, Poewe W. The diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2006;5(1):75–86.
11. Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, Stebbins GT, Fahn S, Martinez-Martin P, et al. Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord.* 2008;23(15):2129–70.
12. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Stebbins GT, Counsell C, et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: Status and recommendations. *Mov Disord.* 2004;19(9):1020–8.
13. Contin M, Martinelli P. Pharmacokinetics of levodopa. *J Neurol.* 2010;257(SUPPL. 2).
14. Secretaría de Salud. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* 11 ed. Vol. I. 2014. p. 1092-93.
15. Walton-Hadlock JL, Fahn S, Keiburtz K, Tanner CM. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 2005;351:2498–508.

16. Antonini A, Calandrella D. Pharmacokinetic evaluation of pramipexole. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2011;7(10):1307–14.
17. Beaulieu J-M, Gainetdinov RR. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacol Rev.* 2008;63(1):182–217.
18. Alonso Cánovas A, Luquin Piudo R, García Ruiz-Espiga P, Burguera JA, Campos Arillo V, Castro A, et al. Dopaminergic agonists in Parkinson's disease. *Neurol (English Ed [Internet].* 2014;29(4):230–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nrleng.2011.04.010>
19. Turnbull K, Caslake R, Macleod A, Ives N, Stowe R, Counsell C. Monoamine oxidase B inhibitors for early Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005;(3):1–62.
20. Goetz CG, Koller WC, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Brin MF, et al. Amantadine and other antiglutamate agents. *Mov Disord.* 2002;17:S13–22.
21. Katzenschlager R, Sampaio C, Costa J, Lees A. Anticholinergics for symptomatic management of Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002;(1):1–22.
22. Hornykiewicz O. The discovery of dopamine deficiency in the parkinsonian brain. *J Neural Transm Suppl.* 2006;(70):9–15.
23. Rietdijk CD, Perez-Pardo P, Garssen J, van Wezel RJA, Kraneveld AD. Exploring Braak's Hypothesis of Parkinson's Disease. *Front Neurol [Internet].* 2017;8(February):37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28243222><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5304413>

24. Jellinger KA. Cell death mechanisms in Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2000;107(1):1–29.
25. Sommer A, Winner B, Prots I. The Trojan horse - Neuroinflammatory impact of T cells in neurodegenerative diseases. *Mol Neurodegener.* 2017;12(1):1–10.
26. Burbulla ALF, Song P, Mazzulli JR, Zampese E, Strojny C, Savas JN, et al. Dopamine oxidation mediates a human-specific cascade of mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's disease. *Science (80-)* [Internet]. 2017;357(September):1255–61. Available from: <http://science.sciencemag.org/content/sci/357/6357/1255.full.pdf>
27. Liebert MA, Ryter SW, Kim HPYO, Hoetzel A, Park JW, Nakahira K, et al. Mechanisms of Cell Death in Oxidative Stress. *Antioxidants Redox Signal.* 2007;9(1):49–88.
28. Xilouri M, Brekk OR, Stefanis L. α -Synuclein and protein degradation systems: a reciprocal relationship. *Mol Neurobiol.* 2013;47(2):537–51.
29. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem.* 2016;139:136–53.
30. Hirsch EC, Vyas S, St' S, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease. *Park Realt Disord.* 2012;18(1):S210–2.
31. McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the: Substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology.* 1988;38(8):1285–91.
32. Pisanu A, Lecca D, Mulas G, Wardas J, Simbula G, Spiga S, et al. Dynamic changes in pro-and anti-inflammatory cytokines in microglia after PPAR- γ

- agonist neuroprotective treatment in the MPTPp mouse model of progressive Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2014;71(1):280–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.011>
33. Zhang W, Wang T, Pei Z, Miller DS, Wu X, Block ML, et al. Aggregated α -synuclein activates microglia: A process leading to disease progression in Parkinson's disease. *FASEB J*. 2005;19(6):533–42.
 34. Saijo K, Winner B, Carson CT, Collier JG, Boyer L, Rosenfeld MG, et al. A Nurr1/CoREST Pathway in Microglia and Astrocytes Protects Dopaminergic Neurons from Inflammation-Induced Death. *Cell* [Internet]. 2009;137(1):47–59. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.038>
 35. Booth HDE, Hirst WD, Wade-Martins R. The Role of Astrocyte Dysfunction in Parkinson's Disease Pathogenesis. *Trends Neurosci* [Internet]. 2017;40(6):358–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2017.04.001>
 36. Chen Z, Chen S, Liu J. The role of T cells in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2018;169:1–23. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.08.002>
 37. Saunders JAH, Estes KA, Kosloski LM, Allen HE, Dempsey KM, Torres-Russotto DR, et al. CD4⁺ regulatory and effector/memory T cell subsets profile motor dysfunction in Parkinson's disease. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2012;7(4):927–38.
 38. Bas J, Calopa M, Mestre M, Molleví DG, Cutillas B, Ambrosio S, et al. Lymphocyte populations in Parkinson's disease and in rat models of parkinsonism. *J Neuroimmunol*. 2001;113(1):146–52.

