

R. 19190

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Facultad de Medicina

Curso 1988-1989
Número 229 Serie 33
Sevilla

Gloria Tomás Cabedo

T. D.
T/89

**PARAMETROS INMUNOLOGICOS, EN PACIENTES PSORIASICOS
GRAVES, TRATADOS CON CICLOSPORINA A.**

X



Tesis presentada por Dña. GLORIA TOMAS CABEDO, para optar al Grado de Doctora en Medicina y Cirugía por la Universidad de Sevilla.



Servicio Andaluz de Salud

GERENCIA PROVINCIAL

HOSPITAL UNIVERSITARIO "VIRGEN DEL ROCIO"

Avenida Manuel Siurot, s/n.

41013 - SEVILLA

JUNTA DE ANDALUCIA

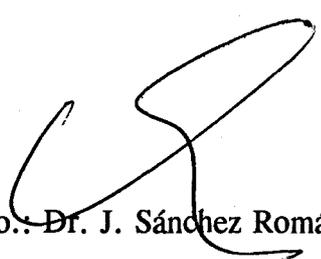
Consejería de Salud

**D. JULIO SANCHEZ ROMAN, Profesor Asociado del Departamento de
MEDICINA INTERNA ,**

COMUNICA:

Que la Licenciada **D^a GLORIA TOMAS CABEDO**, ha realizado el trabajo de investigación que lleva por título: "**PARAMETROS INMUNOLOGICOS, EN PACIENTES PSORIASICOS GRAVES, TRATADOS CON CICLOSPORINA A**", bajo mi Dirección, reuniendo las condiciones para ser leída y defendida como tesis para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Para que conste y a los efectos oportunos, expido la presente Comunicación en Sevilla a 9 de Junio de 1993.


Fdo.: **Dr. J. Sánchez Román**

DIRECTOR DE LA TESIS


Fdo.: **G. Tomás Cabedo**

DOCTORANDO



ESCUELA UNIVERSITARIA DE ENFERMERIA
DE SEVILLA

Ma. Dolores Maldonado y Aibar, Doctora en Medicina y Cirugia y Profesora Asociada de la Escuela Universitaria de Enfermeria "Virgen Macarena" de Sevilla.

CERTIFICA

Que Dña. Gloria Tomas Cabedo, ha realizado bajo mi dirección el trabajo de investigación titulado " PARAMETROS INMUNOLOGICOS, EN PACIENTES PSORIASICOS GRAVES, TRATADOS CON CICLOSPORINA A", con el que opta al grado de Doctora en Medicina y Cirugia. Dicho trabajo, a mi juicio, reúne ampliamente todas las condiciones exigibles para los fines propuestos. Estando en condiciones, por consiguiente, de ser sometido a los trámites previstos por la vigente normativa al respecto.

Lo que firmo, a los efectos oportunos, en Sevilla a 15 de Junio de 1993.

Fdo.:Ma. Dolores Maldonado y Aibar



**" A veces, la tristeza inunda el corazón,
pero siempre hay una luz, que abre el
camino de la esperanza..."**

A mi madre y hermana.

A mi padre y tío Vicente, in memoriam.

Este trabajo ha sido parcialmente expuesto y publicado en:

- "Psoriasis grave. Nuestra experiencia con Cs A".

Comunicación nº 21. XIX Congreso Nacional de Dermatología y Venereología. Alicante, 1 de Junio 1990.

- "Ciclosporina A en el tratamiento de psoriasis grave".

Póster. VIII Reunión Científica de la Sociedad Andaluza de Medicina Interna (SADEMI). Aguadulce (Almería), 15, 16 y 17 de Noviembre de 1990.

- "Respuesta al tratamiento prolongado con Ciclosporina A en el psoriasis". I Symposium Nacional Ciclosporina A en Psoriasis y otras dermatosis. Barcelona, 25 y 26 Octubre de 1991.

- "Respuesta al tratamiento con dosis bajas de Ciclosporina A en Psoriasis".

Tema monográfico: Psoriasis. Reunión Anual de la Sección Andaluza de la Academia Española de Dermatología y Venereología. Torremolinos (Málaga) 6 y 7 de Marzo de 1992.

- "Respuesta al tratamiento prolongado con dosis bajas de Ciclosporina A en psoriasis".

Actas Dermo-Sif. 1992; 83(Supl.):33-35.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a todas las personas que directa o indirectamente, han participado en la realización de este trabajo, en particular a:

- Dr. Julio Sánchez Román, profesor asociado de Medicina Interna y Jefe de la Unidad de Colagenosis del Hospital Universitario "Virgen del Rocio " de Sevilla, Director de este trabajo que se presenta como Tesis, que ha mostrado gran paciencia en la elaboración estadística y a lo largo del tiempo, por sus buenos consejos como profesional y amigo.

- Dra. M^a Dolores Maldonado y Aibar, profesora asociada de la Escuela de Enfermería y Directora de este trabajo, por su ayuda en la interpretación de los datos inmunológicos, su amistad y sus magníficas ideas que siempre me ha aportado.

- D. Tomás Rodríguez Cañas, Jefe de Sección de Dermatología, Dña. Ascensión Romero Castro y D. Emiliano Rubio Polo, médicos adjuntos de la Sección de Dermatología del Hospital U. "Virgen del Rocio" de Sevilla, por su gran disposición para la selección de los pacientes y fotografías pre y postratamiento, su amistad desinteresada y el iniciarme en el arte de la Dermatología.

- Dña. Amparo Bueno, Dña. Eugenia Boza y Dña. Cristina Simón por la atención que siempre han tenido conmigo en el seguimiento de los enfermos.

- A la Dra. Berta Sánchez, el tiempo que me ha dedicado para la técnica de ELISA.

- Dres. Antonio Rodríguez Pichardo y Begoña García Bravo, que me han abierto su casa, para búsquedas bibliográficas.

- Laboratorios Sandoz de Sevilla, que me aportaron la bibliografía más difícil de conseguir.

- A Amparo Ybañez, Pilar Pérez y Blanca Ortiz, por el tiempo invertido en las búsquedas bibliográficas.

- A mis amigos/as médicos residentes del Hospital U. " Virgen del Rocio" de Sevilla, que colaboraron como muestras control.

- A todo el Servicio de Inmunología del Hospital U. " Virgen del Rocio" de Sevilla, médicos, enfermeras, residentes, becarios, auxiliares y administrativas, que de un modo u otro han participado en la extracción sanguínea de muestras de enfermos, como grupo control y ayuda en la

técnica de subpoblaciones celulares.

INDICE

	Pág.
<u>I. INTRODUCCION.</u>	1
<u>1. PSORIASIS.</u>	2
1.1. Psoriasis:Concepto, recuerdo histórico y etiopatogenia	2
1.2. Clasificación.....	7
1.3. Principales manifestaciones clínicas de la psoriasis grave.....	10
1.4. Alteraciones inmunológicas de la psoriasis grave	12
1.5. Principales tratamientos sistémicos empleados en la psoriasis grave.....	20
<u>2. CICLOSPORINA A.</u>	22
2.1. Composición y estructura.....	22
2.2. Farmacocinética.....	24
2.3. Mecanismos de acción.....	26
2.3.1. Mecanismo de acción sobre el sistema inmune	26
2.3.2. Mecanismo de acción sobre otras células	31
2.4. Efectos indeseables e interacciones de la ciclosporina A.....	33
2.5. Ciclosporina A y psoriasis.....	36
<u>II. OBJETIVOS.</u>	39
<u>III. DISEÑO EXPERIMENTAL.</u>	41
<u>IV. MATERIAL Y METODOS.</u>	45
<u>4.1. PACIENTES.</u>	46
4.1.1. Pacientes psoriásicos graves.....	46
<u>4.2. METODOS.</u>	47
4.2.1. Selección clínica de pacientes psoriásicos graves	47
4.2.2. Protocolo de tratamiento.....	49
4.2.3. Técnicas para el estudio del sistema inmune inespecífico: Determinación en suero de proteínas de fase aguda, mediante técnica de nefelometría	51
4.2.4. Técnicas para el estudio del sistema inmune específico.....	51
4.2.4.1. Caracterización de subpoblaciones celulares	51
4.2.4.2. Estudio de la expresión de marcadores de adhesión y activación.....	53
4.2.4.3. Estudio de TNF α e IL-1 β mediante técnica de ELISA	54
4.2.5. Estudios estadísticos.....	58

<u>V. RESULTADOS.</u>	59
5.1. EL SISTEMA INMUNE PREVIO AL TRATAMIENTO CON CS A	63
5.2. EL SISTEMA INMUNE EN FASE TERAPEUTICA PRECOZ	65
5.3. EL SISTEMA INMUNE EN FASE TERAPEUTICA TARDIA	68
<u>VI. DISCUSION.</u>	116
<u>VII. CONCLUSIONES.</u>	128
<u>VIII. RESUMEN.</u>	131
<u>IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.</u>	135

