



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

---

SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL  
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN  
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
CENTRO DERMATOLÓGICO "DR. LADISLAO DE LA PASCUA"

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN  
**DERMATOLOGÍA**

"UNA POBLACIÓN CELULAR LINAJE NEGATIVO NO CARACTERIZADA  
QUE PARECE SER UNA SUBPOBLACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS (CD  
123+ HLA-DR-) CONSTITUYE UN MARCADOR SEROLÓGICO DE  
ACTIVIDAD Y SEVERIDAD CLÍNICA DE PSORIASIS "

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
CLÍNICO-INMUNOLÓGICO

PRESENTADO POR:  
DRA. MARÍA DEL MAR PAOLA CAMPOS FERNÁNDEZ

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:  
ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA

DIRECTOR DE TESIS  
DR. FERMÍN JURADO SANTA CRUZ

2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**“UNA POBLACIÓN CELULAR LINAJE NEGATIVO NO CARACTERIZADA  
QUE PARECE SER UNA SUBPOBLACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS  
(CD 123+ HLA-DR-) CONSTITUYEN UN MARCADOR SEROLÓGICO DE  
ACTIVIDAD Y SEVERIDAD CLÍNICA DE PSORIASIS “**

Dra. María del Mar Paola Campos Fernández

Vo. Bo.

Dr. Fermín Jurado Santa Cruz  
Director de Tesis y Profesor Titular del Curso de  
Especialización en Dermatología

Vo. Bo.

Dr. Antonio Fraga Mouret  
Director de Educación e Investigación

**A mi madre**

**Médico de cuerpos y almas, mujer de excelencia**

**Mi guía, maestra, mejor amiga y compañera**

**A quien le debo TODO lo que soy**

**Por ti y para ti mami**

**Tu ejemplo como mujer es mi mayor inspiración**

**A mi esposo  
El amor de mi vida  
Por su comprensión y ayuda,  
Pero sobretodo por su amor  
Que ilumina mi camino**

**A mi hijo Santiago  
Mi más grande sueño hecho realidad,  
Con tu mirada todo es posible**

## **II. AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por llenar día con día de bendiciones mi vida.

A mi madre, por su inagotable fe en mi, por su generosidad en todos sentidos y su amor infinito, sin ti nada de esto hubiera sido posible.

A mi esposo, por su paciencia y su ayuda invaluable a través de los años.

Al Dr. Fermín Jurado, mi maestro, por sus enseñanzas, su ejemplo y su cariño.

Al Dr. Daniel Alcalá, por su amistad, sus consejos y su ayuda en todo momento.

A la Dra. Rocío Orozco, por ser un ejemplo de rectitud y excelencia como dermatóloga y como mujer, por su acogida, su cariño y sus consejos.

A la Dra. Linda García, mi maestra, quien me abrió por primera vez las puertas del maravilloso mundo de la dermatología.

A la Dra. Josefina Carbajosa, por enamorarme de la cirugía dermatológica y por sus enseñanzas tácitas de vida.

Al Dr. Agustín Alomar, quien tocó mi vida para siempre con su cariño, su calidez y sus conocimientos.

A la Dra. Esther Serra, por compartir conmigo tantas cosas y hacer un año de mi vida maravilloso.

A Joan Dalmau, por su ejemplo, su acogida y su amistad.

A Daniel Asz, mi hermano, por su amistad y apoyo incondicional perenne.

A Regina, mi amiga en todo momento.

A Cori, por tu amistad, apoyo y ejemplo.

A todas mis amigas del Centro Dermatológico Pascua, por hacer de estos tres años los más felices de mi vida.

A la Dra. Myrna Rodríguez, por su dedicación, sus enseñanzas y su cariño.

A la Dra. Virginia Martínez, por su apoyo en momentos difíciles que nunca olvidaré y por su ayuda en todo momento.

A la Dra. Alonzo, por creer en mi y por compartir sus vastos conocimientos y consejos.

A la Dra. Josefina De Peña, por su gran calidad humana y su amor a los pacientes, un ejemplo a seguir.

Al Dr. Juan Ferrando, por sus enseñanzas que nunca olvidaré.

A Lupita, Angie, Evita y Francis, por guiarme con su experiencia, por su ayuda incondicional y sobretodo por su amistad.

A Paty, Yolita y Ángeles, por su amabilidad incansable y su ayuda cotidiana.

Al Dr. Atalo Alanis, por mostrarme que el éxito debe ir acompañado de una gran calidad humana, sencillez y amor por el prójimo.

A la Dra. Laura Peralta, por su disposición y su paciencia.

Al Dr. Armando Isibasi, por su humildad siendo grande, por compartir sus conocimientos y permitirme asomar a su vida.

A la Dra. Laura Bonifaz, por su gran conocimiento de la inmunología y su ayuda para la elaboración de esta tesis.

A Luz María y Javier Arturo, por su sonrisa, su disposición y su amistad.

A mi querida facultad de medicina UNAM, por sembrar en mi la semilla que hoy florece.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, por su formación de excelencia y su mística.

A todos mis maestros y personal del Centro Dermatológico Pascua, porque sus enseñanzas van mucho más allá de la dermatología.

A mis adorados pacientes del Centro Dermatológico Pascua, a quienes me debo y por quienes soy, gracias por enseñarme tanto y por confiar en mi.

## II. ÍNDICE

|  | Página |
|--|--------|
| I. DEDICATORIAS.....                       | 4      |
| II. AGRADECIMIENTOS.....                   | 6      |
| III. ÍNDICE.....                           | 8      |
| IV. ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....            | 10     |
| V. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....         | 11     |
| 1. RESUMEN.....                            | 12     |
| 2. INTRODUCCIÓN.....                       | 13     |
| 2.1 Generalidades.....                     | 13     |
| 2.2 Clasificación.....                     | 13     |
| 2.3 Cuadro clínico.....                    | 13     |
| 2.4 Diagnóstico.....                       | 13     |
| 2.5 Patogénesis.....                       | 14     |
| 2.5.1 Receptores <i>Toll like</i> .....    | 15     |
| 2.5.2 Células plasmacitoides.....          | 16     |
| 2.5.3 Células plasmacitoides y piel.....   | 18     |
| 2.6 Tratamiento.....                       | 19     |
| 2.7 Seguimiento.....                       | 20     |
| 2.8 Pronóstico.....                        | 21     |
| 3. PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN.....         | 22     |
| 3.1 Planteamiento del problema.....        | 22     |
| 3.2 Justificación.....                     | 22     |
| 3.3 Hipótesis.....                         | 23     |
| 3.4 Objetivos.....                         | 23     |
| 3.4.1 Generales.....                       | 23     |
| 3.4.2 Específicos.....                     | 23     |
| 3.5 Material y Métodos.....                | 24     |
| 3.5.1 Diseño de la investigación.....      | 24     |
| 3.5.2 Población de estudio.....            | 24     |
| 3.5.3 Criterios.....                       | 24     |
| 3.5.3.1 De inclusión.....                  | 24     |
| 3.5.3.2 De exclusión.....                  | 24     |
| 3.5.4 Descripción general del estudio..... | 24     |

|         |   |           |
|---------|---|-----------|
| 3.5.5   | Método de muestreo.....                           | 25        |
| 3.5.6   | Definición de variables.....                      | 25        |
| 3.5.7   | Método de extracción celular.....                 | 26        |
| 3.5.7.1 | Muestras de sangre periférica.....                | 26        |
| 3.5.7.2 | Obtención celular.....                            | 26        |
| 3.5.7.3 | Conteo celular.....                               | 26        |
| 3.5.7.4 | Citometría de flujo.....                          | 27        |
| 3.5.7.5 | Marcadores.....                                   | 27        |
| 3.6     | Aspectos éticos.....                              | 28        |
| 3.7     | Recursos.....                                     | 28        |
| 3.7.1   | Humanos.....                                      | 28        |
| 3.7.2   | Técnicos.....                                     | 28        |
| 3.7.3   | Financieros.....                                  | 28        |
| 3.8     | Análisis estadístico.....                         | 29        |
| 4.      | <b>RESULTADOS.....</b>                            | <b>30</b> |
| 4.1     | Células dendríticas convencionales.....           | 31        |
| 4.2     | Células dendríticas plasmacitoides.....           | 32        |
| 4.3     | Células CD 123+ HLA-DR-.....                      | 33        |
| 5.      | <b>DISCUSIÓN.....</b>                             | <b>37</b> |
| 6.      | <b>CONCLUSIONES.....</b>                          | <b>37</b> |
| 7.      | <b>ANEXOS.....</b>                                | <b>40</b> |
| 7.1     | Carta de consentimiento informado.....            | 40        |
| 7.2     | Índice de actividad y severidad de psoriasis..... | 42        |
| 8.      | <b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>                          | <b>43</b> |

#### **IV. ÍNDICE DE ABREVIATURAS**

**PASI:** índice de actividad y severidad de psoriasis

**LT:** linfocitos T

**MHC:** complejo principal de histocompatibilidad

**NK:** células asesinas naturales

**ICAM-1:** molécula de adhesión intercelular 1

**CPA:** célula presentadora de antígenos

**IFN- $\gamma$ :** interferón gamma

**IL-2:** interleucina 2

**TNF- $\alpha$ :** factor de necrosis tumoral alfa

**VEGF:** factor de crecimiento del endotelio vascular

**TLRs:** receptores *toll like*

**IgG:** inmunoglobulina G

**IFN- $\alpha$ :** interferon alfa

**cDCs:** células dendríticas convencionales

**pDCs:** células dendríticas plasmacitoides

#### **IV. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

|   | Página |
|---|--------|
| <b>Tabla 1:</b> Resultados.....   | 30     |
| <b>Figura 1:</b> Células dendríticas convencionales (CD11c+ HLA-DR+).....   | 31     |
| <b>Figura 2:</b> Células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-).....  | 32     |
| <b>Figura 3:</b> Células linaje negativo no caracterizada que parece ser una subpoblación de células dendríticas (CD 123+ HLA-DR-).....   | 33     |
| <b>Figura 4:</b> Gráfica de correlación lineal entre puntuación de PASI y porcentaje de células dendríticas convencionales (CD11c+ HLA-DR+).....  | 34     |
| <b>Figura 5:</b> Gráfica de correlación lineal entre tiempo de evolución y porcentaje de células dendríticas convencionales (CD11c+ HLA-DR+).....   | 34     |
| <b>Figura 6:</b> Gráfica de correlación lineal entre puntuación de PASI y porcentaje de células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-).....   | 35     |
| <b>Figura 7:</b> Gráfica de correlación lineal entre tiempo de evolución y porcentaje de células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-).....  | 35     |
| <b>Figura 8:</b> Gráfica de correlación lineal entre puntuación de PASI y porcentaje de células linaje negativo no caracterizadas que parecen ser una subpoblación de células dendríticas (CD 123+ HLA-DR-).....  | 34     |
| <b>Figura 9:</b> Gráfica de correlación lineal entre tiempo de evolución y porcentaje de células linaje negativo no caracterizadas que parecen ser una subpoblación de células dendríticas (CD 123+ HLA-DR-)..... | 34     |

## **1. RESUMEN**

La psoriasis es una enfermedad autoinmune considerada hoy en día multisistémica. La variedad en placas es la variedad encontrada con mayor frecuencia en nuestro medio.