39. Baba Y, Kuroiwa A, Uitti RJ, Wszolek ZK, Yamada T. Alterations of T-lymphocyte populations in Parkinson disease. *Park Relat Disord*. 2005;11(8):493–8.
40. Rosenkranz D, Weyer S, Tolosa E, Gaenslen A, Berg D, Leyhe T, et al. Higher frequency of regulatory T cells in the elderly and increased suppressive activity in neurodegeneration. *J Neuroimmunol*. 2007;188:117–27.
41. Álvarez-Luquín D, Arce-Sillas A, Leyva-Hernández J, Sevilla-Reyes E, Boll M, Montes-Moratilla E, et al. Regulatory impairment in untreated Parkinson's disease is not restricted to Tregs other regulatory populations are also involved. *J Neuroinflammation*.
42. Stevens CH, Rowe D, Morel-Kopp MC, Orr C, Russell T, Ranola M, et al. Reduced T helper and B lymphocytes in Parkinson's disease. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2012;252(1–2):95–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2012.07.015>
43. Fietta AM, Marino F, Saporiti F, Carcano E, Bombelli R, Rasini E, et al. Human CD4+CD25+ regulatory T cells selectively express tyrosine hydroxylase and contain endogenous catecholamines subserving an autocrine/paracrine inhibitory functional loop. *Blood*. 2007;109(2):632–42.
44. Svenningsson P, Nishi A, Fisone G, Girault J-A, Nairn AC, Greengard P. DARPP-32: an integrator of neurotransmission. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2004;44:269–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14744247>
45. Zhao W, Huang Y, Liu Z, Cao BB, Peng YP, Qiu YH. Dopamine Receptors

Modulate Cytotoxicity of Natural Killer Cells via cAMP-PKA-CREB Signaling Pathway. *PLoS One*. 2013;8(6).

46. Levite M. Dopamine in the Immune System: Dopamine Receptors in Immune Cells, Potent Effects, Endogenous Production and Involvement in Immune and Neuropsychiatric Diseases. *Nerve-Driven Immunity: Neurotransmitters and Neuropeptides in the Immune System*. 2012. 1–45 p.
47. Carr L, Tucker A, Fernandez-Botran R. In vivo administration of L-dopa or dopamine decreases the number of splenic IFN γ -producing cells. *J Neuroimmunol*. 2003;137(1–2):87–93.
48. Niwa F, Kuriyama N, Nakagawa M, Imanishi J. Effects of peripheral lymphocyte subpopulations and the clinical correlation with Parkinson's disease. *Geriatr Gerontol Int*. 2012;12(1):102–7.
49. Kozirowski D, Tomasiuk R, Szlufik S, Friedman A. Inflammatory cytokines and NT-proCNP in Parkinson's disease patients. *Cytokine* [Internet]. 2012;60(3):762–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2012.07.030>
50. Zhu H, Lemos H, Bhatt B, Islam BN, Singh A, Gurav A, et al. Carbidopa, a drug in use for management of Parkinson disease inhibits T cell activation and autoimmunity. *PLoS One*. 2017;12(9):1–14.
51. Du RH, Zhou Y, Xia ML, Lu M, Ding JH, Hu G. α -Synuclein disrupts the anti-inflammatory role of Drd2 via interfering β -arrestin2-TAB1 interaction in astrocytes. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):258.
52. Joyce JN, Woolsey C, Ryoo H, Borwege S, Hagner D. Low dose pramipexole is neuroprotective in the MPTP mouse model of Parkinson's

disease, and downregulates the dopamine transporter via the D3 receptor. BMC Biol. 2004;2:1–12.

53. Sadeghi H, Parishani M, Akbartabar Touri M, Ghavamzadeh M, Jafari Barmak M, Zarezade V, et al. Pramipexole reduces inflammation in the experimental animal models of inflammation. Immunopharmacol Immunotoxicol [Internet]. 2017;39(2):80–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/08923973.2017.1284230>
54. Le WD, Jankovic J, Xie W, Appel SH. Antioxidant property of pramipexole independent of dopamine receptor activation in neuroprotection. J Neural Transm. 2000;107(10):1165–73.
55. Lieberknecht V, Junqueira SC, Cunha MP, Barbosa TA, de Souza LF, Coelho IS, et al. Pramipexole, a Dopamine D2/D3 Receptor-Preferring Agonist, Prevents Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Development in Mice. Mol Neurobiol. 2017;54(2):1033–45.
56. Lieberknecht V, Cunha MP, Junqueira SC, Coelho I dos S, de Souza LF, dos Santos ARS, et al. Antidepressant-like effect of pramipexole in an inflammatory model of depression. Behav Brain Res [Internet]. 2017;320:365–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2016.11.007>
57. Rocha NP, Assis F, Scalzo PL, Vieira ÉLM, Barbosa IG, de Souza MS, et al. Reduced Activated T Lymphocytes (CD4+CD25+) and Plasma Levels of Cytokines in Parkinson's Disease. Mol Neurobiol. 2018;55(2):1488–97.
58. Kustrimovic N, Comi C, Magistrelli L, Rasini E, Legnaro M, Bombelli R, et al. Parkinson's disease patients have a complex phenotypic and functional Th1 bias: Cross-sectional studies of CD4+ Th1/Th2/T17 and Treg in drug-naïve

- and drug-treated patients. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):1–17.
59. Ciaramella A, Salani F, Bizzoni F, Pontieri FE, Stefani A, Pierantozzi M, et al. Blood Dendritic Cell Frequency Declines in Idiopathic Parkinson's Disease and Is Associated with Motor Symptom Severity. *PLoS One*. 2013;8(6).
60. Reynolds AD, Stone DK, Hutter JAL, Benner EJ, Mosley RL, Gendelman HE. Regulatory T Cells Attenuate Th17 Cell-Mediated Nigrostriatal Dopaminergic Neurodegeneration in a Model of Parkinson's Disease. *J Immunol*. 2010;184(5):2261–71.
61. Arce-Sillas A, Álvarez-Luquín D, Leyva-Hernández J, Boll M, Montes-Moratilla E, Vivas-Almazán V, et al. Improvement in regulatory populations after one year of dopaminergic treatment in Parkinson's disease patients. Submitted.
62. Nasi G, Ahmed T, Rasini E, Fenoglio D, Marino F, Filaci G, et al. Dopamine inhibits human CD8+ Treg function through D 1 -like dopaminergic receptors. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2019;332(February):233–41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.02.007>
63. Bjornestad A, Tysnes O-B, Larsen JP, Alves G. Reliability of Three Disability Scales for Detection of Independence Loss in Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis*. 2016;2016:1–6.
64. Parkinson Study Group. Pramipexole vs Levodopa as Initial Treatment for Parkinson Disease. *Jama* [Internet]. 2000;284(15):1931. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.284.15.1931>
65. Rossor MN, Watkins J, Brown MJ, Reid JL, Dollery CT. Plasma levodopa, dopamine and therapeutic response following levodopa therapy of