ABREVIATURAS

ACTH: Hormona cortico adrenérgica
Ag: Antígeno
Ag-Ac: Antígeno-anticuerpo
APC: Célula presentadora de antígeno
b-FGF: Factor de crecimiento fibroblástico básico
BSA: Suero albúmino bovino
C: Carbono
cc: Centímetros cúbicos
°C: Grados centígrados
C_s: Complemento activado
Ca⁺⁺: Ión calcio
CD: Grupo diferenciación
C.End.: Células endoteliales
Cf: Ciclofilina
CINa: Cloruro sódico
cm: Centímetros
Cr: Creatinina
Cs A: Ciclosporina A
D: Forma dextrógira del aminoácido
d: Día
DMSO: Dimetilsulfóxido
DNA: Acido desoxirribonucleico
EC-SF: Factor supresor derivado de células epidérmicas
EDTA: Acido tetraacético etilendinitrilo
ELAM: Molécula de adhesión leucocítica endotelial
ELISA: Inmunoensayo ligado a enzimas
FACScan: Citómetro de flujo
FcR: Receptor del fragmento cristalizable de la inmunoglobulina
Fab: Fragmento de la inmunoglobulina que se une al antígeno
g: Gramo
gIP-10: Proteína 10 inductora de gamma interferon
GM-CSF: Factor estimulante de colonias granulocitos/macrófagos
GOT: Transaminasa glutámico-oxalacética
GPT: Transaminasa glutámico-pirúvica
H: Hidrógeno
H₂: Receptor antihistamínico 2
H₂O: Agua
H₂O₂: Peróxido de hidrógeno
H₂SO₄: Acido sulfúrico
HDL: Lipoproteína de alta densidad
HLA-II/DR: Complejo principal de histocompatibilidad humano de clase II

ICAM-1: Molécula 1 de adhesión intercelular
IFI: Inmunofluorescencia indirecta
IFN: Interferon
Ig: Inmunoglobulina
IL: Interleukina
IL-2R: Receptor de la inteleuquina 2
J: Julios
K: Potasio
Kg: Kilogramos
L: Forma levógira del aminoácido
LB: Leucocitos B
LDL: Lipoproteínas de baja densidad
LFA-1: Antígeno(s) asociado a la función linfocítica
LPS: Lipopolisacáridos
LT: Linfocito T
LTB4: Leucotrieno B4
Mac-1: Molécula de adhesión celular 1
MCAF: Factor quimiactivante
M-CSF: Factor estimulador de colonias de macrófagos
Mg: Magnesio
mg: Miligramos
min: Minuto
ml: Mililitro
MOP: Metoxipsoraleno
mRNA: Acido ribonucleico mensajero
N: Nitrógeno
ng: Nanogramos
NK: Célula agresora natural
nm: Nanometros
O: Oxígeno
OKM: Anticuerpos monoclonales que identifican marcadores de superficie de linfocitos T en los seres humanos
PASI: Índice del área y severidad de la psoriasis
PBS: Tampón fosfato salino
pg: Picogramos
PI: Fosfoinositol
PK-C: Proteín-quinasa C
PMN: Granulocitos polimorfonucleares
PUVA: Terapia con ultravioleta A y psoralen oral
Qc* : Queratinocito estimulado
RePUVA: Terapia con ultravioleta A, psoralen y retinoides orales
RIA: Radioinmunoensayo
rIL: Interleuquina recombinante
rpm: Revoluciones por minuto
T^a: Temperatura
TGF: Factor de crecimiento transformante

TiT3: Molécula que interacciona con célula presentadora de antígeno

TI: Timo-independiente

TMB: Tetrametilbencidina

TNF: Factor de necrosis tumoral

μl: Microlitro

UM4D4: Molécula de superficie

UVA: Terapia con ultravioleta A

VCAM: Molécula de adhesión celular vascular

VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad

VSG: Velocidad de sedimentación globular

RELACION TABLAS Y FIGURAS.

Pág.

Tabla I	: Hoja protocolo, para valorar el PASI	48
Tabla II	: Hoja protocolo, de seguimiento	50
Tabla III	: Pacientes y formas de la enfermedad	71
Tabla IV	: Respuesta al tratamiento	72
Tabla V	: Media basal y control de linf.T, (subp.) y B	73
Tabla VI	: Media basal y control de linf.T* y CD16+	74
Tabla VII	: Media basal y control de m. de adhesión	75
Tabla VIII	: Media basal y control de m. de activación	76
Tabla IX	: Media basal y control react.fase aguda	77
Tabla X	: Media basal y control citocinas	78
Tabla XI	: Media basal y t.precoz de linf.T, (subp.) y B	79
Tabla XII	: Media control y t.precoz de linf.T, (subp.) y B	80
Tabla XIII	: Media basal y t.precoz de linf.T* y CD16+	81
Tabla XIV	: Media control y t.precoz de linf.T* y CD16+	81
Tabla XV	: Media basal y t.precoz m. de adhesión	82
Tabla XVI	: Media control y t.precoz m. de adhesión	82
Tabla XVII	: Media basal y t.precoz m. de activación	83
Tabla XVIII	: Media control y t.precoz m. de activación	83
Tabla XIX	: Media basal y t.precoz de r. de fase aguda	84
Tabla XX	: Media control y t.precoz de r. de fase aguda	85
Tabla XXI	: Media basal y t.precoz de citocinas	86
Tabla XXII	: Media control y t.precoz de citocinas	86
Tabla XXIII	: Media basal y t.tardía de linf. T, (subp.) y B	87
Tabla XXIV	: Media control y t.tardía de linf. T, (subp.) y B	88
Tabla XXV	: Media basal y t.tardía de linf. T* y CD16+	89
Tabla XXVI	: Media control y t.tardía de linf. T* y CD16+	89
Tabla XXVII	: Media basal y t.tardía de m. de adhes.y activ.	90
Tabla XXVIII	: Media control y t.tardía de m. de adhes.y activ.	91
Tabla XXIX	: Media basal y t.tardía de r. de fase aguda	92
Tabla XXX	: Media control y t.tardía de r. de fase aguda	93
Tabla XXXI	: Media basal y t.tardía de citocinas	94
Tabla XXXII	: Media control y t.tardía de citocinas	94
Tabla XXXIII	: Evolución linf. T, (subp.) y B	95
Tabla XXXIV	: Evolución linf. T* y CD16+	95
Tabla XXXV	: Evolución m. de adhesión y activación	96
Tabla XXXVI	: Evolución reactantes de fase aguda	97
Tabla XXXVII	: Evolución citocinas	98
Figura 1	: Foto clínica antes del tratamiento con CsA	61
Figura 2	: Foto clínica tras tratamiento con CsA	62
Figura 3	: Poblaciones cel.linfocitos T, subp.T y linf.B	99
Figura 4	: Linfocitos T* (HLA-II) y CD16+ basales	100
Figura 5	: Moléculas de adhesión basales	101
Figura 6	: Moléculas de activación	102
Figura 7	: React. de fase aguda basales, significativos	103
Figura 8	: Citocinas (IL-1 β y α TNF) basales	104
Figura 9	: Linf.T, sus subpobl., y linf.B. Terapia precoz	105
Figura 10	: Linfocitos T* y CD16+. Terapia precoz	106

Figura 11	: M. Adhesión y activación. Terapia precoz	107
Figura 12	: Citocinas. Terapia precoz	108
Figura 13	: Linf.T,sub. y linf.B. Terapia tardía y controles	109
Figura 14	: M. de adhes. y activac. Terapia tardía y contr.	110
Figura 15	: Citocinas. Terapia tardía y basal	111
Figura 16	: Evoluc. de linf. T, subp. y linf. B	112
Figura 17	: Evolución T* y CD16+	113
Figura 18	: Evolución M. de adhesión y activación	114
Figura 19	: Evolcuión citocinas	115

I. INTRODUCCION.

1. PSORIASIS.

1.1. Concepto, recuerdo histórico y etiopatogenia.

La psoriasis es una enfermedad crónica y común de la piel englobada entre las dermatosis eritematoescamosas. En ocasiones presenta, concomitantemente, afectación articular.

Las lesiones cutáneas más características son placas bien delimitadas eritematosas y con escamas plateadas en su superficie; otras veces adoptan una morfología máculo-eritematosa o pustulosa.

Se desconoce, actualmente, porqué cada enfermo desarrolla una forma de lesión psoriásica y como de una forma localizada se puede llegar a una generalizada, aunque en este último caso se han encontrado factores precipitantes (exógenos y endógenos).

La amplitud del espectro clínico y la localización extraordinariamente variables, han creado grandes confusiones a lo largo de la historia.

Hipócrates, en el Corpus Hippocraticum (siglo V-IV a.c.), llama "psora"(sarna o picazón) y "lepra" a las afecciones que podían ser reconocidas como psoriasis (1). La confusión entre lepra y psoriasis continuó hasta el siglo XIX cuando R. Willan separó clínicamente la "lepra graecorum" discoide, de la " psora leprosa" policíclica, que llamó psoriasis. Sin embargo Ferdinand Von Hebra (s.XIX) en 1841 (1, 2), demostró que ambas entidades correspondían a una sola enfermedad, separando la palabra lepra del contexto de psoriasis.

La prevalencia de la psoriasis es de un 0,5-3 % y su distribución es semejante en ambos sexos. En cuanto a la edad de comienzo, se observan dos picos importantes: uno en la pubertad y otro entre la 4ª y la 5ª década (3, 4).

La etiopatogenia de este proceso es en gran parte desconocida. Se han implicado, en ella, factores genéticos (5, 6). Se observa una mayor frecuencia de los antígenos HLA-B13, Bw-16, Bw-17, Bw-37 y Cw-6 en la psoriasis vulgar y de HLA-B27, HLA-DR4 y Bw-38 en la psoriasis con sacroileítis y artritis periférica severa.

Sobre esta base genética actuarían determinados factores desencadenantes, tales como:

ambientales: luz, alcohol, traumatismos (área del pañal, zona palmo-plantar).

endocrinos : esteroides (muchas psoriasis blanquean durante el embarazo, otras empeoran o se inician coincidiendo con el climaterio) neuropéptidos, hormonas de estrés (7).

farmacológicos: litio, bloqueadores beta o corticoides.

metabólicos: hipocalcemia.

inmunitarios:

a) humorales: presencia de inmunocomplejos circulantes derivados del estreptococo o del virus del SIDA (8-9); efectos de mediadores de inflamación tales como eicosanoides (10), nucleótidos cíclicos, citoquinas (11-15) y factores de crecimiento celular (16).

b) celulares: relacionadas tanto con elementos celulares leucocitarios o monocitarios (17, 18) como con células más específicamente cutáneas como las células de Langerhans (19) y los queratinocitos (20).