Su patogenia continúa aún sin comprenderse por completo, sin embargo se sabe que las células plasmacitoides juegan un papel fundamental en estadios tempranos de la enfermedad por su producción especializada de interferón alfa. El objetivo del presente estudio fue determinar si existía o no correlación entre el porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica y el índice de actividad y severidad de psoriasis (PASI) así como su relación con el tiempo de evolución de la enfermedad.

Se tomaron al azar 24 pacientes con diagnóstico clínico e histológico de psoriasis en placas a quienes se les determinó el PASI y se les tomó una muestra de sangre periférica para posteriormente aislar 3 diferentes grupos celulares: células dendríticas clásicas, células plasmacitoides y un grupo de células linaje negativo no caracterizado que parece ser una subpoblación de células dendríticas (CD 123+ HLA-DR-).

Se encontró una correlación inversa muy fuerte entre este último grupo celular y el PASI. Así mismo se observó una correlación directa evidente con el tiempo de evolución de la enfermedad. No existió correlación entre los otros dos grupos celulares y las dos variables evaluadas.

Presumimos que esta disminución del porcentaje celular a nivel sérico es secundaria a su migración hacia la piel, específicamente a las lesiones características de la psoriasis.

De manera interesante las células linaje negativo no caracterizado que parecen ser una subpoblación de células dendríticas (CD 123+ HLA-DR-) constituyen un marcador sérico de actividad y severidad de psoriasis así como una guía para conocer el tiempo de evolución y el estadio donde se encuentra la misma. El presente estudio abre una ventana al conocimiento de la enfermedad tanto para entender mejor su patogenia como para la investigación de tratamientos más específicos y eficaces de la misma.

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 Generalidades**

La psoriasis es una enfermedad crónica y autoinmune mediada por linfocitos T (LT) en donde predomina la respuesta Th1; afecta la piel y en algunos pacientes las articulaciones. Se considera una enfermedad multifactorial que puede exacerbarse por numerosos factores entre los que se encuentran los siguientes: infecciones, factores endocrinológicos, hipocalcemia, fármacos, estrés y traumatismos. <sup>1,2,3</sup>

La prevalencia mundial de psoriasis oscila entre 0.6 a 4.8% y hasta el 30% de los pacientes tienen un familiar de primer grado con la misma enfermedad. <sup>3</sup>

En la actualidad no existe un tratamiento curativo para la psoriasis por lo que se considera una enfermedad crónica y recurrente. <sup>4</sup>

### **2.2 Clasificación**

Existen diversas clasificaciones para la psoriasis basadas en su morfología, topografía o edad de presentación.

La clasificación más utilizada se basa en la morfología y separa a este padecimiento en 4 grandes grupos con subgrupos: <sup>3,4</sup>

1. En placas
2. En gotas
3. Pustulosa
4. Eritrodérmica

### **2.3 Cuadro clínico**

En el caso de psoriasis en gotas y en placas se observan eritema y escama de aspecto yesoso que confluyen en placas de pequeño o gran tamaño respectivamente. En el caso de la psoriasis eritrodérmica existe eritema y escama fina que abarca más del 80% de la superficie corporal. <sup>4,5</sup>

La psoriasis pustulosa puede estar localizada o generalizada encontrándose pústulas estériles sobre un fondo eritematoso. <sup>5</sup>

### **2.4 Diagnóstico**

Es eminentemente clínico. <sup>2,5</sup>

## 2.5 Patogénesis

Existe un componente genético para el desarrollo de la psoriasis, el locus más estudiado es PSOR 1 situado en la región del MHC (complejo principal de histocompatibilidad) en el cromosoma 6. <sup>5,6,7,8</sup>

La psoriasis se caracteriza por una hiperproliferación y diferenciación anormal de los queratinocitos epidérmicos, infiltración linfocitaria principalmente por linfocitos T y diversos cambios en el endotelio vascular de vasos dérmicos así como angiogénesis y dilatación. Los linfocitos T y las citocinas que éstos liberan parece ser el evento principal para el desarrollo y la persistencia de la enfermedad pese a que las células endoteliales, neutrófilos y células asesinas naturales (NK) suelen jugar un papel importante al igual que quimiocinas, citocinas y selectinas tales como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1). <sup>5,9,10</sup>

Los linfocitos T y macrófagos aparecen en el infiltrado dérmico de las lesiones psoriásicas antes del desarrollo de los cambios epidérmicos.<sup>11</sup> Esto ocurre mediante una serie de pasos; el primero es el procesamiento y presentación de antígenos aún no identificados por células presentadoras de antígenos (CPA) en la epidermis y dermis. Este proceso involucra la unión de antígenos al MHC en la superficie de estas células. <sup>5,9,</sup>

Posteriormente las células presentadoras de antígenos migran a los ganglios linfáticos donde se unen de manera reversible a los linfocitos T mediante interacciones entre las moléculas de superficie de ambas células. Luego el MHC presenta el antígeno a un receptor de linfocitos T para iniciar de esta manera la activación del linfocito T. <sup>6,7</sup>

El linfocito T requiere de moléculas y señales coestimuladoras para continuar su activación, si no las obtiene se convierte en un linfocito apoptótico. <sup>9,12</sup> Una vez activados, los linfocitos migran por el torrente sanguíneo hacia la piel inflamada. <sup>2,12</sup>

Cuando llegan a ésta, los linfocitos T se encuentran con el antígeno que inició los eventos y liberan citocinas Th1 (IFN- $\gamma$ , IL-2 y TNF- $\alpha$ ) mismas que juegan un papel primordial en la expresión fenotípica de la psoriasis. <sup>9,12</sup>

Tanto los linfocitos T CD4+ como los CD8+ producen citocinas Th1. La IL-2 promueve la proliferación de los linfocitos T mientras que el IFN- $\gamma$  inhibe la apoptosis de queratinocitos.<sup>13</sup>

El TNF- $\alpha$  promueve el desarrollo de la psoriasis mediante diversos mecanismos entre los que se encuentran el aumento de la proliferación de los queratinocitos y de la producción de citocinas proinflamatorias provenientes de linfocitos T y macrófagos así como de moléculas de adhesión del endotelio vascular.<sup>14</sup>

El resultado final es la hiperplasia y diferenciación aberrante de los queratinocitos epidérmicos. El ciclo celular de estas células en la psoriasis es aproximadamente 8 veces más corto (36 vs 311 horas) y la producción diaria de los queratinocitos en las lesiones psoriásicas es aproximadamente 28 veces mayor que en la epidermis normal.<sup>15</sup>

Además de estos hallazgos también coexisten cambios vasculares característicos tales como dilatación y tortuosidad de los capilares dérmicos y angiogénesis. Esta dilatación capilar ayuda a cumplir con mayor eficacia los altos requerimientos energéticos de la piel hiperproliferante. La angiogenesis e hiperpermeabilidad vascular son el resultado del aumento en la producción del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) por los queratinocitos que han sido estimulados por las citocinas mencionadas en párrafos anteriores.<sup>9</sup>

El IFN $\alpha$  es una molécula de primordial importancia en la génesis de la psoriasis, tanto que ratones carentes de esta citocina son incapaces de desarrollar la enfermedad aun teniendo otros factores predisponentes tanto inmunológicos como no inmunológicos.<sup>11,13</sup>

Las células plasmacitoides son células que participan tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa y juegan un papel preponderante ya que son las únicas células especializadas en la producción eficaz de IFN $\alpha$ .<sup>12</sup>

### **2.5.1 Receptores Toll like (TLRs)**

Esta familia de receptores fue descubierta recientemente, éstos son componentes fundamentales tanto de la respuesta inmune innata como adquirida. Hasta este momento se han descrito 10 receptores cada uno con una distribución tisular única.<sup>16</sup>

El nombre *Toll-like* se deriva de su parecido estructural y funcional al receptor transmembranal descubierto en la mosca *Drosophila melanogaster*.<sup>17</sup>

Inicialmente, la principal función de estos receptores parecía ser el desarrollo dorso ventral durante el desarrollo embrionario. Posteriormente se observó que poseen un dominio intracitoplásmico similar al del receptor de IL-1 del ratón.<sup>18</sup>

En 1997 fueron descritos por primera ocasión por Janeway et. al. en el ser humano. Una vez que se observó que los TLRs reconocen patrones moleculares asociados a patógenos, estas moléculas se convirtieron en el grupo más importante de receptores reconocedores de patrones en el sistema inmune innato.<sup>16</sup>

Existe evidencia contundente de que los TLRs están intrínsecamente implicados en la patogenia de infinidad de enfermedades, especialmente dermatológicas, así como también son parte importante en el mecanismo de acción de algunos fármacos (i.e. imiquimod – TLR7).<sup>16</sup>

Se han estudiado en las siguientes dermatosis: acné (TLR2), lepra lepromatosa (TLR1 y 2), secundarismo sifilítico (TLR2, 4 y 5), dermatitis atópica (TLR2 y 4) y fotosensibilidad entre otras.<sup>16</sup>

Existe la hipótesis de que en la psoriasis está aumentada la expresión de TLR2 y 4, específicamente en la psoriasis en gotas donde existe la evidencia de que puede estar desencadenada por ciertas infecciones estreptocócicas que actuarían sobre estos receptores instaurando una respuesta inflamatoria crónica descontrolada.<sup>19,20,21,22,23,24</sup>

### **2.5.2 Células plasmacitoides**

El primer reporte que existe en la literatura de estas células fue en 1958 por Lennert y Remmele quienes describieron a las células plasmacitoides como unas células plasmáticas carentes de marcadores de linfocitos B.<sup>25</sup> Estas células fueron llamadas células plasmáticas asociadas a linfocitos T y posteriormente células plasmacitoides.<sup>26</sup>

Se identificaron en el timo y ganglios linfáticos de pacientes con enfermedades inflamatorias y neoplásicas y por muchos años se les llamó monocitos plasmacitoides por la similitud de marcadores con las células mielomonocíticas.