- Parkinsonian patients. *J Neurol Sci.* 1980;46(3):385–92.
66. Izumi Y, Sawada H, Yamamoto N, Kume T, Katsuki H, Shimohama S, et al. Novel neuroprotective mechanisms of pramipexole, an anti-Parkinson drug, against endogenous dopamine-mediated excitotoxicity. *Eur J Pharmacol.* 2007;557(2–3):132–40.
67. Schutt CR, Gendelman HE, Mosley RL. Tolerogenic bone marrow-derived dendritic cells induce neuroprotective regulatory T cells in a model of Parkinson's disease. *Mol Neurodegener.* 2018;13(1):1–17.
68. Unger WWJ, Laban S, Kleijwegt FS, Van Der Slik AR, Roep BO. Induction of Treg by monocyte-derived DC modulated by vitamin D3 or dexamethasone: Differential role for PD-L1. *Eur J Immunol.* 2009;39(11):3147–59.
69. Contreras F, Prado C, González H, Franz D, Osorio-Barrios F, Osorio F, et al. Dopamine Receptor D3 Signaling on CD4+ T Cells Favors Th1- and Th17-Mediated Immunity. *J Immunol.* 2016;196(10):4143–9.
70. Tristão FSM, Rocha FA, Carlos D, Ketelut-Carneiro N, Souza COS, Milanezi CM, et al. Th17-inducing cytokines IL-6 and IL-23 are crucial for granuloma Formation during experimental Paracoccidioidomycosis. *Front Immunol.* 2017;8(AUG):949.
71. Stansley BJ, Yamamoto BK. L-dopa-induced dopamine synthesis and oxidative stress in serotonergic cells. *Neuropharmacology* [Internet]. 2013;67:243–51. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.11.010>
72. Grozdanov V, Bliederaeuser C, Ruf WP, Roth V, Fundel-Clemens K, Zondler L, et al. Inflammatory dysregulation of blood monocytes in

Parkinson's disease patients. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2014;128(5):651–63. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25284487><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4201759>

73. Macchi B, Paola R, Marino-Merlo F, Felice M, Cuzzocrea S, Mastino A. Inflammatory and Cell Death Pathways in Brain and Peripheral Blood in Parkinson's Disease. *CNS Neurol Disord - Drug Targets*. 2015;14(3):313–24.

XIII. ANEXOS

Anexo A

Criterios clínicos para el diagnóstico de Enfermedad de Parkinson de la MDS

Criterios de soporte

1. Respuesta benéfica clara y dramática a tratamiento dopaminérgico (>30% de mejoría en UPDRS III o mejoría descrita por paciente o cuidador primario). Fluctuaciones clínicas on/off marcadas, pueden ser predecibles
2. Presencia de discinesias inducidas por levodopa
3. Temblor en reposo de un miembro (documentado)
4. Pérdida olfatoria o denervación cardíaca en scintigrafía con metaiodobenzylguanidina.

Criterios absolutos de exclusión

1. Trastornos cerebelosos (ataxia, marcha cerebelar), trastornos oculomotores cerebelosos (nistagmus evocado sostenido, sacadas hipermétricas).
2. Parálisis supranuclear vertical descendente de la mirada o enlentecimiento selectivo de sacadas verticales.
3. Diagnóstico de demencia frontotemporal, afasia progresiva primaria en los primeros 5 años de la enfermedad
4. Parkinsonismo restringido a miembros inferiores por más de tres años.
5. Tratamiento con un antagonista de receptores de dopamina o un agente depletor de dopamina en dosis y tiempo consistentes con parkinsonismo por fármacos.
6. Ausencia de respuesta observable a altas dosis de levodopa
7. Pérdida sensitiva cortical inequívoca (grafestesia, esterognosia), apraxia ideomotora, afasia progresiva.
8. Neuroimagen funcional normal del sistema presináptico dopaminérgico
9. Documentación de una condición alternativa que pueda causar parkinsonismo y sea más probable que la EP.

Banderas rojas

1. Rápida progresión en la alteración de la marcha que requiere uso de silla de ruedas en menos de 5 años de evolución de la enfermedad
2. Ausencia de progresión de síntomas motores en 5 años a menos que se relacione con el tratamiento
3. Disfunción bulbar temprana
4. Disfunción autonómica severa en los primeros 5 años de evolución: hipotensión ortostática, retención urinaria o incontinencia.
5. Disfunción inspiratoria
6. Caídas recurrentes (> 1 al año) por alteración del equilibrio en los primeros 3 años.
7. Distonías o contracturas desproporcionadas en manos o pies en los primeros 10 años.
8. Ausencia de los síntomas no motores comunes en los primeros 5 años (hiposmia, alteraciones del sueño REM, depresión o disfunción autonómica)

9. Signos piramidales o hiperreflexia no explicada por otra causa
 10. Parkinsonismo bilateral simétrico

Anexo B

“ESCALA UNIFICADA PARA LA ENFERMEDAD DE PARKINSON”
UNIFIED PARKINSON’S DISEASE RATING SCALE (UPDRS)

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: 95/14

**EFECTO DEL TRATAMIENTO CON AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS
 EN LA RESPUESTA INMUNOMODULADORA DE PACIENTES CON
 ENFERMEDAD DE PARKINSON**