En el estudio histológico de las lesiones psoriásicas, los hallazgos principales afectan tanto a la epidermis (acúmulos de neutrófilos e hiperproliferación de las capas epidérmicas) como a la dermis (proliferación y dilatación vascular superficial e infiltrado linfomonocítico).

Aunque no hay conformidad acerca de qué células aparecen primero en el infiltrado, si se está de acuerdo en que los procesos inflamatorios (21) preceden a la proliferación epidérmica. Las alteraciones endoteliales (edema y separación intercelular, seguidas por la degranulación de los mastocitos) representan los cambios iniciales para el futuro infiltrado mononuclear constituido, principalmente, por linfocitos T y monocitos-macrófagos (22, 23). Existe gran controversia acerca de qué sustancias activas específicamente biológicas son las que determinan estos cambios patológicos. Si su producción es local, o si acceden a la piel por vía hemática.

Se cuenta, cada vez, con más pruebas que indican que las lesiones psoriásicas se perpetúan debido a un mecanismo inmunológico. Los investigadores actuales postulan dos hipótesis en la etiopatogenia de las lesiones psoriásicas:

a) **defecto básico intrínseco en el queratinocito**, determinado genéticamente, que iniciaría el proceso en la epidermis. Aquel liberaría mediadores que ocasionarían secundariamente las lesiones; el tratamiento frenaría la actividad mitótica de las células epidérmicas (11, 20, 24).

b) **defecto básico inmune en el linfocito T**, que iniciaría el proceso en la dermis. La hiperproliferación epidérmica se produce por las linfoquinas secretadas por los linfocitos T; el tratamiento actuaría como inmunomodulador (17-18, 25-26).

Sin embargo, otros autores (25, 26), abogan por la **teoría inmune mixta**: los linfocitos T de la dermis, penetrarían en la epidermis (teoría de la circulación de las células en la piel (27-30) y, allí, se unirían a los queratinocitos, a través de moléculas de adhesión (ICAM-1/LFA-1), y los activarían. El queratinocito activado expresaría moléculas de superficie (ICAM-1, HLA-DR, UM4D4 y gIP-10) y liberaría una cascada de citocinas que autoperpetuaría el proceso inflamatorio y la proliferación queratinocítica.

Así, el secuestro dérmico de linfocitos T circulantes se realiza a través de las moléculas de adhesión específicas que hay en las células endoteliales.

Mediante estudios inmuno-histoquímicos, con anticuerpos monoclonales, de la piel psoriásica, se comprueba un aumento de las células dendríticas en la epidermis y un infiltrado celular en la dermis constituido principalmente por linfocitos T-colaboradores activados (CD4+ y HLA-DR+) (31, 32). En la piel normal se admite que, aproximadamente, solo 1 % de las células epidérmicas son linfocitos T, principalmente CD8+ (supresor/citotóxico) (29).

La incorporación preferente de linfocitos T en la piel fue comprobada, hace casi 70 años por Kondo (33) y, más recientemente, por Streilein (27), Bos (29) y Nickoloff (34). Cada uno, independientemente, desarrolló el concepto de una circulación de las células mononucleadas en la piel y en particular en la epidermis. Para que los linfocitos se acumulen en la piel, es preciso que antes penetren en ella a partir de los vasos dérmicos.

Los linfocitos T pueden activarse tanto de forma antígeno dependiente como antígeno-independiente (35). En el primer caso, se necesita que el complejo receptor del linfocito T (CD3) interaccione con las células presentadoras de antígenos que

posean HLA-DR+. El segundo mecanismo se produce por interacción del linfocito T con moléculas como CD2, CD28, y UM4D4 (26), ésta molécula induce la proliferación de algunas subpoblaciones de linfocitos T periféricos, tanto activados como en reposo.

En la psoriasis la mayoría de los linfocitos T dérmicos y epidérmicos expresan la molécula UM4D4, lo mismo que los queratinocitos psoriásicos basales de la epidermis. Los linfocitos T podrían influir en el crecimiento de los queratinocitos a través de la inducción de receptores como el UM4D4 que aumentan ante señales mitogénicas (citocinas) derivadas del mismo linfocito o de forma indirecta, derivadas por el propio queratinocito (ejemplo el factor de crecimiento transformante alpha o TGF- α).

La explicación de los defensores de la teoría inmune ante la psoriasis desarrollada en enfermos de SIDA, es que la lesión cutánea se exacerba al inicio del desarrollo de la enfermedad, pero desaparece después, cuando también lo hacen las células T.

Las citocinas queratinocíticas observadas *in vivo* son: IL-1 (α y β), IL-6 e IL-8, TNF α , IFN γ , TGF α y MCAF (factor quimioactivante). Las citocinas procedentes de los linfocitos T activados inducen la expresión de ICAM-1 y rIL-1 por los queratinocitos, lo que produce tanto su proliferación como la captación de linfocitos T en la epidermis.

A pesar de los numerosos hechos experimentales que refuerzan la hipótesis del papel inmune en la patogenia de la psoriasis, no se sabe con certeza si la activación de los linfocitos T se realiza a través de la presentación de antígenos exógenos, o si se trata de un fenómeno antígeno-independiente.

La mayoría de los trabajos se han centrado en biopsias cutáneas y estudios inmuno-histoquímicos con anticuerpos monoclonales. Muy pocos se han centrado en la situación del sistema inmunológico en el compartimento sanguíneo.

1.2. Clasificación de la Psoriasis.

Se aceptan actualmente las siguientes formas de lesión cutánea:

1. Forma en placa clásica:

Las lesiones son placas, eritematoescamosas, de contornos bien definidos, ligeramente sobreelevadas de la piel normal. El color de las escamas es generalmente blanco nacarado pero varía a grisáceo, amarillento, e incluso salmón. Son poco adherentes y al removerlas aparece una superficie eritematosa, congestiva (signo del rocío hemorrágico de Auspitz), que traduce el aumento de vasodilatación de la dermis papilar. La placa psoriásica activa se extiende periféricamente y puede formar un anillo blanquecino (halo de Woronoff); si remiten, su color pierde intensidad, con aclaramiento central. Generalmente son asintomáticas pero, si se extienden, pueden producir sensación de quemazón o intenso prurito por la sequedad cutánea que provocan.

Las placas tienden a distribuirse de forma simétrica, sobre zonas de extensión de las extremidades (codos, rodillas, y región pretibial), que son las localizaciones más frecuentes; otras áreas son, región lumbo-sacra, ombligo, cuero cabelludo, genitales, región palmo-plantar y tronco, éste puede afectarse si se generalizan las lesiones. Cuando se afectan zonas de pliegues (axila, ingles, pliegue submamario y perineal), se la conoce como psoriasis inversa, las lesiones son húmedas, no poseen escamas ni la elevación característica. La diferente morfología que adopte la placa va a dar lugar a

variantes tales como: psoriasis en placas, gotas, numular, gyrata o circinada, rupioide o verrucosa, folicular, liquenoide y exudativa o psoriasis seborreico.

La variante en gotas es frecuentemente generalizada y suele estar precedida por infección del tracto respiratorio superior, tanto bacteriana (estreptococo) como vírica (virus gripal).

Cualquier trauma físico, sobre un área cutánea en la fase activa, reproduce las lesiones de forma lineal (fenómeno de Köebner), en una o dos semanas. Se ha visto que la presión sobre las palmas, por una actividad manual, también produce la lesión. El fenómeno de Köebner inverso, indica el blanqueamiento de las lesiones ante un trauma físico.

Las uñas frecuentemente están afectadas (punteado múltiple, onicolisis distal, signo de mancha de aceite, hiperqueratosis subungueal, onicodistrofia).

2. Forma pustular:

Las lesiones son pústulas estériles. Pueden desarrollarse a partir de una psoriasis en placas preexistente o aparecer **de novo**.

En áreas localizadas, como manos y pies, se acompañan de hiperqueratosis y fisuras y en zonas distales, como en los dedos, pueden conducir a una severa incapacidad (acrodermatitis continua de Hallopeau); otra variante es la psoriasis pustulosa palmo-plantar o bactéride pustular que, posiblemente, sea una variante aguda de la psoriasis pustular palmoplantar (PPP) crónica.

La forma pustular generalizada, o psoriasis pustuloso tipo Zumbusch, es un cuadro agudo que se acompaña de fiebre y leucocitosis y puede comprometer la vida del enfermo. Se considera asociada a exposición a fármacos y a infecciones.



3. Forma eritrodérmica:

Es la más infrecuente, se puede presentar como una eritrodermia generalizada difusa con placas no típicas o en forma de gotas.

La variante eritrodermia exfoliativa, es un cuadro agudo, que puede derivar de un empeoramiento progresivo tanto de una forma localizada aguda o crónica. La piel se vuelve roja, caliente y con descamación generalizada, igual que la forma eritrodérmica pustulosa, puede poner en peligro la vida del enfermo y también se asocia con exposición a fármacos e infecciones. Las mucosas normalmente no están afectas; en caso contrario, la mucosa del glande es la más frecuentemente afectada. La boca y la conjuntiva ocular se afectan en las formas pustulosas y de eritrodermia exfoliativa, donde puede aparecer una lengua geográfica.