<sup>25,26</sup>

Posteriormente en 1978, Trinchera y cols. descubrieron que el IFN $\alpha$  es un potente estimulador de la citotoxicidad mediada por células NK y que durante la exposición de leucocitos a virus o a células infectadas por virus, únicamente un pequeño grupo de células era responsable de la producción de la mayor parte del IFN $\alpha$ . Estas células productoras de interferon se identificaron como células no monolíticas, no T, no B y no NK, que expresan receptores FC $\gamma$  de baja afinidad y antígenos clase II del complejo principal de histocompatibilidad (MHC II).<sup>27,28</sup>

Posteriormente se clasificaron como células dendríticas para después percatarse que pertenecían a un subgrupo diferente de las células dendríticas periféricas clásicas.<sup>25,28</sup>

Las células plasmacitoides humanas son células CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>IL<sup>-</sup>3R $\alpha$ (CD123)<sup>+</sup>ILT3ILT1<sup>-</sup>CD11<sup>-</sup> y tienen la habilidad de inducir diferenciación tanto Th1 como Th2 en los linfocitos T cooperadores en respuesta a ciertos estímulos.<sup>29</sup>

Tienen dos marcadores adicionales, BDCA-2 y BDCA-4, el primero es una glucoproteína transmembranal de la familia de las lectinas tipo C y el segundo es un receptor del factor de crecimiento vascular tipo A perteneciente a la subfamilia de las semaforinas.<sup>30,31</sup>

La ontogenia de las células plasmacitoides no está bien dilucidada aún pero se sabe que Flt3L es la principal citocina implicada en el desarrollo de éstas desde células madre hematopoyéticas tanto en humanos como en ratones.<sup>32,33</sup>

En estudios recientes se ha demostrado que las células Flt3<sup>+</sup> de las células progenitoras linfoides comunes o de las células progenitoras mieloides comunes pueden diferenciarse hacia células dendríticas maduras o hacia células plasmacitoides tanto in vivo como in vitro.<sup>34,35</sup> La movilización desde médula ósea a sangre periférica está mediada por el factor estimulante de colonias granulocíticas.<sup>36,37</sup>

Las células plasmacitoides se pueden encontrar en el hígado fetal, timo, médula ósea y sangre periférica lo que sugiere que estas células pueden desarrollarse a partir de células madre hematopoyéticas presentes en estos tejidos linfoides en etapas tempranas de la vida.<sup>33,37</sup>

Durante la vida adulta, las células plasmacitoides se producen constantemente en la médula ósea y migran desde ésta hacia ganglios linfáticos, tejido linfoide asociado a mucosas y bazo siendo su vida media de tan solo 15 días aproximadamente.<sup>38</sup>

Las células plasmacitoides actúan como sensores de virus gracias a la expresión de TLRs; a diferencia de las células dendríticas, estas células no expresan TLR2, TLR3, TLR4 y TLR5 lo que explica que no respondan ante productos bacterianos del orden de los peptidoglucanos, lipopolisacáridos y flagelina.<sup>39,40</sup>

En lugar de estos, expresan TLR7 y TLR9 mas no en su superficie como otras células sino en el compartimento endosomal por lo que los inhibidores lisosomales como la cloroquina inhiben la respuesta antiviral de las células plasmacitoides.<sup>41</sup>

Además de ser las células productoras por excelencia de  $IFN\alpha$ , su importancia radica en que constituyen un vínculo único entre la inmunidad innata y la adquirida.<sup>42</sup>

Entre otras funciones, las células plasmacitoides son inductoras débiles de proliferación de linfocitos T y activadoras de producción de anticuerpos (preferentemente IgG) en linfocitos B.<sup>43</sup>

### **2.5.3 Células plasmacitoides y piel**

La dermatosis en la que más se ha estudiado la participación de células plasmacitoides es el lupus eritematoso cutáneo y sistémico. En numerosos pacientes con lupus se han encontrado concentraciones séricas elevadas de interferones tipo I.<sup>44</sup>

El número de células plasmacitoides circulantes está disminuido en pacientes con lupus a expensas de que la mayoría de estas células activadas se encuentran como parte predominante del infiltrado de la piel.<sup>45</sup>

La psoriasis, como se mencionó en párrafos anteriores, es una enfermedad autoinmune mediada por linfocitos T donde el  $IFN\alpha$  es una de las moléculas más importantes.<sup>46</sup> Nestle FO y cols. encontraron infiltrados de células plasmacitoides en la piel de pacientes con este padecimiento tanto en lesiones como en piel sana, sobretudo en etapas tempranas de la enfermedad y

demonstraron que el IFN $\alpha$  derivado de las células plasmacitoides es esencial para la activación local y expansión de linfocitos T patógenos llevando al desarrollo de lesiones psoriásicas. Este estudio sienta las bases para considerar la posibilidad de que las células plasmacitoides y su producción de IFN $\alpha$  sean la clave para desencadenar la respuesta inmune innata y por lo tanto iniciar la cascada de linfocitos T autoinmunes que llevan a la iniciación de la psoriasis. <sup>47,48,49</sup>

## 2.6 Tratamiento

El manejo integral de la psoriasis incluye educación del paciente acerca de la naturaleza crónica de su enfermedad, expectativas reales y uso de medicamentos. Los corticoides y análogos de vitamina D (i.e. calcipotriol) son el tratamiento tópico de primera elección. Ambos actúan con mayor eficacia juntos que por separado. Los pacientes con psoriasis que afecta más del 20% de la superficie corporal o que no responden a tratamientos tópicos son candidatos a fototerapia o tratamientos sistémicos con agentes inmunomoduladores como metotrexate y ciclosporina o bien con agentes biológicos como infliximab, alefacept, efalizumab o etanercept. <sup>3, 49</sup>

Estos tres últimos agentes constituyen un tratamiento dirigido específicamente a niveles clave de la respuesta inmunológica en los pacientes con psoriasis. Pese a este avance científico, los tratamientos tópicos probablemente permanezcan por muchos años más como la primera línea de tratamiento para la mayoría de los pacientes por los efectos adversos de los tratamientos sistémicos. <sup>2</sup>

Las terapias biológicas actúan a los siguientes niveles: <sup>5,12</sup>

1. *Alefacept*: induce apoptosis en los LT de memoria e interfiere con su activación mediante su unión a CD2 en los LT, también bloquea la interacción coestimuladora LFA-3/CD2.
2. *Efalizumab*: interfiere con la unión de las moléculas de adhesión LFA-1 /ICAM aumentando la activación de los LT así como su migración hacia la piel.
3. *IL-10*: causa una desviación hacia la producción de citocinas del tipo Th2 disminuyendo así la producción de TNF $\alpha$  e IL-12.

4. *Infliximab*: se trata de un anticuerpo monoclonal quimérico que neutraliza el  $TNF\alpha$  mediante su unión a éste.
5. *Adalimumab*: es un anticuerpo monoclonal humano que neutraliza el  $TNF\alpha$  mediante su unión a éste.
6. *Etanercept*: es una proteína de fusión quimérica que consiste en una porción del receptor de  $TNF\alpha$  unido a la porción Fc de la inmunoglobulina G1; actúa como un inhibidor competitivo del  $TNF\alpha$ .

Algunos tratamientos clasificados como no biológicos intervienen en los mismos procesos por ejemplo los corticoides tópicos que son moduladores directos de algunas citocinas ( $IFN-\gamma$ ,  $TNF-\alpha$  e IL-1) así como de algunos factores de transcripción que estimulan directamente la transcripción de los genes de otras citocinas relevantes en la patogénesis de la psoriasis.<sup>51,52</sup>

Los retinoides aumentan la expresión del factor de crecimiento transformador  $\beta 2$  (TGF- $\beta 2$ ), mismo que funge como supresor de la proliferación de queratinocitos. Los análogos de vitamina D3 inducen apoptosis de las células inflamadas e inhiben la producción de citocinas tipo Th1 induciendo así un cambio en la producción de las mismas hacia un perfil Th2 así como un efecto antiangiogénico.<sup>9</sup>

La ciclosporina inhibe la primera fase de la activación de los linfocitos T mientras que el metotrexate inhibe la replicación de los linfocitos T y de los queratinocitos.<sup>53</sup>

La fototerapia (luz ultravioleta B o psoralenos con luz ultravioleta A) induce apoptosis de los linfocitos T.<sup>54,55</sup>

Es de vital importancia tener en cuenta y sopesar los riesgos y beneficios de cada una de las opciones terapéuticas así como individualizar a cada paciente según la gravedad de la psoriasis, presentación clínica de la misma y enfermedades concomitantes.

## **2.7 Seguimiento**

Existe un índice estandarizado de severidad y actividad de la psoriasis (PASI), éste toma en cuenta la topografía de la afección en porcentajes y la morfología de las lesiones (eritema, infiltración y escama). La máxima puntuación es de 72

clasificando la severidad de la psoriasis como a continuación se indica: leve 1-20, moderada 21-50, severa 51-72. <sup>12</sup>

Este índice se utiliza primordialmente para valorar la respuesta al tratamiento y dar seguimiento al paciente. <sup>42</sup>

## **2.8 Pronóstico**

Sin duda alguna la psoriasis es una enfermedad crónica que afecta de manera considerable la calidad de vida de las personas que la padecen.

Se ha observado en diversos estudios que los factores que más impactan la calidad de vida son los siguientes: extensión de la enfermedad, edad de inicio temprano y sexo femenino. <sup>56</sup>

### **3. PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN**

#### **3.1 Planteamiento del problema**

La psoriasis es un padecimiento cutáneo muy antiguo sin embargo su patogenia no ha sido esclarecida por completo. En numerosos estudios se ha observado que el  $IFN\alpha$  es una molécula indispensable sobretodo en la iniciación y en etapas tempranas de la enfermedad. Las células plasmacitoides constituyen el grupo celular que produce mayor cantidad de  $IFN\alpha$  por lo que se presume deben jugar un papel preponderante en la patogénesis de la psoriasis y que a mayor actividad y menor tiempo de evolución estarán disminuidas en sangre periférica pues estarán migrando hacia la piel.