☞ **DATOS DEL PACIENTE**

Nombre: _____

Medico tratante _____

Número de expediente: _____ Edad: ____ Fecha: _____

MUESTRA INICIAL	6 Meses	1 Año	1 Año 6 Meses	2 Años	2 Años 6 Meses	3er Año
-----------------	---------	-------	---------------	--------	----------------	---------


PARTE I. ESTADO MENTAL, CONDUCTA Y ESTADO DE ÁNIMO (Referido a la semana previa)		
Afección intelectual	0	Ninguna
	1	Leve (olvido evidentes con recuerdo parcial de algunos hechos sin otras dificultades)
	2	Moderada pérdida de memoria con desorientación y cierta dificultad para la resolución de problemas complejos. Deterioro funcional leve, aunque evidente, en el domicilio, con necesidad de ayudas ocasionales
	3	Pérdida grave de memoria con desorientación temporal y a menudo espacial, severa dificultad para resolver problemas
	4	Pérdida grave de memoria, conservando solamente la orientación personal. Incapacidad de emitir juicios o resolver problemas. Requiere mucha ayuda en el cuidado personal. NO SE PUEDE QUEDAR SOLO.
Trastorno del pensamiento (por demencia o toxicidad farmacológica)	0	Ninguno
	1	Sueños vívidos
	2	Alucinaciones "benignas" conservando la capacidad de discernir
	3	Alucinaciones o delirios ocasionales o más frecuentes sin capacidad de discernir, pueden interferir con las actividades cotidianas.
	4	Alucinaciones o delirios persistentes; "psicosis activas" INCAPACIDAD PARA CUIDAR DE SI MISMO
Depresión	0	No hay depresión
	1	Periodos de tristeza o culpabilidad superiores a lo normal, aunque nunca mantenidos durante más de unos días o una semana
	2	Depresión mantenida durante 1 semana o mas
	3	Depresión mantenida + Síntomas vegetativos (insomnio, anorexia, abulia, pérdida de interés y pérdida de peso)
	4	Depresión mantenida + Síntomas vegetativos + Pensamientos o intentos de suicidio
Motivación / iniciativa	0	Normal
	1	Menos enérgico de lo habitual, más pasivo
	2	Pérdida de iniciativa o desinterés en actitudes no rutinarias
	3	Pérdida de iniciativa o desinterés en actividades de la rutina diaria
	4	Aislado, pérdida completa de la motivación



PARTE II. ACTIVIDADES DE LA VIDA DIARIA (referido a la semana previa)		
Lenguaje hablado	0	Normal
	1	Levemente afectado, sin dificultad para ser comprendido
	2	Moderadamente afectado (a veces hay que pedirle que repita cosas para entenderle)
	3	Severamente afectado(frecuentemente se le pide que repita las cosas)
	4	Ininteligible la mayor parte del tiempo
Salivación	0	Normal
	1	Exceso de saliva en la boca. Leve pero evidente; puede tener babeo nocturno.
	2	Moderado exceso de salivación, puede tener babeo mínimo
	3	Marcado exceso de saliva; cierto grado con babeo
	4	Marcado babeo que requiere uso constante de pañuelo
Deglución	0	Normal
	1	Rara vez se atraganta
	2	Se atraganta ocasionalmente
	3	Requiere comida blanda
	4	Requiere alimentación por sonda nasogastrica o gastrostomía (no come por via oral)
Escritura	0	Normal
	1	Levemente pequeña o lenta
	2	Moderadamente lenta o pequeña pero todas las palabras son legibles
	3	Severamente afectada, no son legibles todas las palabras
	4	La mayoría de las palabras son ilegibles
Cortar alimentos / manejar utensilios	0	Normal
	1	Lento y poco hábil pero no necesita ayuda
	2	Puede cortar la mayoría de alimentos, aunque con poca habilidad y lentitud. Para algunos necesita ayuda
	3	Le deben cortar la comida, pero puede alimentarse solo lentamente
	4	Necesita que lo alimenten
Vestir	0	Normal
	1	Lento, pero sin ayuda
	2	Ocasionalmente necesita ayuda (abrochándose los botones, poniéndose las mangas)
	3	Necesita considerable ayuda aunque puede hacer algunas cosas solo
	4	Necesita ayuda completa
Higiene	0	Normal
	1	Lento pero sin requerir ayuda
	2	Necesita ayuda con la ducha o el baño o es muy lento en las actividades higiénicas
	3	Necesita ayuda para lavarse, cepillarse los dientes, peinarse, ir al baño
	4	Necesita ayuda completa, uso de sonda Foley para orinar u otra ayuda mecánica
Darse la vuelta en la cama / ajustar las sábanas	0	Normal
	1	Lento y poco habil pero sin requerir ayuda
	2	Puede darse la vuelta en la cama solo o ajustar las sábanas pero con gran dificultad
	3	Puede intentarlo pero no llega a darse la vuelta o ajustar las sabanas solo
	4	Necesita ayuda completa
Caídas sin relación al "freezing" (Fenómeno de congelación)	0	Ninguna
	1	Rara vez
	2	Se cae ocasionalmente menos de una vez al día
	3	Se cae con promedio una vez al día
	4	Se cae mas de una vez por día
Caídas por "Freezing" al caminar	0	Normal
	1	Rara vez aparece congelación al caminar, puede haber titubeo al inicio
	2	" Congelación ocasional en el curso de la marcha