4. Forma artropática:

La artritis psoriásica o artropatía psoriásica, puede asociar lesiones cutáneas y/o ungueales con afectación articular periférica, de cadera o espinal, o ser exclusivamente articular. La prevalencia de la misma se establece entre un 3 y un 5 %. Se describen varios subgrupos clínicos (36):

1. Artritis asimétrica u oligoartritis periférica (70%).
2. Artritis simétrica, semejante a la artritis reumatoide (15 %).
3. Artritis interfalángica distal o forma clásica (5%).
4. Artritis mutilante, afecta dedos de manos y pies y produce dedos "en punta de lápiz" o telescopaje (5%).
5. Artritis axial, espondilitis y/o sacroileítis con o sin artropatía periférica (5%).

La asociación con otras enfermedades es un hecho a tener en cuenta ya que pueden coexistir o alternar con la psoriasis.

Si consideramos la psoriasis como un espectro continuo, tendríamos, en un extremo, una forma clínica localizada: con lesiones en placas eritematoescamosas o bien pustulosas y, en el otro extremo, una forma generalizada: eritrodermia exfoliativa, pustular tipo Zumbusch o de tipo en gotas (pápulas eritematosas). En el centro figuraría la psoriasis de localización en cuero cabelludo, tronco, área del pañal, pliegues, genitales, uñas, mucosas, palmo-plantar y la psoriasis eczematosa.

1.3. Principales manifestaciones clínicas de la psoriasis grave.

Para una mayor comprensión, agruparemos la psoriasis en formas leve, moderada y severa o grave.

Psoriasis leve:

- . Es la psoriasis estable, que afecta a menos de un 10% de la superficie corporal.

Psoriasis moderada:

- . Afecta del 10 al 25% de la superficie corporal excepto, cara, manos, pies, genitales o pliegues. No afecta articulaciones.

Psoriasis severa o grave:

- . Afecta a más del 25% de la superficie corporal o zonas que se excluyen en la psoriasis moderada. Afecta a articulaciones.

Se dice pues, que una psoriasis es grave cuando afecta a más del 25% de la superficie corporal; aquí se incluirán las formas en placa crónica, pustulosis palmo-plantar y eritrodérmica.

La afectación de cara, manos, pies, pliegues, genitales y articulaciones se incluyen en el término "grave" por la forma en que invalidan al individuo en la vida cotidiana no sólo física sino psíquicamente. La afectación articular puede añadirse o ser por sí sola invalidante.

Otra característica de la psoriasis grave es la cronicidad de las lesiones y su resistencia a múltiples tratamientos tópicos o sistémicos.

La valoración de la severidad de la enfermedad se realiza mediante el Índice del Área y Severidad de la Psoriasis (IASP), más conocido por sus siglas en inglés PASI (Psoriasis Area and Severity Index) (37). Este índice valora el área afectada según la intensidad del Eritema (E), Infiltración (I) y Descamación (D); cada uno de estos signos se puntúa desde 0 a 4, dependiendo de si está ausente, es ligero, moderado, intenso o muy intenso respectivamente. La valoración se realiza sobre cuatro áreas corporales: cabeza, tronco, extremidades superiores y extremidades inferiores que corresponden a un 10%, 30%, 20% y 40% respectivamente. Al área de psoriasis afecta de estas cuatro áreas se les da una valoración numérica (V), desde 0 a 6, que corresponde a un rango de 0% (=0) a 90-100% (=6). Por ejemplo:

$$\text{PASI} = 0,1(\text{Ec} + \text{Ic} + \text{Dc})\text{Vc} + 0,3(\text{Et} + \text{It} + \text{Dt})\text{Vt} + 0,2(\text{Ees} + \text{Ies} + \text{Des})\text{Ves} + 0,4(\text{Eei} + \text{Iei} + \text{Dei})\text{Vei}$$

1.4. Alteraciones inmunológicas de la psoriasis grave.

Distintas líneas de investigación han tratado de aclarar cuales son los mecanismos que perpetúan continuamente las lesiones hasta cronificarlas.

A partir de los años ochenta, con la aparición de los anticuerpos monoclonales, se realizan importantes hallazgos en la piel psoriásica no tratada:

En dermis:

Los linfocitos T CD4+ (cooperadores) predominan en el infiltrado perivascular de la dermis papilar y reticular; también se aprecian, aunque en menor cantidad, células dendríticas macrofágicas (FcR/OKM1+), un número mucho menor de linfocitos T CD8+ (supresores), linfocitos T (CD3) y células dendríticas (CD1a+). Las células presentan signos evidentes de activación: fuerte reacción HLA-DR+ y, algunas de ellas, expresan el receptor para interleukina 2 (IL-2+) (38, 39).

En epidermis:

Abundantes linfocitos CD3+, sobre todo en áreas suprapapilares, e igual número de linfocitos CD8+ y células de Langerhans (CD1+DR+), con la misma tendencia a acumularse suprapapilarmente.

Se hallan también linfocitos activados CD4+, pero pocas células presentan rIL-2+. También se halla un número elevado de células no Langerhans presentadoras de antígenos (DR+CD1-), en contraste con la piel normal (26).

Baker et al (40), utilizando un modelo de psoriasis en gotas, demostraron que, en el inicio de la lesión, se produce un paso de linfocitos T CD4 y CD8 hacia la epidermis, pero sólo se activan los linfocitos CD4 en estrecho contacto con las células de Langerhans. Al resolverse la lesión ocurre el fenómeno contrario, la mayoría de los linfocitos en la epidermis son CD8 activados, también en íntimo contacto con las células de Langerhans.

En las placas psoriásicas crónicas que permanecen estáticas en tamaño durante al menos un año, el aumento del número de células dendríticas CD1-DR+ están asociadas con igual número de linfocitos T activados CD4 y CD8 en la epidermis.

Las células CD1-DR+ no se hallan en la epidermis normal ni en la piel no afecta de un psoriásico, su número parece estar relacionado con la severidad de la enfermedad clínica (38).

Para otros autores estas células inducen una potente activación alogénica de los linfocitos T y serían los responsables del aumento de la presentación antigénica que se observa en la piel (26, 41).

Para Baker et al (38) las células DR+CD1- o DR+6- no son más que células de Langerhans inmaduras que se acumulan de una forma anormal en la epidermis como parte del proceso psoriásico. Así, se propone que la psoriasis es un trastorno consistente en la proliferación anormal de queratinocitos mediada por linfocitos T activados (25), éstos han sido previamente activados de forma antígeno-dependiente por CPA o antígeno-independiente, por ejemplo moléculas de superficie UM4D4, que inducen la proliferación de células T, y receptores de adhesión celular o liberación de citocinas desde los queratinocitos activadas por esas células T UM4D4+ (26).

Las células T activadas liberan citocinas (IL-2, IL-6, IL-8, τ IFN) que pueden actuar sobre las células endoteliales y sobre los queratinocitos induciendo su proliferación. Los queratinocitos estimulados o con expresión de UM4D4 liberan IL-1, IL-6, IL-8, factor estimulante de colonias granulocito/macrófago (GM-CSF), α TGF, α TNF y factores supresores contra IL-1 y contra el β TGF (42).

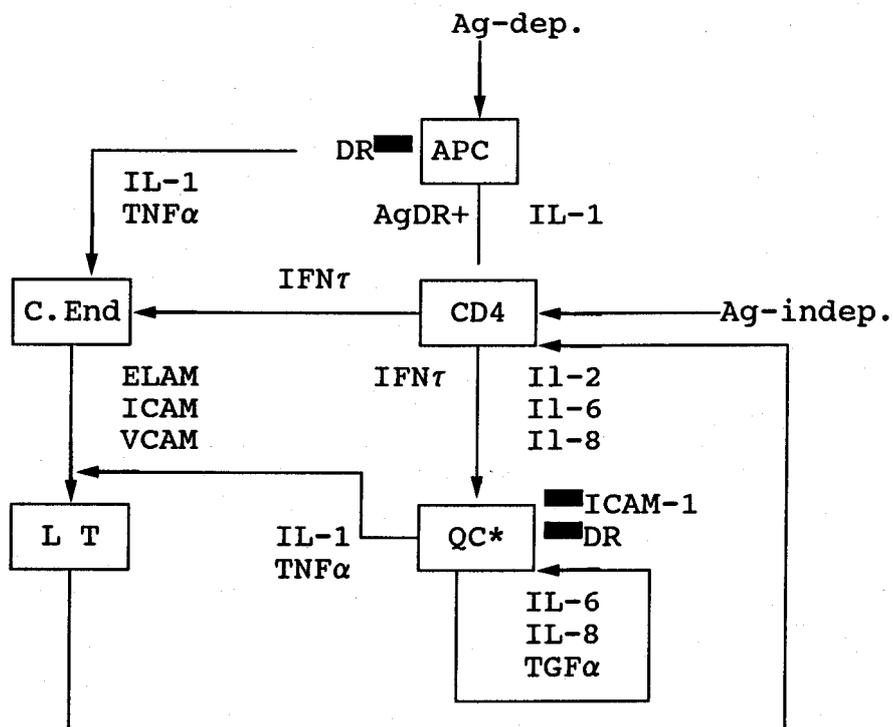
El α TNF, τ IFN y la IL-1 inducen receptores para los linfocitos T en las células endoteliales y la expresión de las moléculas de adhesión, ICAM-1, sobre los linfocitos T y sobre los queratinocitos (34,43-44).

Para Lisby et al.(44), la expresión de ICAM-1 sobre los queratinocitos psoriásicos se correlacionaría con la severidad clínica de las lesiones, así como con el tamaño del infiltrado dérmico, opinión que es compartida por Griffiths et al.(43), las citocinas IFN y TNF que expresan ICAM-1 sobre queratinocitos y células endoteliales pueden explicar el influjo de linfocitos hacia la piel.

La expresión de ICAM-1 no estaba asociado con la proliferación epidérmica en ausencia de infiltrado linfocítico, ésto sugiere que la expresión de ICAM-1 está relacionado con la infiltración de linfocitos activados en la piel, ya que el ICAM-1 no se expresa en queratinocitos de piel normal (45).