Sobre estas bases formulamos las siguientes **preguntas de investigación**:

*¿Existe correlación inversa entre el índice de severidad y actividad de la psoriasis (PASI) y el porcentaje de células plasmacitoides séricas?*

*¿Existe correlación directa entre el tiempo de evolución y el porcentaje de células plasmacitoides séricas?*

#### **3.2 Justificación**

Se sabe que la psoriasis es una enfermedad con relativa alta prevalencia tanto en nuestro país como a nivel mundial. Se han establecido numerosas teorías acerca de su etiología, hoy en día la más aceptada es la autoinmune. El índice de severidad y actividad de la psoriasis (PASI) es un índice que valora características morfológicas y topográficas de esta enfermedad.

Una de las molécula más importantes en la patogenia de la psoriasis es el  $IFN\alpha$ . Las células plasmacitoides son un subgrupo de células dendríticas que producen grandes cantidades de esta citocina por lo que se ha estudiado su papel en las dermatosis donde ésta participa principalmente en lupus eritematoso cutáneo y sistémico.

En un estudio se observó que el porcentaje de estas células aumenta a nivel cutáneo en lesiones de psoriasis principalmente en etapas tempranas de la enfermedad.

Pensamos que este incremento se debe a la migración de células plasmacitoides circulantes desde sangre periférica hacia piel por lo que se requiere un estudio en el que se realice la medición del nivel sérico de estas células.

En la medida en la que se conozca más acerca de la relación que exista entre los niveles séricos de células plasmacitoides y el PASI, en un futuro éstas podrán ser útiles como un marcador confiable de actividad y pronóstico a corto plazo de psoriasis y de esta manera se podrá instaurar de forma más temprana el tratamiento más adecuado según cada caso.

Conociendo mejor la patogenia de esta enfermedad podrá dilucidarse en un futuro un tratamiento más específico y eficaz.

### **3.3 Hipótesis**

El porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica disminuye en estadios tempranos de la psoriasis y es inversamente proporcional al índice de actividad y severidad de psoriasis (PASI).

### **3.4 Objetivos**

#### **3.4.1 General**

- Determinar la correlación entre el porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica y el índice de actividad y severidad de psoriasis (PASI) así como con el tiempo de evolución.

#### **3.4.2 Específicos**

1. Determinar el porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica de pacientes con psoriasis en placas.
2. Determinar el índice de actividad y severidad de psoriasis y correlacionarlo con el porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica.
3. Correlacionar el porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica con el tiempo de evolución de la enfermedad.

### **3.5 Material y Métodos**

#### **3.5.1 Diseño de la investigación**

Tipo de estudio: descriptivo transversal.

#### **3.5.2 Población de estudio**

Células plasmacitoides de sangre periférica de pacientes adultos que acudan voluntariamente al Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” en quienes se realice el diagnóstico clínico e histológico de psoriasis en placas.

#### **3.5.3 Criterios**

##### **3.5.3.1 De inclusión**

1. Pacientes de 18 a 50 años de edad con cualquier estado socioeconómico.
2. Pacientes con diagnóstico clínico e histológico de psoriasis en placas.
3. Pacientes con lesiones en cualquier topografía y porcentaje de superficie corporal afectada.
4. Pacientes que no hayan utilizado en el último año inmunomoduladores, esteroides tópicos, sistémicos o tratamientos biológicos.
5. Pacientes que mediante el consentimiento informado expresen de manera voluntaria su deseo de participar en el estudio.
6. Pacientes residentes en la República Mexicana.

##### **3.5.3.2 De exclusión**

1. Pacientes con alguna enfermedad autoinmune concomitante.
2. Pacientes en quienes exista la duda diagnóstica entre psoriasis y otra dermatosis.
3. Pacientes portadores del virus de inmunodeficiencia humana.

#### **3.5.4 Descripción general del estudio**

Se tomó una muestra aleatoria de 24 pacientes adultos en quienes se realizó el diagnóstico clínico e histológico de psoriasis en placas en la consulta externa del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” de enero a mayo del 2007. Se les realizó una historia clínica completa incluyendo la parte

dermatológica. Se les explicaron los objetivos del protocolo y se les solicitó firmar una carta de consentimiento informado. Se realizó iconografía.

En la misma visita se les tomó una muestra de 10cc de sangre periférica misma que se trasladó al laboratorio de inmunología del “Centro Médico Nacional SXXI” para procesarla, aislar las tres subpoblaciones de células dendríticas y determinar su porcentaje en cada paciente.

### **3.5.5 Método de muestreo**

Selección aleatoria de pacientes que acudieron a consulta en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” de enero a mayo del 2007 a quienes se les haya realizado el diagnóstico clínico e histológico de psoriasis en placas. La muestra fue de 24 pacientes ya que se trata de un reporte de casos por los altos costos de los reactivos para el estudio y por lo innovador del mismo.

### **3.5.6 Definición de variables**

| Variable               | Definición conceptual                                    | Definición operacional                           | Tipo         | Escala de medición | Unidad de medida      |
|------------------------|--|--|--------------|--------------------|-----------------------|
| Sexo                   | Constitución orgánica que distingue masculino y femenino | Se registra en base al sexo de asignación social | Cualitativa  | Dicotómica         | Femenino<br>Masculino |
| Edad                   | Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento     | Edad en años en el momento del estudio           | Cuantitativa | De razón           | Años                  |
| Células plasmacitoides | Subtipo de células dendríticas                           | Se registra en base a su porcentaje              | Cuantitativa | Ordinal            | Porcentaje            |

|                     |  |   |              |         |        |
|---------------------|--|---|--------------|---------|--------|
|                     | especializadas en la producción de IFN $\alpha$                      | en sangre periférica  |              |         |        |
| Tiempo de evolución | Tiempo desde que el paciente presenta lesiones clínicas de psoriasis | Se registra en base al número de meses que ha presentado lesiones clínicas de psoriasis | Cuantitativa | Ordinal | Meses  |
| PASI                | Índice de actividad y severidad de psoriasis                         | Se registra en puntos según la extensión y características clínicas de la enfermedad    | Cuantitativa | Nominal | Puntos |

### **3.5.7 Método de extracción celular**

#### **3.5.7.1 Muestras de sangre periférica**

Para la obtención de células mononucleares se utilizaron 10cc de sangre periférica de pacientes con diagnóstico clínico e histológico de psoriasis en placas.

#### **3.5.7.2 Obtención de células mononucleares**

Se partió de un volumen inicial de sangre de 10 cc, se diluyó 1:1 con PBS, posteriormente por medio de un gradiente de Ficoll (Lymphoprep), el cual se centrifugó a 2000 rpm durante 30 minutos.

Se realizó la separación de las células mononucleares, mismas que se

colectaron y sometieron a tres lavados con PBS y centrifugación por 10 minutos, dos a 1500 rpm y el otro a 700 rpm (eliminación de plaquetas); después de esto se resuspendieron en PBS y se procedió a hacer el conteo de células en cámara de Neubauer.

### **3.5.7.3 Conteo de células mononucleares**

De la suspensión de células obtenida, se tomó una pequeña alícuota, se hizo una dilución (1:10) con azul tripano (colorante vital) de modo que fuera posible distinguir entre células vivas y muertas.

De esta dilución se tomó nuevamente una alícuota (10µL) y se colocó en la cámara de Neubauer para realizar el conteo de cada una de las muestras en el microscopio.

### **3.5.7.4 Citometría de flujo**

El paquete celular obtenido se resuspendió y se pasó a una placa de 96 pozos en la que posteriormente se realizaron las tinciones correspondientes. Como primer paso se incubaron las células a 4°C por 20 minutos con la solución que tiene como componentes PBS, suero de caballo 2%, EDTA 5mM y azida de sodio 0.05%; con la finalidad de bloquear los receptores Fc para evitar el pegado inespecífico.

Posteriormente se realizaron las tinciones incubando con las diferentes combinaciones de anticuerpos monoclonales conjugados a distintos fluorocromos, en solución PBS/suero de caballo 2%/EDTA 5mM/azida de sodio 0.05% a 4°C por 20 minutos. Después de cada incubación se realizaron dos lavados con la misma solución para eliminar el exceso de anticuerpos.

### **3.5.7.5 Marcadores**

La combinación de marcadores utilizada para realizar la tinción fue la siguiente:

| <b>Marcador</b>                                    | <b>Conjugado a:</b>  |
|--|----------------------|
| LINAJE<br>(CD3, CD19, CD14, CD56)<br>* eBioscience | PE<br>(Ficoeritrina) |

|   |   |
|---|---|
| CD11c<br>* Caltag   | FITC<br>(Isotiocianato de Fluoresceína) |
| HLA-DR<br>*BDBioscience.  | APC-Cy7<br>(Aloficocianina-Cy7)         |
| CD123<br>*BD Bioscience   | PE-Cy5<br>(Ficoeritrina-Cy5)            |
| BDCA-2<br>Miltenyi Biotec   | APC<br>(Aloficocianina)                 |
| CD80 <sup>1</sup> , CD83 <sup>2</sup> , CD86 <sup>1</sup> , B7-H1 <sup>2</sup><br>* 1: BDBioscience 2:eBioscience | Biotina                                 |

\* El revelado de los anticuerpos conjugados con biotina se llevó a cabo utilizando estreptavidina-PE-Cy7 (BD Bioscience).

Después de realizar la tinción, se hizo un lavado y se agregó el colorante Hoechst 3342, se incubó a 4°C por 5 minutos para posteriormente poder evaluar la viabilidad de las células analizadas. Después de esto nuevamente se realizaron dos lavados más con PBS para eliminar el exceso de colorante y finalmente se agregó paraformaldehído al 4% con el que nuevamente se incubó a 4°C por 20 minutos con el objetivo de fijar las células. Transcurrido este tiempo se centrifugó para eliminar el paraformaldehído, las células se resuspendieron en PBS y se guardaron a 4°C para su análisis posterior en el citómetro de flujo.

El análisis de las células se realizó por citometría de flujo de 7 colores, utilizando el citómetro FACS Aria.

### **3.6 Aspectos éticos**

En la hoja de consentimiento informado se explicó detalladamente el proceso de recolección de sangre periférica así como sus potenciales complicaciones.

### **3.7 Recursos**

#### **3.7.1 Humanos**

El diagnóstico se realizó por un médico de base y un residente de dermatología de tercer año. La interpretación de los resultados se hizo por un inmunólogo.