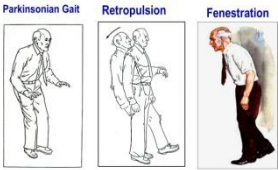

Congelación de la marcha	3	“ Congelación frecuente al caminar, causando caídas ocasionales
	4	Frecuentes caídas por “congelación de la marcha
Caminar	0	Normal
	1	Leve dificultad, tiende a arrastrar las piernas o no balancea los brazos
	2	Moderada dificultad pero requiere poca o ninguna ayuda
	3	Intensa afectación de la marcha que requiere ayuda
	4	No puede caminar incluso con ayuda
Temblor (queja sintomática de cualquier parte del cuerpo)	0	Ausente
	1	Leve e infrecuente, no molesta al paciente
	2	Moderado, molesto para el paciente
	3	Intenso, interfiere con muchas actividades
	4	Marcado, interfiere con la mayoría de las actividades
Molestias sensoriales relacionadas con el parkinsonismo	0	Ninguna
	1	Ocasionalmente tiene insensibilidad(entumecimiento), hormigueo o leve dolor
	2	Frecuentemente tiene entumecimiento, hormigueo o dolor pero no preocupante
	3	Sensación de dolor frecuente
	4	Dolor insoportable

PARTE III. EXPLORACIÓN MOTORA

Lenguaje hablado	0	Normal	
	1	Leve pérdida de expresión, dicción, volumen de la voz	
	2	Monótono, mal articulado pero comprensible, moderadamente alterado	
	3	Marcada dificultad, difícil de entender	
	4	Ininteligible	
Expresión facial	0	Normal	
	1	Leve hipomimia, puede considerarse inexpressión normal (cara de jugador de poker)	
	2	Disminución discreta pero claramente anormal de la expresión facial	
	3	Moderada hipomimia, labios separados en algunas ocasiones	
	4	Cara fija (de mascara), labios separados 0.6 cm o más con pérdida acusada o completa de expresión facial	
Temblor de reposo	Cara	0	Ausente
		1	Leve e infrecuente
		2	De amplitud leve y continuo o moderada y aparición intermitente
		3	Moderado en amplitud y presente la mayor parte del tiempo
		4	Marcada amplitud y presente la mayor parte del tiempo
	ESD	0	Ausente
		1	Leve e infrecuente
		2	Leve en amplitud y persistente o moderado en amplitud pero intermitente
		3	Moderado en amplitud y presente la mayor parte del tiempo
		4	Marcada amplitud y presente la mayor parte del tiempo
	ESI	0	Ausente
		1	Leve e infrecuente
		2	Leve en amplitud y persistente o moderado en amplitud pero intermitente
		3	Moderado en amplitud y presente la mayor parte del tiempo
		4	Marcada amplitud y presente la mayor parte del tiempo
	EID	0	Ausente
		1	Leve e infrecuente
		2	Leve en amplitud y persistente o moderado en amplitud pero intermitente
		3	Moderado en amplitud y presente la mayor parte del tiempo
		4	Marcada amplitud y presente la mayor parte del tiempo
EII	0	Ausente	
	1	Leve e infrecuente	

		2	Leve en amplitud y persistente o moderado en amplitud pero intermitente		
		3	Moderado en amplitud y presente la mayor parte del tiempo		
		4	Marcada amplitud y presente la mayor parte del tiempo		
Temblores postural /acción	ESD	0	Ausente		
		1	Leve, presente con acción		
		2	Moderado en amplitud, presente con acción		
		3	Moderado, presente con acción y manteniendo la postura		
	ESI	4	Marcado en amplitud, interfiere con la alimentación		
		0	Ausente		
		1	Leve, presente con acción		
		2	Moderado en amplitud, presente con acción		
		3	Moderado, presente con acción y manteniendo la postura		
		4	Marcado en amplitud, interfiere con la alimentación		
		Cuello	0	Ausente	
			1	Leve o se activa con movimientos en espejo ** u otros	
2	Leve/moderada				
3	Marcada, pero se obtiene movimiento en toda su amplitud fácilmente				
ESD	4	Severa, el rango de movilidad se obtiene con dificultad			
	0	Ausente			
	1	Leve o se activa con movimientos en espejo** u otros			
	2	Leve/moderada			
ESI	3	Marcada, pero se obtiene movimiento en toda su amplitud fácilmente			
	4	Severa, el rango de movilidad se obtiene con dificultad			
	0	Ausente			
	1	Leve o se activa con movimientos en espejo** u otros			
EID	2	Leve/moderada			
	3	Marcada, pero se obtiene movimiento en toda su amplitud fácilmente			
	4	Severa, el rango de movilidad se obtiene con dificultad			
	0	Ausente			
EII	1	Leve o se activa con movimientos en espejo ** u otros			
	2	Leve/moderada			
	3	Marcada, pero se obtiene movimiento en toda su amplitud fácilmente			
	4	Severa, el rango de movilidad se obtiene con dificultad			
Rigidez (explorado pasivamente, paciente relajado y sentado, ignorando rueda dentada) ** Movimiento en espejo (sacudidas involuntarias que se producen de forma simultánea al movimiento voluntario de los músculos homólogos contralaterales)	Derecha	0	Normal		
		1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud		
		2	Moderada dificultad. Fatiga clara y precoz, puede haber detenciones en el movimiento ocasionales		
		3	Severa dificultad. Frecuente titubeo al iniciar el movimiento, se detiene en los movimiento efectuados		
	Izquierda	4	Puede apenas realizarlos		
		0	Normal		
		1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud		
		2	Moderada dificultad. Fatiga clara y precoz, puede haber detenciones en el movimiento ocasionales		
		3	Severa dificultad. Frecuente titubeo al iniciar el movimiento, se detiene en los movimiento efectuados		
		4	Puede apenas realizarlos		
		Prueba punta de dedos « finger taps » Golpear pulgar contra índice en rápida sucesión con la mayor amplitud		0	Normal
				1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud
Movimiento de mano	Derecha	0	Normal		
		1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud		