Probablemente los linfocitos CD8 activados produzcan citocinas que interrumpen el proceso de la enfermedad, pero se desconoce a que nivel se da la inhibición, aquí entraría la base genética para explicar por qué sólo algunos individuos desarrollan un brote de psoriasis guttata ante una exposición por estreptococos (46).

Resumen esquema modificado de Fry L. (46).



APC= células presentadoras de antígenos

C.End= células endoteliales

QC*= Queratinocito estimulado

ELAM= molécula de adhesión leucocítica endotelial

ICAM= molécula de adhesión intercelular

VCAM= molécula de adhesión celular vascular

DR= molécula HLA de clase II

TNFα= Factor de necrosis tumoral alfa

IFNγ= Interferón gamma

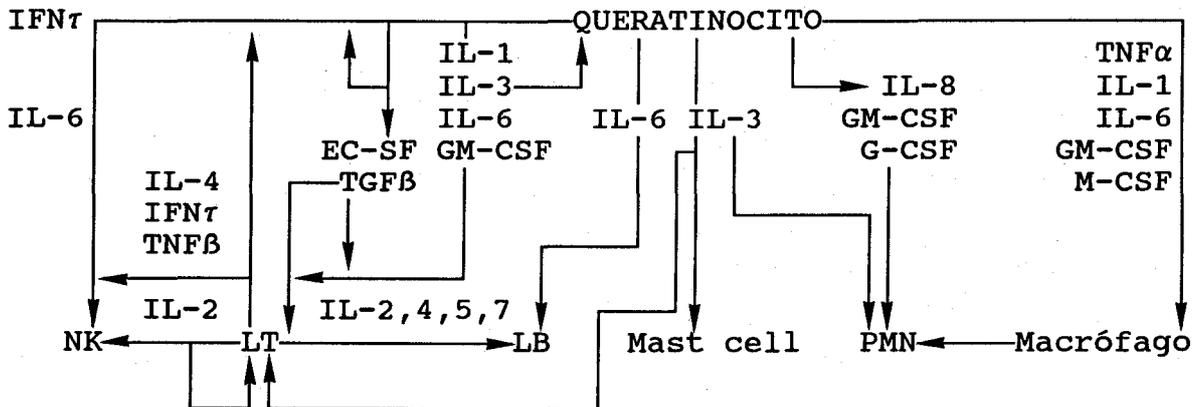
TGFα= factor de crecimiento transformante alfa

CD4= Linfocito cooperador

IL= Interleukina

L T= Linfocito T

Ampliación, liberación de citocinas por el queratinocito (42):



NK= células natural killer

LT= linfocitos T

LB= linfocitos B

Mast cell= Mastocitos

PMN= polimorfonucleares

GM-CSF= factor estimulante de colonias granulocitos/macrófagos

G-CSF= factor estimulante de colonias de granulocitos

EC-SF= factor supresor de células epidérmicas

M-CSF= factor estimulante de colonias de macrófagos

En el estudio de los linfocitos T y sus subpoblaciones en sangre periférica, varios autores (47) no encuentran alteraciones significativas de linfocitos T totales, cooperadores y supresores. Otros autores, observan una disminución de linfocitos T totales y T cooperadores, con un marcado aumento de células T cooperadoras en la piel psoriásica, que sugiere el influjo de linfocitos con actividad T cooperadores desde la sangre a los tejidos (18, 48).

También se ha observado un defecto de los linfocitos T supresores (49), que explicaría la sobreproducción de inmunoglobulinas séricas y un ligero aumento de linfocitos cooperadores (25) en la psoriasis.

Se han encontrado niveles aumentados del receptor de IL-25 (CD25), en suero de enfermedades con marcada estimulación del sistema inmune (50), pero los intentos de relacionar la enfermedad activa con la presencia en suero del rIL-2 o T supresores CD8 han fracasado (51).

La molécula de adhesión intercelular 1 o ICAM-1, descubierta recientemente, (44) por estar presente sobre los queratinocitos de la piel psoriásica, también se ha identificado sobre leucocitos, como mediadora de la adhesión de éstos al sustrato celular: endotelio y células presentadoras de antígenos. En la psoriasis activa la expresión de ICAM-1 está pronunciada y disminuye paralelamente a la mejoría clínica. Su expresión está inducida por la IL-1 y el τ IFN.

La extravasación de linfocitos desde la sangre a la piel se realiza a través de una microvascularización especializada, llamada vénulas endoteliales altas, localizada sólo a nivel de vénulas postcapilares. En la dermis, los linfocitos T cooperadores (CD4+) se unen a las vénulas postcapilares con mayor preferencia que los T supre-

sores (CD8+) y células B. Posteriormente, los linfocitos activados retornan al torrente sanguíneo a través del sistema linfático (28-30).

Las citocinas derivadas de las células epidérmicas (42) como IL-1, IL-6, IL-8, TNF, GM-CSF e IFN inducen inmunoestimulación. El EC-SF (factor supresor derivado de células epidérmicas) IL-1 contra células epidérmicas o anti IL-1 y TGF β inducen inmunosupresión.

La familia genética de la IL-1 tiene tres miembros (13-14): La α IL-1 que se une a los queratinocitos e interviene en la presentación de antígenos, la β IL-1 secretada por monocitos activados y también desde los queratinocitos a la circulación, es la responsable de los efectos sistémicos (52), y el receptor antagonista de la IL-1. La β IL-1 está aumentada en epidermis psoriásica, pero de forma inactiva.

La IL-6 realiza varias funciones, entre ellas, induce la producción de IL-2 por los mononucleares y la activación de los linfocitos T. Se la localiza en la psoriasis en todas las capas epidérmicas (14-15).

El factor de necrosis tumoral alfa o α TNF, tiene un efecto inmunoestimulador sobre linfocito T, B, NK, y aumento de expresión de complejos HLA de clase I y II sobre células endoteliales y fibroblastos. Aumenta la angiogénesis e induce la producción de IL-1, IL-6 e IL-8 (11, 42-43, 53). Se han hallado niveles elevados de α TNF en suero de pacientes psoriásicos (12).

El τ IFN activa los monocitos, linfocitos, NK, modula la generación de linfoquinas y expresión de receptores de superficie sobre células de Langerhans epidérmicas y queratinocitos. Se han hallado niveles altos en pacientes psoriásicos (12), mientras en la enfermedad estacionaria no se detectan (54).

La función supresora también puede estar mediada por linfocitos granulares grandes llamadas células Natural Killer o NK. Se han hallado valores descendidos en psoriasis activa (55). Las células NK son fenotípicamente semejantes a los linfocitos supresores, los resultados divergentes de éstos en la psoriasis, puede ser, en parte, relacionados con las variaciones de la actividad de las células NK (54).

En pacientes con psoriasis, hay un aumento de la adherencia de los polimorfonucleares (PMN) al endotelio vascular, e intervienen los mediadores de la inflamación: IL-1, α TNF, γ IFN y LT B4 (leucotrieno B4) (54).

Los datos sobre los niveles de inmunoglobulinas séricas son contradictorios, elevación de IgG, IgE e IgA (56), o normalidad (54). Las elevaciones más importantes son de la IgA en los pacientes con artritis psoriásica (54), y esto puede producir la inhibición de la quimiotaxis de los PMN (57).

Se han detectado aumentos de las fracciones del complemento, C3a, C4a (56, 58-59) por diferentes técnicas.

Se han encontrado también complejos inmunes circulantes elevados, pero no hay relación entre éstos y la activación, duración y extensión de la enfermedad (54).

1.5. Principales tratamientos sistémicos empleados en la psoriasis grave.

Los corticoides sistémicos se introdujeron en el tratamiento de la psoriasis, a partir de 1950, como ACTH y cortisona, para brotes de psoriasis generalizada exfoliativa.

A pesar de ser un arma de doble filo por su efecto "rebote", tienen su papel terapéutico, en las eritrodermias exfoliativas y pustulares. También para controlar un brote agudo de poliartritis con daño articular importante (2, 60, 61).

La aminopterina, un antagonista del ácido fólico, se observó que era beneficioso para la psoriasis en 1951 (2). En 1958, un derivado de aquella, la ametopteri-na (metotrexato), mostraba aclaramiento de la psoriasis con menos efectos hepatotóxicos. Se utilizan dosis semanales totales entre 5-25 mg, en una dosis única o dividida cada 8 horas durante 24 horas, una vez a la semana.

Otras drogas citostáticas raramente utilizadas en la psoriasis, son la hidroxiurea, el razoxane, y la tioguanina. La primera, no es más efectiva que el metotrexato y presenta más efectos tóxicos y las dos últimas, por poseer riesgo de toxicidad medular.

La fotoquimioterapia con psoralen oral o PUVA, se introdujo en 1974 en el mundo occidental, ya que se conocía desde antiguo en Egipto e India, para el tratamiento del vitíligo. Se utiliza derivados de plantas llamados psoralenes, por ej. el 8-metoxipsoralen u 8-MOP y el 5-MOP, usando una dosis estándar oral de 0.6 mg/kg, dos horas antes de exponerse a irradiación por rayos ultravioleta con ondas de 320-400 nm. Las dosis de UVA se expresan en J/cm² sobre los diferentes tipos de piel.

Los riesgos potenciales incluyen (62), carcinoma cutáneo, melanoma, lentiginosis, alteraciones inmunológicas (disminución de linfocitos circulantes), daño ocular, y envejecimiento cutáneo acelerado. Puede aparecer a largo plazo cambios enzimáticos hepáticos.