### **3.7.2 Técnicos**

- Cámara fotográfica Nikon D50
- Jeringas de 10cc
- Tubos con EDTA
- Anticuerpos contra marcadores de células plasmacitoides
- Citómetro de flujo FACS Aria

### **3.7.3 Financieros**

Laboratorio de Inmunología del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

### **3.8 Análisis estadístico**

Las variables sexo, edad, tiempo de evolución, puntuación del PASI y porcentaje de células plasmacitoides fueron analizadas con el programa SPSS versión 15.0 para conocer las medidas de tendencia central así como el mínimo y el máximo de cada una.

Ya que se trata de un reporte de casos, se realizó, mediante el mismo programa, correlación lineal entre las variables puntuación del PASI y porcentaje de células dendríticas para determinar el coeficiente de correlación, coeficiente de determinación, coeficiente de correlación ajustado y valor de p.

#### 4. RESULTADOS

Se incluyeron 24 pacientes de los cuales 13 fueron del género masculino (54.2%) y 11 del femenino (45.8%). El rango de edad se encontró entre 21 y 49 años con un promedio de 35 años y una moda de 45 años con una desviación estándar de 7.849.

El tiempo de evolución de la enfermedad osciló entre un mes y 13 años con un promedio de 4 años 4 meses y una moda de 4 años con una desviación estándar de 41.56.

La puntuación del índice PASI se encontró entre 1.4 y 28.8 con un promedio de 14.246 y una moda de 10.8 con una desviación estándar de 7.59.

Los valores de los diferentes subtipos celulares se evaluaron en porcentaje (Tabla 1).

| FOLIO | EDAD | SEXO   | EVOLUCIÓN (meses) | PASI | % pDC CD123+ HLADR- | % cDCs CD123+ CD11c- | % pDC CD11c+ HLADR+ |
|-------|------|--------|-------------------|------|---------------------|----------------------|---------------------|
| 1     | 28   | hombre | 12                | 23.1 | .037                | 0.97                 | 0.055               |
| 2     | 34   | hombre | 6                 | 28.8 | .110                | 0.41                 | 0.029               |
| 3     | 49   | mujer  | 156               | 1.4  | 1.310               | 2.70                 | 0.486               |
| 4     | 38   | hombre | 60                | 9.3  | .350                | 3.17                 | 0.151               |
| 5     | 45   | mujer  | 144               | 5.2  | 1.040               | 2.58                 | 2.541               |
| 6     | 35   | hombre | 72                | 10.8 | .350                | 2.70                 | 0.190               |
| 7     | 21   | hombre | 36                | 14.1 | .250                | 1.67                 | 0.014               |
| 8     | 45   | hombre | 48                | 17.2 | .210                | 2.28                 | 0.017               |
| 9     | 38   | hombre | 24                | 16.6 | .180                | 0.53                 | 0.078               |
| 10    | 27   | mujer  | 60                | 6.8  | 1.080               | 1.46                 | 0.133               |
| 11    | 24   | mujer  | 48                | 12.0 | .310                | 3.28                 | 0.193               |
| 12    | 31   | mujer  | 48                | 14.1 | .270                | 3.79                 | 0.433               |
| 13    | 41   | hombre | 108               | 7.2  | .440                | 2.70                 | 0.063               |
| 14    | 28   | mujer  | 48                | 10.8 | .380                | 2.78                 | 0.132               |
| 15    | 23   | hombre | 1                 | 21.4 | .095                | 2.92                 | 0.119               |
| 16    | 27   | hombre | 5                 | 25.0 | .050                | 4.13                 | 0.260               |
| 17    | 39   | hombre | 72                | 7.0  | .800                | 1.04                 | 0.150               |
| 18    | 33   | mujer  | 6                 | 27.0 | .150                | -                    | 0.060               |
| 19    | 42   | mujer  | 60                | 16.5 | .210                | -                    | 0.130               |
| 20    | 33   | hombre | 24                | 16.9 | .190                | -                    | 0.130               |
| 21    | 42   | mujer  | 72                | 7.1  | .610                | -                    | 0.300               |
| 22    | 31   | mujer  | 84                | 11.0 | .390                | -                    | 0.130               |
| 23    | 45   | mujer  | 4                 | 25.0 | .030                | -                    | 0.320               |
| 24    | 40   | hombre | 60                | 7.6  | .580                | -                    | 0.300               |

Tabla 1: Resultados

#### 4.1 Células dendríticas convencionales (CD11c+ HLA-DR+) (fig. 1)

Las células dendríticas convencionales se caracterizan por expresar HLA-DR y CD11c.

El porcentaje de estas células, CD 11c+ HLA-DR+, osciló entre 0.41 y 4.13 con un promedio de 2.3 y una moda de 2.7 con una desviación estándar de 1.1.

Se realizó análisis de correlación lineal para las variables puntuación de PASI y porcentaje de células dendríticas convencionales (fig.4) con lo que se encontró un coeficiente de correlación de 0.18, un coeficiente de correlación ajustado para el tamaño de muestra de -0.03 y un coeficiente de determinación de 0.03 obteniendo una p significativa de 0.0001.

Se realizó análisis de correlación lineal para las variables tiempo de evolución y porcentaje de células dendríticas convencionales (fig.5) con lo que se encontró un coeficiente de correlación de 0.18, un coeficiente de correlación ajustado para el tamaño de muestra de -0.03 y un coeficiente de determinación de 0.03, obteniendo una p significativa de 0.0001.

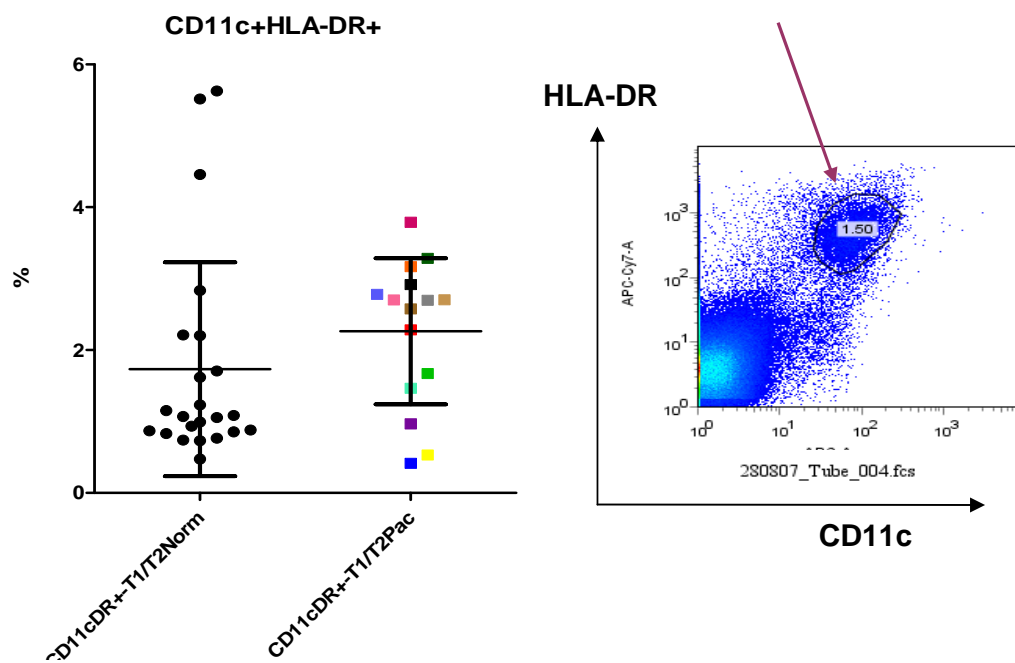


Figura 1: Células dendríticas convencionales (CD11c+ HLA-DR+)

#### 4.2 Células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-) (fig. 2)

Las células dendríticas plasmacitoides se caracterizan por expresar CD123 y CD11c intermedio.

El porcentaje de estas células, CD 123+ CD11c-, osciló entre 0.01 y 2.54 con un promedio de 0.27 y una moda de 0.13 con una desviación estándar de 0.5.

Se realizó análisis de correlación lineal para las variables puntuación de PASI y porcentaje de células dendríticas plasmacitoides (fig.6) con lo que se encontró un coeficiente de correlación de 0.18, un coeficiente de correlación ajustado para el tamaño de muestra de -0.03 y un coeficiente de determinación de 0.03 obteniendo una p significativa de 0.0001.

Se realizó análisis de correlación lineal para las variables tiempo de evolución y porcentaje de células dendríticas plasmacitoides (fig.7) con lo que se encontró un coeficiente de correlación de 0.54, un coeficiente de correlación ajustado para el tamaño de muestra de 0.26 y un coeficiente de determinación de 0.29, obteniendo una p significativa de 0.0001.

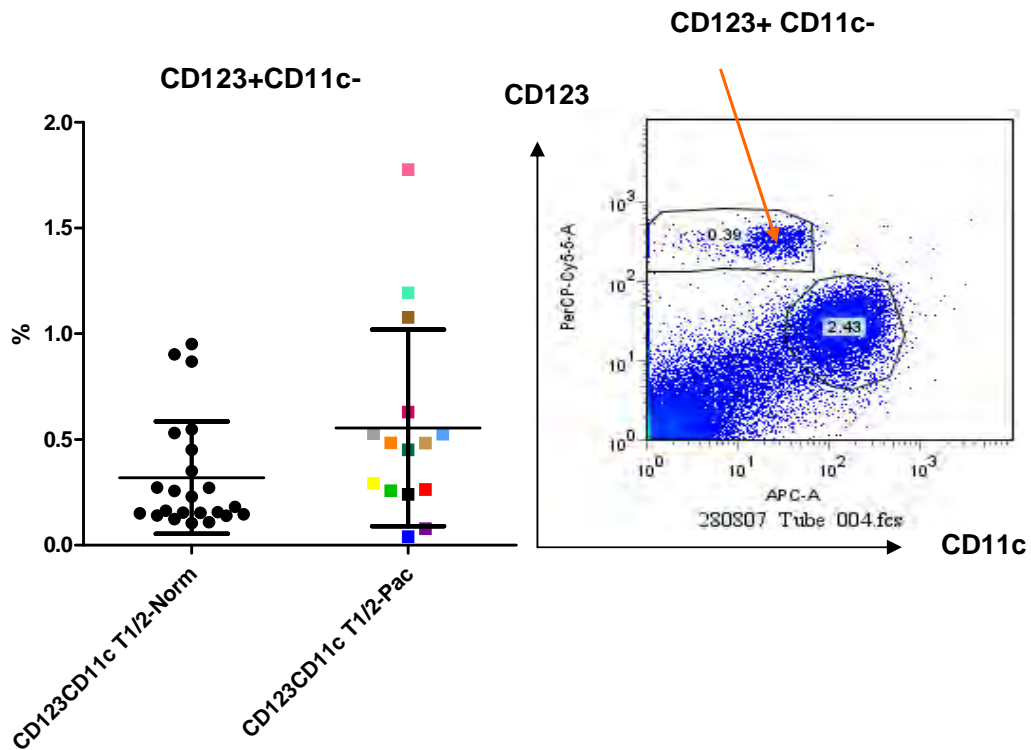


Figura 2: Células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-)

### 4.3 Células linaje negativo no caracterizadas que parecen ser una subpoblación de células dendríticas (CD123+ HLA-DR-) (fig. 3)

Las células linaje negativo no caracterizadas que parecen ser una subpoblación de células dendríticas expresan CD123 y HLA-DR baja.