<p>Movimientos alternativos rápidos (pronación-supinación) Mover manos en sentido vertical y horizontal ambas manos simultáneamente</p>	<p>Izquierda</p> 	2	Moderada dificultad. Fatiga clara y precoz, puede haber detenciones en el movimiento ocasionales
		3	Severa dificultad. Frecuente titubeo al iniciar el movimiento, se detiene en los movimiento efectuados
		4	Puede apenas realizarlos
		0	Normal
		1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud
	<p>Derecha</p> 	2	Moderada dificultad. Fatiga clara y precoz, puede haber detenciones en el movimiento ocasionales
		3	Severa dificultad. Frecuente titubeo al iniciar el movimiento, se detiene en los movimiento efectuados
		4	Puede apenas realizarlos
		0	Normal
		1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud
<p>Agilidad (amplitud de 8 cm) Con el paciente sentado pedirle que golpee el talón contra el suelo levantando la pierna por completo rápida y sucesivamente</p>	<p>Derecha</p>	0	Normal
		1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud
		2	Moderada dificultad. Fatiga clara y precoz, puede haber detenciones en el movimiento ocasionales
		3	Severa dificultad. Frecuente titubeo al iniciar el movimiento, se detiene en los movimiento efectuados
		4	Puede apenas realizarlos
	<p>Izquierda</p>	0	Normal
		1	Leve enlentecimiento y/o reducción en amplitud
		2	Moderada dificultad. Fatiga clara y precoz, puede haber detenciones en el movimiento ocasionales
		3	Severa dificultad. Frecuente titubeo al iniciar el movimiento, se detiene en los movimiento efectuados
		4	Puede apenas realizarlos
<p>Levantarse de una silla con los brazos cruzados</p>	0	Normal	
	1	Lento, o puede necesitar más de un intento	
	2	Se levanta apoyándose con los brazos de la silla	
	3	Tiende a caer hacia atrás, puede necesitar varios intentos pero puede levantarse sin ayuda	
	4	Incapaz de levantarse sin ayuda	
<p>Postura</p>	0	Normal, erecto	
	1	Levemente inclinado, no totalmente erguido, podría ser normal para una persona mayor	
	2	Anormal. Postura encorvada, puede que se incline ligeramente hacia algún lado	
	3	Severa inclinación con cifosis, puede inclinarse moderadamente hacia un lado	
	4	Marcada flexión con postura extremadamente anormal	
	0	Normal	
	1	Camina lentamente, puede alternar con pasos cortos pero sin balanceo o festinación (pasos de duda)Arrastra los pies	

Marcha		2	Camina con dificultad, con poca o sin ayuda, algún balanceo, pasos cortos arrastra los pies
		3	Afectación severa de la marcha, necesita ayuda frecuente
		4	No puede andar aún con ayuda
		0	Normal
Estabilidad postural (prueba de retropulsión) Se empuja al paciente de manera súbita hacia atrás dando un tirón sobre los hombros previamente avisando 		1	Retropulsión. Se recupera sin ayuda
		2	Ausencia de respuesta postural, se caería si no lo evita el examinador
		3	Muy inestable, tiende a perder equilibrio espontáneamente
		4	Inestable para mantenerse de pie sin ayuda
		0	Nada
Bradicinesia / hipocinesia (combina lentitud y duda marcha, disminución del braceo, pequeña amplitud, pobreza de movimientos durante la marcha)		1	Mínima lentitud, movimientos con carácter deliberado, podría ser normal, posible disminución de amplitud
		2	Leve lentitud y escasez de movimientos que son definitivamente anormales, hay disminución en la amplitud de movimientos de forma alternada
		3	Moderada lentitud, disminuye la amplitud de movimientos
		4	Marcada lentitud, escasez de movimientos, disminuye la amplitud de movimientos
		0	Nada
PARTE IV. COMPLICACIONES DEL TRATAMIENTO			
A) DISCINESIAS			
Duración (¿Qué proporción de las hrs despierto están presentes las discinesias?)		0	Ninguna
		1	1 - 25% del día
		2	26 - 50% del día
		3	51 - 75% del día
		4	76 - 100% del día
Discapacidad ¿Hasta qué punto producen discapacidad las discinesias?		0	No son incapacitantes
		1	Ligeramente incapacitantes
		2	Moderadamente incapacitantes
		3	Gravemente incapacitantes
		4	Incapacidad total
Dolor ¿Hasta qué punto producen dolor las discinesias?		0	No son dolorosas
		1	Dolor leve
		2	Dolor moderado
		3	Dolor severo
		4	Dolor extremo
Presencia de distonía matutina		0	No
		1	Sí
B) FLUCTUACIONES CLÍNICAS			
¿Aparecen algunos periodos "off" de forma PREDECIBLE en relación con las tomas de medicación?		0	No
		1	Sí
		0	No

Aparecen algunos periodos "off" de forma IMPREDECIBLE en relación con las tomas de medicación?	1	Sí
¿Algunos de los periodos "off" se instauran de forma SÚBITA (en pocos segundos)?	0	No
	1	Sí
¿Qué proporción de las horas de vigilia está el paciente en situación "off" como promedio?	0	Ninguna
	1	1 – 25% del día
	2	26 – 50% del día
	3	51 – 75% del día
	4	76 – 100% del día
C) OTRAS COMPLICACIONES		
¿Tiene el paciente anorexia, náuseas o vómitos?	0	No
	1	Sí
¿Tiene el paciente algún trastorno del sueño, tal como insomnio o hipersomnolencia?	0	No
	1	Sí
¿Tiene el paciente síntomas de ortostatismo?	0	No
	1	Sí

Anexo C

“ESCALA MODIFICADA HOEHN Y YAHR”

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: 95/14 EFECTO DEL TRATAMIENTO CON AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS EN LA RESPUESTA INMUNOMODULADORA DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON

☞ DATOS DEL PACIENTE

Nombre: _____

Médico tratante _____

Número de expediente: _____ Edad: ____ Fecha: _____

MUESTRA INICIAL	6 Meses	1 Año	1 Año 6 Meses	2 Años	2 Años 6 Meses	3er Año
-----------------	---------	-------	---------------	--------	----------------	---------