La vitamina A, posee efectos sobre la diferenciación epitelial, conocida desde principios de siglo, pero las dosis terapéuticas se veían limitadas por sus efectos secundarios. A sus derivados sintéticos, se les conoce como retinoides desde 1975. La segunda generación de retinoides o retinoides aromáticos, acitretin, etretin y sobre todo el etretinato, se utiliza como antipsoriásico, a dosis entre 0.75-1 mg/K-g/d. Presentan teratogenicidad, aumento de lípidos sanguíneos, mayor riesgo hepatotóxico y sequedad mucocutánea como principales efectos secundarios (2, 63-64).

La ciclosporina A (Cs A), fármaco inmunosupresor, utilizado en pacientes con artropatía psoriásica en 1979 (65), blanqueó las lesiones de los cuatro pacientes; éste efecto clínico fue comunicado por los autores, pero estas observaciones no se retomaron hasta mediado de los años 80, donde varios autores comunicaron su eficacia en la psoriasis (66-76).

Se han realizado tratamientos combinados, para aumentar la eficacia terapéutica, por ejemplo retinoides más PUVA o Re-PUVA, PUVA más metotrexato, PUVA y Cs A, Retinoides y metotrexato, Cs A y retinoides, Cs A y metotrexato. Estas combinaciones, sin embargo, son difíciles de manejar clínicamente, ya que aumentan los efectos secundarios (77).

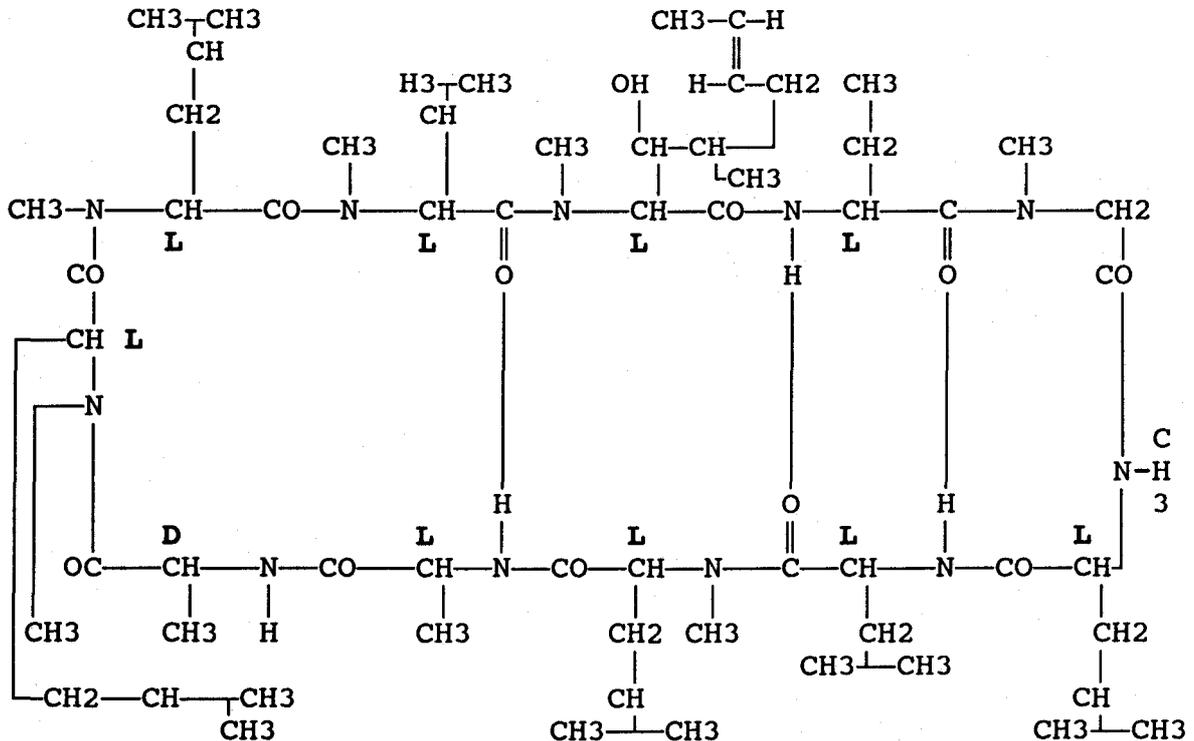
2. CICLOSPORINA A.

2.1. Composición y estructura.

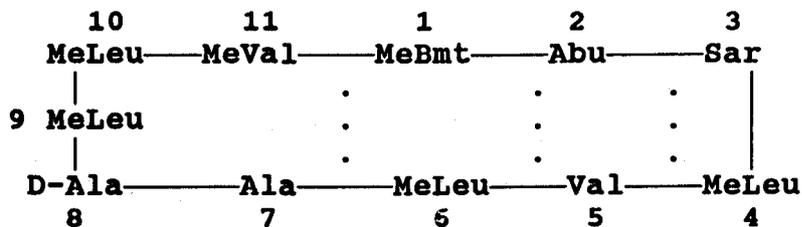
La Ciclosporina A (Cs A), fue descubierta en 1972 por Borel (78), del hongo del suelo Tolyposcladium inflatum Gams. aislado de una muestra de tierra, del Hardanger Vidda, en Noruega (79), en 1969.

La Cs A es un undecapéptido cíclico, neutro e hidrofóbico (fórmula molecular C₆₂ H₁₁₁ N₁₁ O₁₂), con un peso molecular de 1203. Compuesto de varios aminoácidos N-metilados y un aminoácido C₉ (con nueve átomos de carbono, en posición 1), que nunca había sido aislado previamente. Todos los aminoácidos poseen la forma Levo, que se halla en la mayoría de los seres vivos, excepto la D-alanina, que está en posición 8.

La Cs A es insoluble en agua, pero soluble en lípidos y otros solventes orgánicos (80). Los aminoácidos en posición 11, 1, 2 y 3 le dan las características inmunosupresoras al fármaco (81, 82).



Estructura química de la Ciclosporina A (82).



Alineación de los aminoácidos de la Ciclosporina A.
 MeBmt, nuevo aminoácido insaturado ((4R)-4-[(E)-2-butinil]-4,N-dimetil-L-treonina).
 Abu=Ac.aminobutírico. Sar=Sarcosina. MeLeu=N-metil-L-Leucina. Val=Valina. Ala=L-Alanina. D-Ala=Alanina
 MeVal=N-metil-L-valina

2.2. Farmacocinética.

Para uso clínico, la Cs A se estabiliza con aceite de castor, para la administración intravenosa y con aceite de oliva y gelatina líquida, para las presentaciones orales. No se utiliza actualmente la vía subcutánea, intramuscular o tópica por su absorción inconstante, lenta y variable, excepto la aplicación oftalmológica. La preparación oral, en solución, se administra en dosis única o dos veces al día.

Tras la administración oral, su absorción se estima entre un 20-50%, con una concentración máxima plasmática que oscila entre 2 a 4 horas (83), y una vida media de unas 19 horas.

Debido a su naturaleza lipofílica, la Cs A se distribuye ampliamente por todo el cuerpo y se acumula intracelularmente; a nivel sanguíneo, depende de la temperatura, hematocrito, de la concentración del fármaco y de su unión a las lipoproteínas de alta (HDL), baja (LDL) o muy baja densidad (VLDL), con una unión de un 57%, 25% y 2% respectivamente (79). Con una temperatura de 37°C hasta 21°C la Cs A difunde hacia los eritrocitos y a mayor aumento del hematocrito menor distribución del fármaco en el plasma.

El hígado es el mayor depósito del fármaco, seguido del páncreas, grasa, sangre, corazón, pulmón, riñón, tejido nervioso y muscular (70), ganglios linfáticos y piel.

La Cs A se metaboliza principalmente en el hígado, a través del sistema enzimático del citocromo P-450IIIa (84). La biodegradación afecta en primer lugar a la hidroxilación y luego a la N-desmetilación y a la ciclación. Los metabolitos resultantes conservan la estructura cíclica de la Cs A y son lipofílicos, pero suficientemente solubles en agua como para poder excretarse por la bilis o la orina.

El metabolismo de la CsA puede afectarse por hepatopatías o la coadministración de fármacos que interactúen con el citocromo P-450.

La vida media de eliminación depende de la fracción libre en la sangre de la Cs A, y varía de 8 a 15 horas, según dosis oral (350 a 1400 mg). El aclaramiento del fármaco depende de la edad del paciente, los niños parece que lo eliminan más rápidamente que los adultos, en relación a su peso corporal.

La excreción es principalmente por vía biliar hacia las heces y circulación enterohepática; sólo el 6% de la dosis oral de Cs A es excretada por la orina.

La insuficiencia renal no altera la eliminación de Cs A.

Los niveles sanguíneos de Cs A se pueden determinar mediante técnicas analíticas como: la cromatografía líquida, el radioinmunoensayo (RIA) (85) o el inmunoensayo con fluorescencia polarizada (86).

El RIA con anticuerpos monoclonales es una técnica más rápida y específica para determinar las concentraciones séricas de la Cs A, detecta límites inferiores de aproximadamente 20 ng/ml en sangre o plasma.

El objetivo de monitorizar los niveles sanguíneos de Cs A en el tratamiento de la psoriasis, es evitar la toxicidad del fármaco, ya que no se han establecido los niveles mínimos de eficacia (87).

2.3. Mecanismos de acción.

2.3.1. Mecanismos de acción sobre el sistema inmune.

La Ciclosporina A (Cs A) posee numerosas actividades biológicas, que incluyen efectos fungicidas, antiparasitarios y antiinflamatorios (88), pero se conoce y emplea principalmente por sus propiedades inmunosupresoras, a nivel celular y humoral.

Las características inmunosupresoras de la Cs A las describió Borel et al en 1976 (81, 89), y se utiliza como tratamiento profiláctico del rechazo en el transplante de órganos y médula ósea (90, 91).