El porcentaje de estas células, CD123+ HLA-DR-, osciló entre 0.030 y 1.310 con un promedio de 0.39258 y una moda de 0.210 con una desviación estándar de 0.34799.

Se realizó análisis de correlación lineal para las variables puntuación de PASI y porcentaje de células CD123+ HLA-DR- (fig.8) con lo que se encontró un coeficiente de correlación de -0.83, un coeficiente de correlación ajustado para el tamaño de muestra de -0.67 y un coeficiente de determinación de 0.69, obteniendo una p significativa de 0.0001

Se realizó análisis de correlación lineal para las variables tiempo de evolución y porcentaje de células CD123+ HLA-DR- (fig.9) con lo que se encontró un coeficiente de correlación de 0.83, un coeficiente de correlación ajustado para el tamaño de muestra de 0.68 y un coeficiente de determinación de 0.70, obteniendo una p significativa de 0.001.

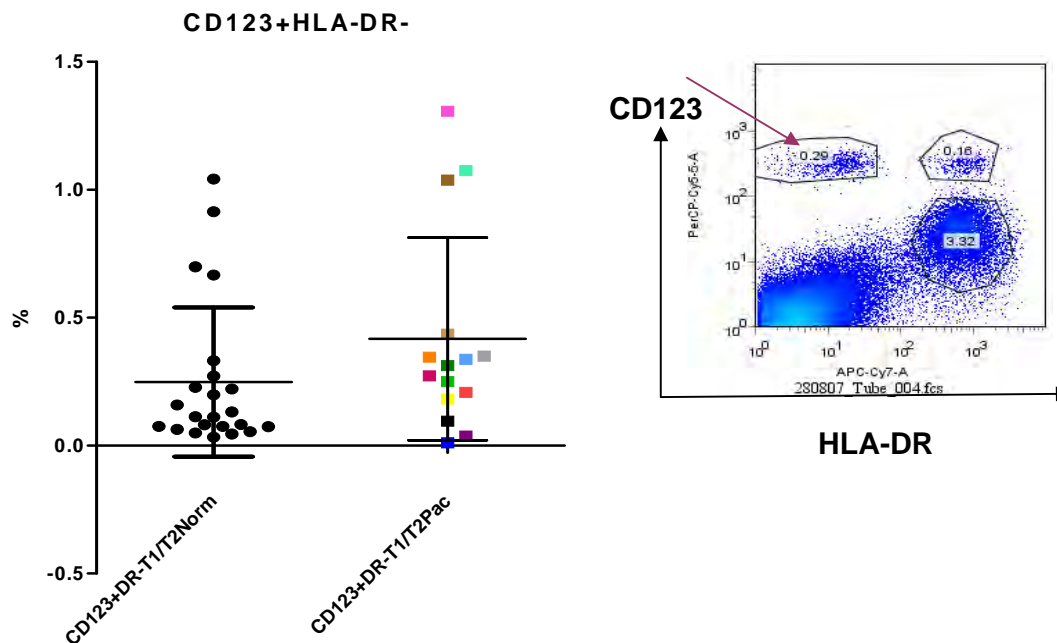


Figura 3: Células linaje negativo no caracterizadas que parecen ser una subpoblación de células dendríticas (CD123+ HLA-DR-)

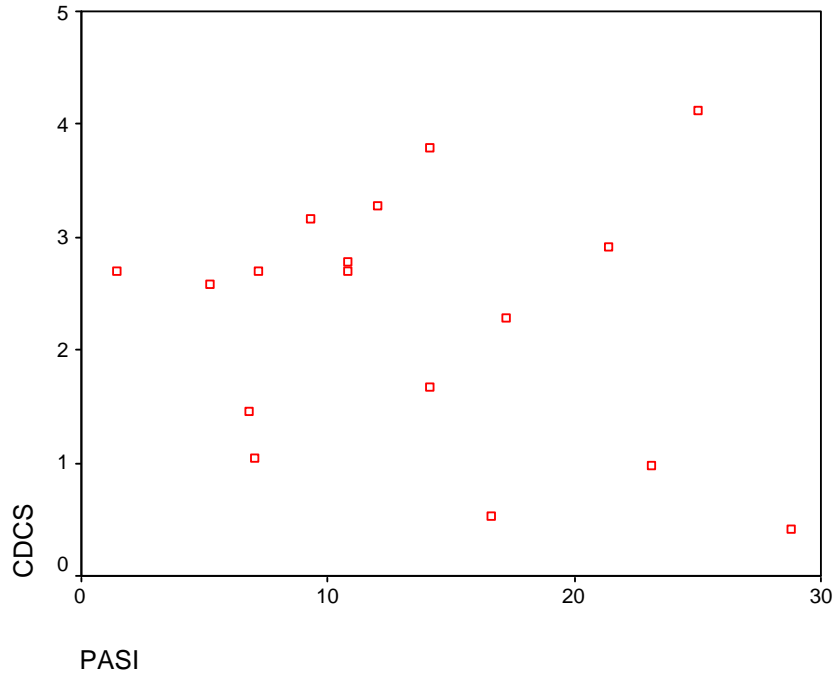


Fig.4: Gráfica de correlación lineal entre puntuación de PASI y porcentaje de células dendríticas convencionales (CD11c+ HLA-DR+)

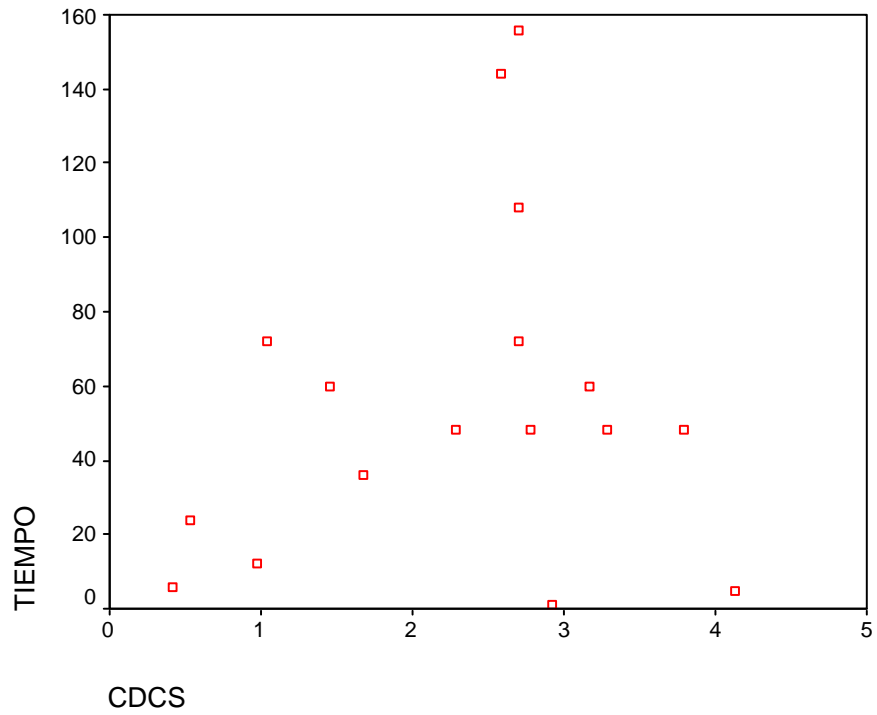


Fig.5: Gráfica de correlación lineal entre tiempo de evolución y porcentaje de células dendríticas convencionales (CD11c+ HLA-DR+)

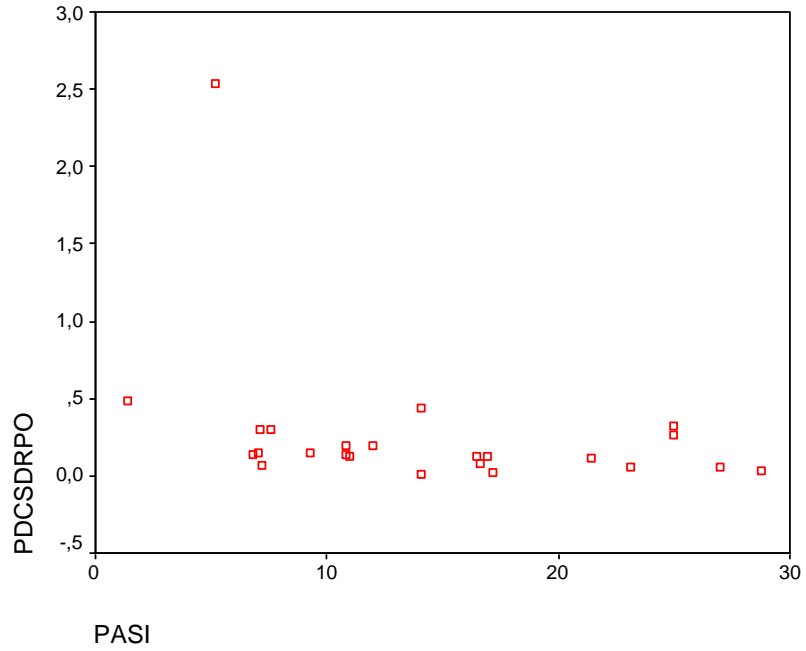


Fig.6: Gráfica de correlación lineal entre puntuación de PASI y porcentaje de células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-)