ESTADIO	
ESTADIO 0	Ningún signo de enfermedad
ESTADIO 1	Enfermedad unilateral
ESTADIO 1.5	Afectación unilateral y axial
ESTADIO 2	Enfermedad bilateral, sin alteración del equilibrio
ESTADIO 2.5	Enfermedad bilateral leve, con recuperación en la prueba de retropulsión
ESTADIO 3	Enfermedad bilateral leve a moderada; cierta inestabilidad postural, físicamente independiente
ESTADIO 4	Discapacidad severa; aún capaz de caminar o permanecer de pie sin ayuda
ESTADIO 5	Permanece en una silla de ruedas o en decúbito si no tiene ayuda

Anexo D

Autorización por el comité de ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ



50

"2014, Año del escritor Octavio Paz"

Comité de Ética en Investigación

Dra. Teresa Corona
Presidenta Ex Officio

Dr. Ricardo Colín Piana
Presidente

Dra. Helgi Jung Cook
Vicepresidenta

M.en C. Adriana Ochoa
Secretaría

Miembros Honorarios:

Dr. Antonio Torres Ruiz
Dr. Fernando Zermelo Pohls
Dra. Ma. Elisa Alonso Vilatela

Vocales:

Titular
Dra. Erika Rivera Durón
Suplente
Dra. Nancy Monroy Jaramillo

Titular
Dr. Daniel San Juan Orta
Suplente
M. en C. Iván Pérez Neri

Titular
Dra. Mariana Espinola Nadurille
Suplente
Dr. Adolfo Leyva Rendón

Titular
Dra. Zoila Trujillo de los Santos
Suplente
M.E. Guadalupe Nava Galán

Titular
Mtra. Alejandra Sánchez Guzmán
Suplente
Lic. Claudia García Pastrana

Titular
Dra. Yaneth Rodríguez Agudelo
Suplente
M. en C. Mireya Chávez Oliveros

Titular
Dr. Juan Barges Coll
Suplente
Dr. Daniel Crail Melendez

Consejo Consultivo:

Dr. Tirso Zúñiga Santamaría
M. en C. T. S. Francisco Calzada Lemus
Rosario Corona Cao Romero

México, D.F., 11 Diciembre del 2014.


OFICIO N° CEI/108/14
ASUNTO: PROTOCOLO 95/14

DRA. LAURA ADALID PERALTA
UNIDAD PERIFERICA IIBM-INNN
INNYN MVS.
PRESENTE.

Estimada Dra. Adalid Peralta:

Se recibió oficio N° DIC/512/14 firmado por la Dra. Ma. Lucinda Aguirre Cruz Directora de Investigación en el cual nos comunica que el Protocolo de Investigación N° 95/14 titulado: "ANÁLISIS DE LA RESPUESTA INMUNOMODULADORA Y SU ROL EN LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON EN PACIENTES TRATADOS CON AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS", fue aprobado por el Comité Científico requiriéndose el análisis y aprobación de este Comité para los efectos consiguientes. Le comunicamos que los aspectos relativos al Valor Social, la Validez Científica, el Consentimiento Informado, la Relación Riesgo Beneficio y la Selección Equitativa de la Muestra han sido considerados como adecuados por lo que se da por **APROBADO** el protocolo en cuestión para los efectos a que haya lugar.

CORDIALMENTE


DR. ANTONIO TORRES RUIZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE BIOÉTICA


DR. RICARDO COLÍN PIANA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA
EN INVESTIGACIÓN


M. en C. ADRIANA OCHOA MORALES
SECRETARIA

c.p. Ma. Lucinda Aguirre Cruz.- Directora de Investigación
c.p. Dr. Amín Cervantes Amiaga.- Titular de la Unidad de Apoyo al Predictamen
c.p. Dr. Daniel San Juan Orta.- Jefe del Depto. de Investigación Clínica
c.p. Archivo ATR/Innch.

Insurgentes Sur # 3677 Col. La Fama C.P. 14269 México, D.F. Tel. (55)55063822 ext. 5027
www.innn.salud.gob.mx

Anexo E

“ESCALA DE ACTIVIDADES DE LA VIDA DIARIA DE SCHWAB & ENGLAND”

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: 95/14 EFECTO DEL TRATAMIENTO CON AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS EN LA RESPUESTA INMUNOMODULADORA DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON

☞ DATOS DEL PACIENTE

Nombre: _____

Medico tratante _____

Número de expediente: _____ Edad: ____ Fecha: _____

MUESTRA INICIAL	6 Meses	1 Año	1 Año 6 Meses	2 Años	2 Años 6 Meses	3er Año
-----------------	---------	-------	---------------	--------	----------------	---------

100%	Completamente independiente. Capaz de realizar todas las tareas sin lentitud, dificultad o alteraciones. Esencialmente normal. No aprecia ninguna dificultad.
90%	Completamente independiente. Capaz de realizar todas las tareas con cierto grado de lentitud, dificultad o alteración. Podría tardar el doble de tiempo. Comienza a ser consciente de su dificultad.
80%	Completamente independiente para realizar la mayor parte de las tareas. Tarda el doble. Consciente de sus dificultades y lentitud.
70%	No es totalmente independiente. Mayor dificultad con ciertas tareas. En algunas tarda tres o cuatro veces del tiempo habitual. Tiene que invertir gran parte del día en realizar las tareas.
60%	Cierto grado de dependencia. Puede realizar la mayor parte de las tareas, pero con mucha lentitud y mucho esfuerzo. Errores; algunas tareas imposibles.
50%	Más dependiente. Ayuda para la mitad de las actividades, más lento, etc. Dificultades con todo.
40%	Muy dependiente. Puede ayudar en todas las tareas, pero pocas las logra hacer solo.
30%	Con esfuerzo, de vez en cuando hace unas pocas actividades solo o las empieza solo. Necesita mucha ayuda.