Aunque el mecanismo de acción de la Cs A no está totalmente definido, el efecto inmunosupresor más importante, se ejerce inhibiendo la producción de interleuquina 2 (IL-2) y otras citocinas, secretadas por los Linfocitos T activados o cooperadores, esto suprime la expansión de su actividad y de las células precursoras citotóxicas (92-94), sin suprimir la médula ósea.

Borel piensa que la interferencia en la síntesis de estos mediadores se realiza durante la activación de las células T por un antígeno (80). La Cs A no inhibe el reconocimiento del antígeno por el receptor de la célula T. Para que las células T cooperadoras se activen requieren dos estímulos:

a) A través de un antígeno específico, sobre la superficie de una célula presentadora de antígeno (CPA) que es un macrófago o célula dendrítica, en asociación con los antígenos de histocompatibilidad de clase II (HLA-DR) y,

b) A través de un estímulo no específico, Interleuquina 1 (IL-1), liberada por las CPA cuando reconocen un antígeno, actúan así concomitantemente ambos estímulos.

Pero la activación no específica se puede realizar también a través de moléculas de superficie como CD2, CD28 y la UM4D4 (CDw60)(35).

Tras el primer estímulo, las células expresan, entre 6 y 12 horas, receptores para la IL-2 (o factor de crecimiento celular) (95). Las células T cooperadoras (T CD4+) pueden actuar como células colaboradoras, de memoria, (CDw29+), o como células citotóxicas (CD45RA+). Las células T CD8+ pueden actuar como células T supresoras o citotóxicas.

No hay, todavía, respuestas claras sobre como inhibe la Cs A a las células T sensibilizadas, si es por acción directa sobre los receptores de IL-2 o si la supresión de los receptores es un fenómeno secundario. A nivel molecular, el mecanismo hipotético de acción de la Cs A sobre la célula T activada sería el siguiente (88):

a) En la membrana linfocítica.

La Cs A se uniría a una proteína receptora específica, no demostrada, e inhibiría la transducción de la señal de activación celular del linfocito, sería una unión saturable y reversible. Una unión similar se observa para macrófagos, granulocitos, eritrocitos, hepatocitos y otras células (96, 97).

Se ha observado que la prolactina desplaza a la Cs A y viceversa (98), comportándose como una citocina (99).

La expresión del receptor de IL-2 (rIL-2) no parece afectarse, ya que la IL-2 exógena revierte la inhibición de la actividad de la Cs A (100).

Se ha sugerido también que la inhibición de las células T por la Cs A tendría lugar por interferencia con la activación inicial del metabolismo fosfolipídico de la membrana plasmática (101).

Antes que la Cs A se una a su receptor citosólico, el calcio intracelular aumenta previamente.

Actualmente, Borel propone que la Cs A no afecta la señal de membrana y tampoco inhibe el intercambio de proteínquinasa y fosfoinositol inducido por mitógenos o antígenos, con el consecuente aumento de los niveles de Ca^{++} intracelular.

Lo más probable es que la Cs A difunda pasivamente a través de la membrana celular (80).

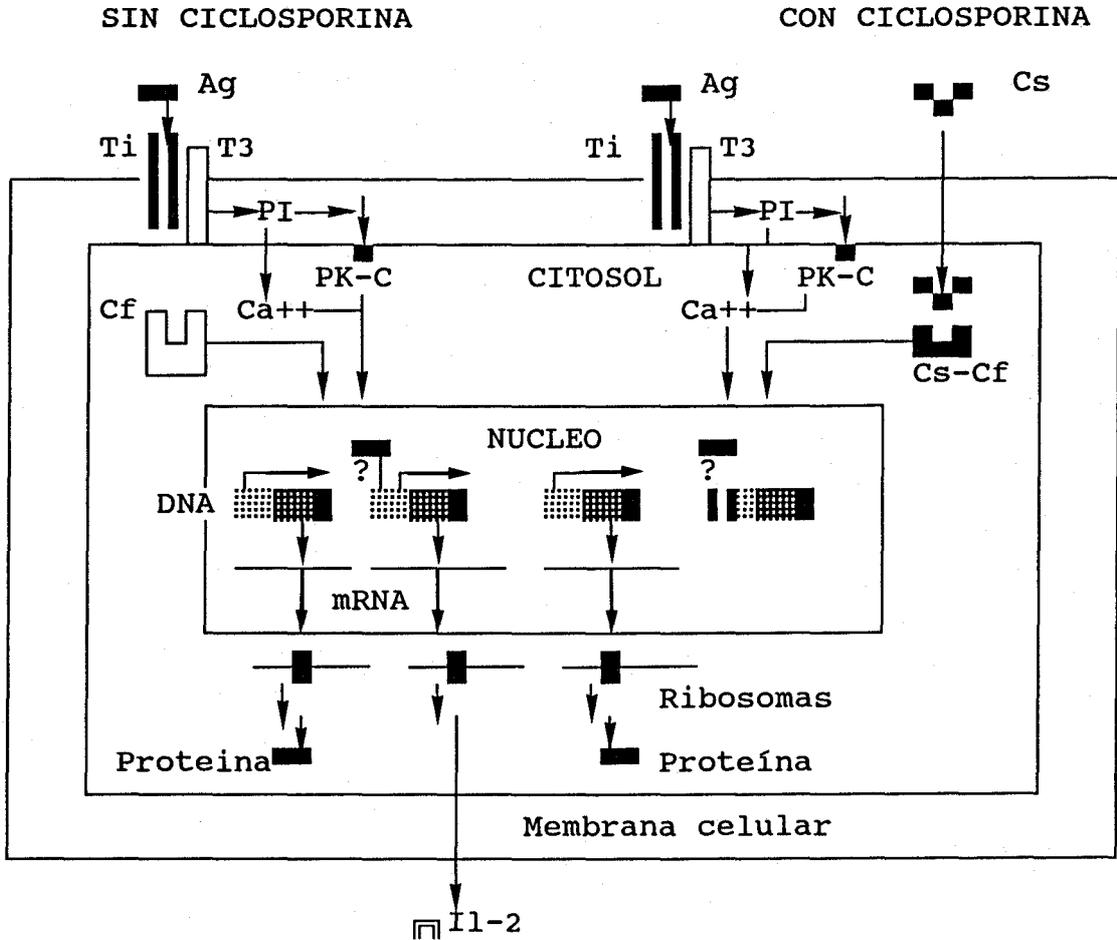
b) En el citoplasma.

Una vez penetra la Cs A en el citoplasma se une a dos proteínas: la calmodulina (102) (que se une al ión calcio y participa en la proliferación celular), con escasa afinidad y a la ciclofilina con gran afinidad (103). Este proceso es similar al de las hormonas esteroideas, ambos compuestos tienen receptores en el citosol que les permiten penetrar en el núcleo.

c) En el núcleo.

La Cs A unida a la ciclofilina u otras proteínas de la misma familia genética, penetran en el núcleo donde inhibe la transcripción del mRNA que codifica la secuencia de las linfoquinas (104, 105), en especial la IL-2, la IL-4, el interferon gamma, el α TNF y al factor estimulador de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF) (106).

Mecanismo hipotético de la Cs A y sus efectos sobre las células T activadas. Esquema gráfico de Borel (80).



■ Ag= Antígenos

■ = Ciclosporina

Ti y T3= molécula que interacciona con célula presentadora de antígenos

PI= Fosfoinositol

Ca⁺⁺ = ión calcio

■ PK-C= Proteín-quinasa C

U = Ciclofilina

■ = Ciclosporina+ ciclofilina

■ = cadenas de DNA

□ = Interleukina 2

La Cs A probablemente por mecanismo pasivo difunde a través de la membrana plasmática, en el citoplasma, se une con la enzima ciclofilina (Cf), que se conoce ahora que es idéntica al peptidil-prolil cis-transisomerasa, una enzima que cataliza el plegamiento ("folding") de las proteínas, (108) y pasa al núcleo (el sustrato para esta enzima se desconoce), aquí se cree que la Cs se une en lugares específicos del cromosoma, lo que interfiere con la transcripción del ácido ribonucleico mensajero (mRNA) para una variedad de linfoquinas, por ejemplo inhibe la síntesis de IL-2. Sin embargo, no inhibe la mayoría de la síntesis de proteínas inducidas mitogénicamente.

La Cs A afecta a las células B directa o indirectamente, a través de la supresión de las células T activadas. La Cs A suprime la producción primaria de anticuerpos, tanto IgM como IgG, aunque se requiere el doble de dosis que se precisa para inhibir la inmunidad celular (80).

Varios estudios han demostrado efectos directos sobre la activación de las células B por ciertos estímulos, como lipopolisacáridos (LPS) o virus de Epstein Barr (VEB) (93, 109).

En resumen, los linfocitos B timo-dependientes (TD), los anti-antígenos timo-independientes 1 (TI-1) primarios y los linfocitos T cooperadores (Tc) activados son resistentes a la Cs A, mientras que los linfocitos B timo-independientes (TI-2) y los linfocitos Tc no activados son sensibles a la Cs A (107).

Otros efectos más modestos sobre el sistema inmune de la Cs A se realiza sobre los granulocitos, monocitos/macrófagos y células natural killer, alterando su

inmunomodulación sin afectar su función fagocítica (82, 94). Otros autores observan que la Cs A inhibe la síntesis de prostaglandinas inducida por los macrófagos (110).

Sobre las células de Langerhans (HLA-DR+), no está claro si disminuye tanto la expresión de los antígenos de clase II como la actividad de la presentación de antígeno o inhibe la producción de IL-1 (111). Los últimos estudios parece que refuerzan la idea de la disminución de la actividad presentadora de antígeno de las células de Langerhans, tanto *in vitro* como *in vivo* (112).