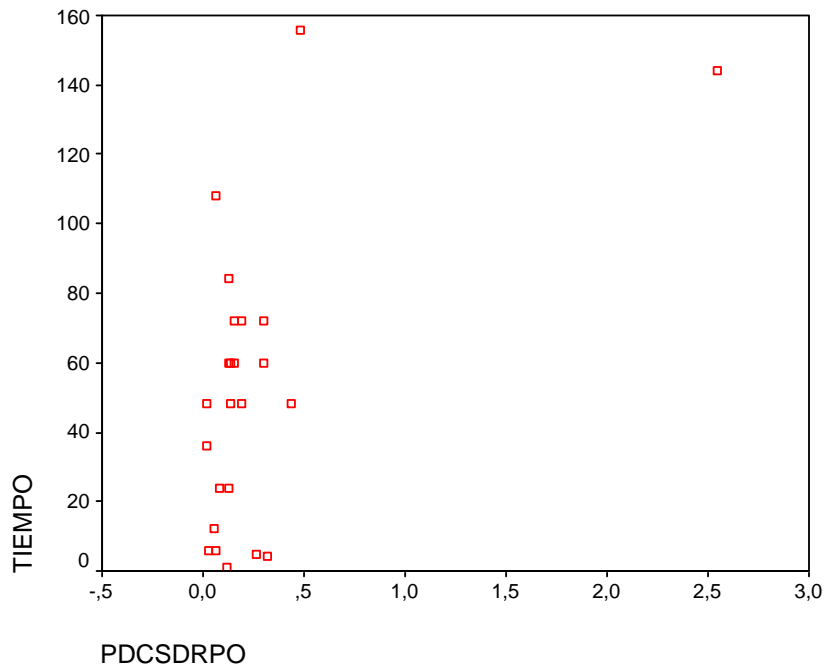


Fig.7: Gráfica de correlación lineal entre tiempo de evolución y porcentaje de células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-)



## **5. DISCUSIÓN**

Se evaluaron tres poblaciones celulares: células dendríticas convencionales (CD11c+HLA-DR+), células dendríticas plasmacitoides (CD123+ CD11c-) y células linaje negativo no caracterizadas hasta el momento que parecen ser una subpoblación de células dendríticas (CD123+ HLA-DR-).

No encontramos correlación entre las células dendríticas convencionales CD11c+HLA-DR+ en sangre periférica con el índice de actividad de la psoriasis ni con el tiempo de evolución de la misma ya que los coeficientes de correlación son menores de 0.5 en ambos casos. Tampoco entre las células dendríticas plasmacitoides CD123+ CD11c- y ambas variables.

Estos datos no están afectados por el tamaño de muestra ya que el coeficiente de correlación ajustado es también menor a 0.5 en las dos líneas celulares tanto en su relación con el tiempo como con el índice de actividad y severidad de psoriasis.

Curiosamente en este trabajo encontramos que las células que tienen relación con la actividad y tiempo de evolución de la psoriasis son una población celular linaje negativo no caracterizada que parece ser una subpoblación de células dendríticas (CD123+ HLA-DR-) diferente a las células dendríticas convencionales y a las dendríticas plasmacitoides.

En base al coeficiente de correlación negativo que sobrepasa 0.5 determinamos que efectivamente existe una correlación inversa fuerte entre la puntuación del índice de actividad y severidad de psoriasis y el porcentaje de células CD123+ HLADR- en sangre periférica así como correlación directa fuerte entre este último y el tiempo de evolución de la enfermedad.

Cabe mencionar que todos los resultados son estadísticamente significativos ya que en la correlación entre los tres diferentes tipos de células y las dos variables (índice de actividad y severidad de psoriasis y tiempo de evolución) la  $p$  es de 0.0001.

## **6. CONCLUSIONES**

En un estudio reciente se demostró que las células dendríticas plasmacitoides se encuentran como parte fundamental del infiltrado cutáneo en las lesiones de pacientes con psoriasis lo que nos hizo pensar que estas células pudieran estar disminuidas en sangre periférica en estadios tempranos de la enfermedad por encontrarse migrando hacia la piel.

En el presente estudio encontramos que las células dendríticas plasmacitoides de sangre periférica no se encuentran disminuidas en estadios tempranos de la psoriasis ni tampoco están relacionadas con el tiempo de evolución de la enfermedad.

De manera interesante observamos que una población celular linaje negativo no caracterizada que parece corresponder a una subpoblación de células dendríticas (*CD123+ HLA-DR-*) diferente de las convencionales y de las plasmacitoides, es la que está implicada en este proceso. Esta población celular es la que disminuye en sangre periférica en estadios tempranos de la enfermedad pues, suponemos, se encuentra migrando hacia la piel de estos pacientes. También son estas células las que correlacionan de manera inversa con el índice de actividad y severidad de psoriasis ya que a mayores puntuaciones es menor el porcentaje celular en sangre periférica.

En cuanto a su relación con el tiempo de evolución se incluyó un número mayor de pacientes en estadios tempranos de la enfermedad por lo que convendría tener una muestra más homogénea en relación a esta variable para estudios posteriores.

Por todo lo anteriormente expuesto podemos concluir que una población celular linaje negativo no caracterizada que parece ser una subpoblación de células dendríticas (*CD123+ HLA-DR-*) en sangre periférica constituye un marcador celular de actividad y severidad de psoriasis.

Su utilidad no solamente radica en este punto sino también podría utilizarse para identificar el estadio de la enfermedad en el que se encuentra el paciente ya que las células se encuentran disminuidas al inicio para luego regresar a valores basales conforme la psoriasis avanza en la línea de tiempo.

Es impresionante pensar que en un futuro cercano estas células puedan constituir el primer examen de laboratorio relativamente accesible para evaluar de forma más completa a los pacientes con psoriasis.

Este trabajo sin duda abre una ventana tanto para conocer mejor la patogenia de la psoriasis como para la investigación de líneas terapéuticas más específicas y eficaces dirigidas de manera directa hacia los blancos celulares mejor definidos.

Conociendo que esta subpoblación celular, al estar posiblemente relacionada con las células plasmacitoides, pueden estar implicadas también en la producción eficaz de IFN $\alpha$ ; será posible desarrollar fármacos biológicos cuyo blanco de acción sea la inhibición de esta molécula.

Queda en manos de investigaciones futuras el dilucidar si este grupo celular podría o no ser útil para de alguna manera pronosticar el curso que seguirá la psoriasis de manera individual.

## 7. ANEXOS

### 7.1 Carta de consentimiento informado

### 7.2 Índice de actividad y severidad de psoriasis

|                  |            |            |            |  |
|------------------|------------|------------|------------|--|
| México D. F. , a |            |            |            |  |
|                  | <i>Día</i> | <i>Mes</i> | <i>Año</i> |  |

A quien corresponda.

Yo \_\_\_\_\_ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio. “UNA POBLACIÓN CELULAR LINAJE NEGATIVO NO CARACTERIZADA QUE PARECE SER UNA SUBPOBLACIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS (CD 123+ HLA-DR-) CONSTITUYEN UN MARCADOR SEROLÓGICO DE ACTIVIDAD Y SEVERIDAD CLÍNICA DE PSORIASIS” que se realiza en esta institución y cuyos objetivos consisten en determinar el índice de severidad y actividad de psoriasis así como el porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica de los pacientes para después correlacionar el porcentaje de células plasmacitoides en sangre periférica de pacientes con psoriasis en placas con el índice de actividad y severidad de psoriasis en diferentes estadios de la misma. Estoy consciente de que los procedimientos, pruebas y tratamientos para lograr los objetivos mencionados consisten tomar una muestra de 10cc de sangre periférica y que los riesgos para mi persona son equimosis e infección bacteriana del sitio de punción.

Entiendo que del presente estudio se derivarán los siguientes beneficios: establecer un marcador en sangre de actividad de psoriasis.

Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que yo así lo desee. También que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio. Así mismo, cualquier trastorno temporalmente relacionado con esta investigación podre consultarlo con el Jefe de Enseñanza e Investigación de la unidad de atención; <Dr. Fermín Jurado Santa Cruz. Dr. Vértiz 464, Col. Buenos Aires, Del. Cuauhtémoc, CP 0678. tel. 5538-7033 > y con el investigador responsable <Dra. María del Mar Campos Fernández. Cincinnati

81-807, Col. Nochebuena, Del. Benito Juárez, CP 03710. tel. 5615-0322>. El Jefe de Enseñanza e Investigación comunicará el evento a la Dirección de Educación e Investigación de la SSDF, en donde se decidirá la necesidad de convocar al investigador principal y al Cuerpo colegiado competente, para su resolución. Cuando el trastorno se identifique como efecto de la intervención, la instancia responsable deberá atender médicamente al paciente hasta la recuperación de su salud o la estabilización y control de las secuelas así como entregar una indemnización y si existen gastos adicionales, estos serán absorbidos por el presupuesto de la investigación.

En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no se verá afectada.

|   |          |        |
|---|----------|--------|
| Nombre.   |          | Firma. |
| (En caso necesario, datos del padre, tutor o representante legal) |          |        |
| Domicilio.  | Teléfono |        |
| Nombre y firma del testigo  |          | Firma. |
| (En caso necesario, datos del padre, tutor o representante legal) |          |        |
| Domicilio.  | Teléfono |        |
| Nombre y firma del testigo  |          | Firma. |
| (En caso necesario, datos del padre, tutor o representante legal) |          |        |
| Domicilio.  | Teléfono |        |

|   |                    |        |
|---|--------------------|--------|
| Nombre y firma del Investigador responsable.<br>Dra. María del Mar Campos Fernández |                    | Firma. |
| Domicilio. Cincinnati 81-807, Col. Nochebuena, Del. Benito Juárez, CP 03710         | Teléfono 5615-0322 |        |

c. c. p. Paciente o familiar

c. c. p. Dra. María del Mar Campos Fernández

**PASI: CEDULA DE REGISTRO**

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha de ingreso: \_\_\_\_\_

**SEVERIDAD: 0-NADA 1- LEVE 2 – MODERADO 3 – SEVERO 4 – MUY SEVERO**

|                | CABEZA  | E. SUPERIORES | TRONCO  | E. INFERIORES |
|----------------|---------|---------------|---------|---------------|
| ERITEMA        | 1 2 3 4 | 1 2 3 4       | 1 2 3 4 | 1 2 3 4       |
| INDURACION     | 1 2 3 4 | 1 2 3 4       | 1 2 3 4 | 1 2 3 4       |
| ESCAMA         | 1 2 3 4 | 1 2 3 4       | 1 2 3 4 | 1 2 3 4       |
| <b>TOTAL 1</b> |         |               |         |               |