20%	No hace nada sólo. Puede ayudar algo en algunas actividades. Muy inválido.
10%	Totalmente dependiente, indefenso. Completamente inválido.
0%	No mantiene adecuadamente funciones vegetativas como la deglución, función vesical o intestinal. Postrado en cama.

Anexo F

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA: 95/14 EFECTO DEL TRATAMIENTO CON AGONISTAS DOPAMINÉRGICOS EN LA RESPUESTA INMUNOMODULADORA DE PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON

Inventario de Depresión de Beck (BDI)

En este cuestionario aparecen varios grupos de afirmaciones. Por favor, lea con atención cada una. A continuación, señale cuál de las afirmaciones de cada grupo describe mejor cómo se ha sentido durante esta **última semana**, incluido en el día de hoy. Si dentro de un mismo grupo, hay más de una afirmación que considere aplicable a su caso, márquela también. Asegúrese de leer todas las afirmaciones dentro de cada grupo antes de efectuar la elección, se puntuara (0-1-2-3)

☞ DATOS DEL PACIENTE

Nombre: _____

Medico tratante _____

Número de expediente: _____ Edad: ____ Fecha: _____

MUESTRA INICIAL	6 Meses	1 Año	1 Año 6 Meses	2 Años	2 Años 6 Meses	3er Año
-----------------	---------	-------	---------------	--------	----------------	---------

1)

- No me siento triste
- Me siento triste
- Me siento triste continuamente y no puedo dejar de estarlo
- Me siento tan triste o tan desgraciado que no puedo soportarlo

2)

- No me siento especialmente desanimado de cara al futuro
- Me siento desanimado de cara al futuro
- Siento que no hay nada por lo que luchar
- El futuro es desesperanzador y las cosas no mejorarán

3)

- No me siento como un fracasado
- He fracasado más que la mayoría de las personas
- Cuando miro hacia atrás, lo único que veo es un fracaso tras otro
- Soy un fracaso total como persona

4)

- Las cosas me satisfacen tanto como antes
- No disfruto de las cosas tanto como antes
- Ya no tengo ninguna satisfacción de las cosas
- Estoy insatisfecho o aburrido con respecto a todo

5)

- No me siento especialmente culpable
 - Me siento culpable en bastantes ocasiones
 - Me siento culpable en la mayoría de las ocasiones
 - Me siento culpable constantemente
-

6)

- No creo que esté siendo castigado
 - Siento que quizá esté siendo castigado
 - Espero ser castigado
 - Siento que estoy siendo castigado
-

7)

- No estoy descontento de mí mismo
 - Estoy descontento de mí mismo
 - Estoy a disgusto conmigo mismo
 - Me detesto
-

8)

- No me considero peor que cualquier otro
 - Me autocrítico por mi debilidad o por mis errores
 - Continuamente me culpo por mis faltas
 - Me culpo por todo lo malo que sucede
-

9)

- No tengo ningún pensamiento de suicidio
 - A veces pienso en suicidarme, pero no lo haré
 - Desearía poner fin a mi vida
 - Me suicidaría si tuviese oportunidad
-

10)

- No lloro más de lo normal
 - Ahora lloro más que antes
 - Lloro continuamente
 - No puedo dejar de llorar aunque me lo proponga
-

11)

- No estoy especialmente irritado
 - Me molesto o irrito más fácilmente que antes
 - Me siento irritado continuamente
 - Ahora me irritan en absoluto cosas que antes no me molestaban
-

12)

- No he perdido el interés por los demás
 - Estoy menos interesado en los demás que antes
 - He perdido gran parte del interés por los demás
 - He perdido todo el interés por los demás
-

13)

- Tomo mis propias decisiones igual que antes
 - Evito tomar decisiones más que antes
 - Tomar decisiones me resulta mucho más difícil que antes
 - Me es imposible tomar decisiones
-

14)

- No creo tener peor aspecto que antes
 - Estoy preocupado porque parezco envejecido y poco atractivo
 - Noto cambios constantes en mi aspecto físico que me hacen parecer poco atractivo
 - Creo que tengo un aspecto horrible
-

15)

- Trabajo igual que antes
 - Me cuesta más esfuerzo de lo habitual comenzar a hacer algo
 - Tengo que obligarme a mí mismo para hacer algo
 - Soy incapaz de llevar a cabo ninguna tarea
-

16)

- Duermo tan bien como siempre
 - No duermo tan bien como antes
 - Me despierto 1-2 horas antes de lo habitual y me cuesta volverme a dormir
 - Me despierto varias horas antes de lo habitual y ya no puedo volverme a dormir
-

17)

- No me siento más cansado de lo normal
 - Me canso más que antes
 - Me canso en cuanto hago cualquier cosa
 - Estoy demasiado cansado para hacer nada
-

18)

- Mi apetito no ha disminuido
 - No tengo tan buen apetito como antes
 - Ahora tengo mucho menos apetito
 - He perdido completamente el apetito
-

19)

- No he perdido peso últimamente
 - He perdido más de 2 kilos
 - He perdido más de 4 kilos
 - He perdido más de 7 kilos
-

20)

- No estoy preocupado por mi salud
 - Me preocupan los problemas físicos como dolores, etc; el malestar de estómago o los catarros
 - Me preocupan las enfermedades y me resulta difícil pensar en otra cosa
 - Estoy tan preocupado por las enfermedades que soy incapaz de pensar en otra cosa
-

21)

- No he observado ningún cambio en mi interés por el sexo
- La relación sexual me atrae menos que antes
- Estoy mucho menos interesado por el sexo que antes
- He perdido totalmente el interés sexual

Una calificación de 0 a 13: sin depresión

Una calificación de 14 a 19: depresión leve

Una calificación de 20 a 28: depresión moderada

Una calificación de 29 a 63: depresión severa