**EXTENSION: 0 – NADA 1. < 10 % 2. 10 – 29 % 3. 30 – 49 % 4. 50 - 69 % 5. 70 – 89 % 6. 90 – 100% 13**

| AREA           | CABEZA      | E. SUPERIORES | TRONCO      | E. INFERIORES |
|----------------|-------------|---------------|-------------|---------------|
| EXTENSION      | 1 2 3 4 5 6 | 1 2 3 4 5 6   | 1 2 3 4 5 6 | 1 2 3 4 5 6   |
| <b>TOTAL 2</b> |             |               |             |               |

**MULTIPLICAR TOTAL 1 x TOTAL 2 = TOTAL 3**

|                |  |  |  |  |
|----------------|--|--|--|--|
| <b>TOTAL 3</b> |  |  |  |  |
|----------------|--|--|--|--|

**MULTIPLICAR TOTAL 3 x COCIENTES PREDETERMINADOS = TOTAL 4**

| COCIENTE PREDETERMINADO | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
|-------------------------|-----|-----|-----|-----|
| <b>TOTAL 4</b>          |     |     |     |     |

**SUMAR LOS TOTALES 4 = PASI**

|                  |  |               |
|------------------|--|---------------|
| <b>TOTALES 4</b> |  | <b>PASI =</b> |
|------------------|--|---------------|

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

1. De Jong EM. The course of psoriasis. *Clin Dermatol* 1997; 15:687-92.
2. Carey W, Glazer S, Gottlieb AB, Lebwohl M, Leonardi C, Menter A, et al. Relapse, rebound, and psoriasis adverse events: An advisory group report. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: S171-81.
3. Luba KM, Stulberg DL. *Am Fam Physician* 2006; 73: 636.44.
4. Koo J. Systemic sequential therapy of psoriasis: a new paradigm for improved therapeutic results. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41(Suppl): S25-8.
5. Krueger G, Ellis CN. Psoriasis—recent advances in understanding its pathogenesis and treatment. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: S94-100.
6. Asumalahti K, Veal C, Laitinen T, Suomela S, Allen M, Elomaa O, et al. Coding haplotype analysis supports HCR as the putative susceptibility gene for psoriasis at the MHC PSORS1 locus. *Hum Mol Gene* 2002; 11: 589-97.
7. Capon F, Munro M, Barker J, Trembath R. Searching for the major histocompatibility complex psoriasis susceptibility gene. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 745-51.
8. The International Psoriasis Genetics Consortium. The International Psoriasis Genetics Study: assessing linkage to 14 candidate susceptibility loci in a cohort of 942 affected sib pairs. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 430-7.
9. Guenther LC, Ortonne J-P. Pathophysiology of psoriasis: science behind therapy. *J Cutan Med Surg* 2002; 6(Suppl 3):2-7.
10. Cameron AL, Kirby B, Fei W, Griffiths CEM. Natural killer and natural killer-T cells in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2002; 294:363-9.
11. Bjerke JK, Krough HK, Matre R. Characterization of mononuclear cell infiltrates in psoriatic lesions. *J Invest Dermatol* 1978; 71: 340-3. 9
12. Mehlis SL, Gordon KB. The immunology of psoriasis and biologic immunotherapy. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49: S44-50. Lebwohl M. Psoriasis. *Lancet* 2003; 361: 1197-204.

13. Chaturvedi V, Qin J-Z, Denning MF, Choubey D, Diaz MO, Nickoloff BJ. Apoptosis in proliferating, senescent, and immortalized keratinocytes. *J Biol Chem* 1999; 274: 23358-67.
14. Victor FC, Gottlieb AB. TNF-alpha and apoptosis: implications for the pathogenesis and treatment of psoriasis. *J Drugs Dermatol* 2002; 1: 264-75.  
Goffe B, Cather JC. Etanercept: an overview. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49: S105-11.
15. Weinstein GD, McCullough JL, Ross PA. Cell kinetic basis for pathophysiology of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1985; 85: 579-83.
16. Kang SSW, Kauls LS, Gaspari AA. Toll-like receptors: Applications to dermatologic disease. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: 951-83.
17. Anderson KV, Nusslein-Volhard C. Information for the dorsalventral pattern of the *Drosophila* embryo is stored as maternal mRNA. *Nature* 1984; 311: 223-7.
18. Hashimoto C, Hudson K, Anderson K. The toll gene in *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell* 1988; 52: 269-79.
19. Baker BS, Ovigne JM, Powles AV, et al. Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol*. 2003 Apr; 148(4):670-9.
20. Cristofaro P, Opal SM. Role of Toll-like receptors in infection and immunity: clinical implications. *Drugs*. 2006; 66(1):15-29.
21. McInturff JE, Modlin RL, Kim J. The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J Invest Dermatol*. 2005; 125(1):1-8.
22. Curry JL, Qin JZ, Bonish B, et al. Innate immune-related receptors in normal and psoriatic skin. *Arch Pathol Lab Med*. 2003; 127(2):178-86.
23. Gilliet M, Conrad C, Geiges M, et al. Psoriasis triggered by toll-like receptor 7 agonist imiquimod in the presence of dermal plasmacytoid dendritic cell precursors. *Arch Dermatol*. 2004 Dec;140(12):1490-5.

24. O'Neill LA. Therapeutic targeting of Toll-like receptors for inflammatory and infectious diseases. *Curr Opin Pharmacol*. 2003; 3(4):396-403.
25. Lennert K, Remele W. Karyometric research on lymph node cells in man. I. Germinoblasts, lymphoblasts & lymphocytes. *J Acta Haematol* 1958; 19: 99-113.
26. Facchetti F, Vermi W, Mason D et al. The plasmacytoid monocyte/interferon producing cells. *Virchows Arch* 2003; 443: 703-17.
27. Abb J, Abb H, Deinhardt F. Phenotype of human IFN $\alpha$  producing leucocytes identified by monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* 1983; 52: 179-84.
28. Ronnblom L, Ramstedt U, Alm GV. Properties of human natural interferon producing cells stimulated by tumor cell lines. *Eur J Immunol* 1983; 13: 471-6.
29. Siegal FP. The nature of the principal type interferon-producing cells in human blood. *Science* 1999; 284: 1835-7.
30. Dzionek A. BDCA-2, a novel plasmacytoid dendritic cell-specific type II C-type lectin, mediates antigen capture and is a potent inhibitor of interferon  $\alpha/\beta$  induction. *J Exp Med* 2001; 194: 1823-34.
31. Dzionek A. Plasmacytoid dendritic cells: from specific surface markers to specific cellular functions. *Hum Immunol* 2002; 63: 1133-48.
32. Blom B, Ho S, Antonenko S et al. Generation of interferon  $\alpha$ -producing predendritic cell (Pre-DC)2 from human CD34+ hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 2000; 192: 1785-96.
33. Chen W. Thrombopoietin cooperates with FLT3-ligand in the generation of plasmacytoid dendritic cell precursors from human hematopoietic progenitors. *Blood* 2004; 103: 2547-53.
34. Karsunky H, Merad M, Cozzio A et al. Flt3 ligand regulates dendritic cell development from Flt3<sup>+</sup> lymphoid and myeloid-committed progenitors to Flt3<sup>+</sup> dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 2003; 198: 305-13.
35. D'Amico A, Wu I. The early progenitors of mouse dendritic cells and plasmacytoid predendritic cells are within the bone marrow hemopoietic precursors expressing Flt3. *J Exp Med* 2003; 198: 293-303.

36. Pulendran B. Flt3-ligand and granulocyte colony-stimulating factor mobilize distinct human dendritic cell subsets in vivo. *J Immunol* 2000; 165: 566-72.
37. Arpinati M, Green CL, Heimfeld S et al. Granulocyte-colony stimulating factor mobilizes T helper2-inducing dendritic cells. *Blood* 2000; 95: 2484-90.
38. O'Keeffe M. Mouse plasmacytoid cells: long lived cells, heterogeneous in surface phenotype and function, that differentiate into CD8+ dendritic cells only after microbial stimulus. *J Exp Med* 2002; 196: 1307-19.
39. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2004; 5: 987-95.
40. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 335-76.
41. Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H et al. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science* 2004; 303: 1529-31.
42. Colonna M, Trinchera G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity: Review. *Nat Immunol* 2004; 12: 1219-26.
43. Poeck H. Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity* 2003; 19: 225-34.
44. Preble OT, Black RJ, Friedman RM, Klippel JH et al. Systemic lupus erythematosus: presence in human serum of an unusual acid-labile leukocyte interferon. *Science* 1982; 216: 429-31.
45. Farkas L, Beiske K, Luna-Johansen F et al. Plasmacytoid dendritic cells (natural interferon- $\alpha/\beta$ -producing cells) accumulate in cutaneous lupus erythematosus lesions. *Am J Pathol* 2001; 159: 237-43.
46. Lew W, Bowcock AM, Krueger JG. Psoriasis vulgaris: cutaneous lymphoid tissue supports T-cell activation and 'Type 1' inflammatory gene expression. *Trends Immunol* 2004; 25: 295-305.
47. Downs AM, Dunnill MG. Exacerbation of psoriasis by interferon-alpha therapy for hepatitis C. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25: 351-2.

48. Nestle FO, Conrad C, Tun Kyi A. Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon- $\alpha$  production. *J Exp Med* 2005; 202: 135-43.
49. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. *Dermatology*. ed. Mosby. 2<sup>a</sup> ed. Reino Unido 2003. pp. 125-49.
50. Menter MA, Krueger GC, Feldman SR, Weinstein GD. Psoriasis treatment 2003 at the new millennium: position paper on behalf of authors. *J Am Acad Dermatol* 2003;49(Suppl): S39-43.
51. Guyre PM, Girard MT, Morganelli PM, Manganiello PD. Glucocorticoid effects on the production and actions of immune cytokines. *J Steroid Biochem* 1988; 30: 89-93.
52. Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell* 1989; 56:335-44.
53. Weinstein GD. Methotrexate treatment. In: Weinstein GD, Gotlieb AB, editors. *Therapy of moderate-to-severe psoriasis*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 2003. pp. 115-36.
54. Zanolli M. Phototherapy treatment of psoriasis today. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49(Suppl): S78-86.
55. Coven TR, Walters IB, Cardinale I, Krueger JG. PUVA-induced lymphocyte apoptosis: mechanism of action in psoriasis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1999;15:22-7.
56. Gelfand JM, Feldman SR, Stern RS, Thomas J, Rolstad T, Margolis DJ. Determinants of quality of life in patients with psoriasis: A study from the US population. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51: 704-8.