La ciclosporina A inhibe la inducción y las fases efectoras de la respuesta de la hipersensibilidad retardada y es independiente del tipo de antígeno usado (moléculas químicas, proteínas, virus o células esplénicas), la inhibición quizá se deba a la supresión de la liberación de linfoquinas y otros mediadores de la inflamación (80).

La interferencia de la respuesta inmune por la Cs A, se realiza de una forma selectiva pero reversible, a través de un único o múltiples lugares de acción sobre las células inmunes.

2.3.2. Mecanismos de acción sobre otras células.

La Cs A afecta a otras células que no son del sistema inmune y en las que no ejerce su acción inmunosupresora, pero sí son importantes en términos de efectos terapéuticos y efectos secundarios.

La Cs A ejerce un efecto citotóxico sobre el epitelio renal (82) y células endoteliales (82, 113), implicándose diferentes mecanismos para ello.

También inhibe el crecimiento de queratinocitos, células endoteliales y fibroblastos. El efecto directo de la Cs A sobre los queratinocitos humanos transformados (114), es la inhibición de su crecimiento observado en los queratinocitos epidérmicos humanos *in vitro* (115), e incluso se observa que la Cs A los inhibe a niveles terapéuticos sanguíneos (116), mientras que la inhibición de los fibroblastos necesita más concentración y tiempo(117).

La Cs A puede suprimir la proliferación de queratinocitos y células endoteliales humanas inhibiendo el Factor de Crecimiento Fibroblástico Básico (b-FGF) (118), éste actúa a través de un receptor diferente al del Factor de Crecimiento Epidérmico, pero ambas citocinas son mitogénicas para ambas células.

Así, algunos de los efectos de la Cs A pueden estar mediados secundariamente por varias citocinas, o actuar sinérgicamente con ellas, por ejemplo con el gamma IFN para producir efecto citotóxico sobre los queratinocitos (118).

Paradójicamente produce un efecto proliferativo sobre los queratinocitos del folículo piloso. Induce el paso de la fase catagen a anagen, lo que da lugar a la aparición de folículos pilosos grandes que producen tallos pilosos gruesos (119). Esta hipertriosis como efecto secundario no se debe a la inducción de aumento de andrógenos, ya que en el sexo femenino no se acompaña de virilización, y además la hipertriosis afecta a zonas cutáneas sin receptores androgénicos, como el lóbulo de la oreja y la nariz (119).

El mecanismo de acción citostático de la Cs A no se conoce con seguridad, se ha propuesto que la ciclosporina al unirse a la calmodulina, inhibiría su acción (102), pero Kahan (82) lo pone en duda, implicando la alteración del metabolismo

del ácido araquidónico el que causaría en parte los efectos inmunosupresores y nefrotóxicos del fármaco.

Estudios recientes demuestran que el efecto antiproliferativo **in vitro** de la ciclosporina sobre los queratinocitos humanos se debe a un retraso de la progresión del ciclo celular en fase G1, sin afectarse el ARNm para la expresión de TGF α o de receptores para EGF (factor de crecimiento epidérmico) (120).

2.4. Efectos indeseables e interacciones de la ciclosporina A.

Los efectos indeseables que se conocen actualmente son:

a) Nefrotoxicidad:

La Cs A puede causar cambios tubulares y vasculares. Los cambios tubulares, son funcionales, frecuentes, pero reversibles. Los cambios vasculares (vasculopatía), son estructurales, irreversibles, pero infrecuentes y su valoración inicial es el aumento de creatinina y urea sérica, como detección de la reducción del filtrado glomerular (121-126).

b) Hipertensión:

Por lo general es leve y reversible con tratamiento, y es dosis dependiente (86, 121-127).

c) Efectos gastrointestinales:

Los más frecuentes, anorexia, náuseas, sensación de plenitud, vómitos, dolor epigástrico, diarrea.



d) Efectos neurológicos y dérmicos:

En un estudio con 631 pacientes, tratados con una dosis inicial diaria entre 1.25-5mg/kg/d de Cs A, los efectos adversos más frecuentes fueron parestesias, hipertricosis, cefalea e hiperplasia gingival (121). Menos frecuente, y dependiendo de la dosis, se observa, temblor leve, enrojecimiento facial o "flushing". Convulsiones, confusión y coma se ha descrito en transplantados renales (82).

e) Hepatotoxicidad:

Es infrecuente, con poca relevancia en clínica, puede observarse una ligera colostasis, que se traduce por leve aumento de bilirrubina, fosfatasa alcalina, gamma GT y transaminasas (82, 121).

f) Infecciones:

Hay una reducida incidencia de infecciones bacterianas, víricas o micóticas (82,121), que no crean problema clínico.

g) Inducción de tumores:

Se ha comunicado aumento de linfomas, sarcoma de Kaposi, melanomas, tumores epiteliales cutáneos y pseudolinfomas (82, 86, 127-130), pero no parece ser mayor que con otro inmunosupresor convencional como la azatioprina. En 842 pacientes con psoriasis tratados con Cs A (121), la incidencia de tumores cutáneos y sólidos fue de 0.7% y 0.2% para los linfomas. Todos los pacientes que desarrollaron cáncer cutáneo, habían recibido previamente tratamiento con riesgo carcinogénico, como PUVA, UVB, o metotrexato.

h) Otros efectos:

Se ha descrito, aumento sérico de K, Mg, Ac. úrico, colesterol y triglicéridos (86, 121).

La incidencia de efectos secundarios es menor en pacientes que no han sufrido transplante (131).

La Cs A interactúa con varios fármacos, que son metabolizados en el hígado, por competición con el citocromo P-450. Así, aumentan los niveles séricos de Cs A: el ketoconazol, la eritromicina, los corticoides, las hormonas sexuales (metiltestosterona, danazol, anticonceptivos orales), los bloqueadores de los canales del Ca^{++} (diltiazem, nicardipina, verapamil), la doxiciclina, la furosemida, los diuréticos tiazídicos, las cefalosporinas, el aciclovir, la warfarina, los antagonistas de los receptores de H₂ (86) y la lovastatina.

Otros fármacos, disminuyen los niveles séricos de Cs A al inducir el citocromo P-450 hepático: los anticonvulsivantes (fenitoína, fenobarbital, carbamacepina), los antituberculostáticos (rifampicina, isoniacida).

Las sulfamidas (sulfametazina), reducen los niveles de Cs A, por mecanismos desconocidos (86).

Los fármacos que causan nefrotoxicidad añadida, son: trimetoprim-sulfametoxazol, anfotericina B, aminoglucósidos, drogas antiinflamatorias (86). Otros fármacos, son el melfalán, furosemida, enalapril, prazosín, foscarinet, manitol, espironolactona, colchicina y ciprofloxacino.

La Cs A aumenta los niveles hemáticos de la digoxina.

2.5. Ciclosporina A y psoriasis.

La Cs A reduce las lesiones clínicas psoriásicas en más de un 80%, definido por el PASI.

La Cs A no es mielotóxica, a pesar de que influye sobre la inmunidad humoral y celular. Su mayor efecto se ejerce sobre la fase inicial de activación de las células T.

La Cs A disminuye la interacción entre un cuerpo extraño, la célula presentadora de antígenos (CPA) y el linfocito T, con disminución de la expresión de antígenos de clase II. No está claro si inhibe la producción de IL-1.

El efecto principal de la Cs A es la supresión de la respuesta mediada por células T, con predilección por la subpoblación de células T CD4+, e inhibe la liberación de varias citocinas al interferir su propia transcripción del mRNA en el núcleo de las células T, tales como gamma IFN, factor quimiotáctico de macrófagos, factor inhibidor de macrófagos, e IL-2, ésta impide la expresión de receptores de la interleukina 2 (rIL-2) que produce la expansión de las células T cooperadoras y células T citotóxicas (93); es decir inhibe el acúmulo y activación de las células T (18).

La actividad de los linfocitos T citotóxicas no se afecta una vez que se ha producido, aunque la Cs parece inhibir las células natural killer *in vitro*.

La expansión de las células B se suprime a través de los efectos de la Cs A sobre los células T cooperadoras y también por acción directa de la Cs A (132).

La Cs A también altera el papel inmunomodulador de los monocitos, pero no interfiere con su función fagocítica (133).

Antes de la mejoría clínica, la Cs A produce una pérdida de moléculas de superficie inducidas por el interferón gamma, sobre el queratinocito, como HLA-DR y la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1)(134-135). Esto se interpreta como una inhibición de la producción de citocinas del linfocito T, ya que el IFN gamma derivado de éste es necesario para la expresión de ICAM-1 sobre el queratinocito y esta molécula de adhesión facilita que el linfocito se una al queratinocito a través de la interacción LFA-1/ICAM-1 y esto es una participación importante para el flujo de linfocitos intraepidérmicos, como aparece en la patogénesis de las dermatosis inflamatorias entre ellas la psoriasis.

También inhibe parcialmente la fosfolipasa A2 y secundariamente el ácido araquidónico sobre la membrana plasmática de los linfocitos y neutrófilos (136).

Por el momento no hay experimentos animales que reproduzcan la psoriasis. Un modelo imperfecto que se usa para reproducirla es la irritación sobre la piel del ratón "desnudo" con ester de forbol (80), entonces se observa a nivel histológico: hiperplasia epidérmica, alteraciones vasculares y acúmulo de neutrófilos, y a nivel molecular activación de la proteína-quinasa C lo mismo que ocurre en la psoriasis humana.

Sin embargo, el modelo reproduce una reacción inflamatoria aguda que no afecta al sistema inmune. La aplicación de Cs A tópica (5 horas tras el ester de forbol) revelaba que el fármaco prevenía la infiltración epidérmica de neutrófilos, esto sugería que un estímulo no potente quimiotáctico ocurría en la epidermis. También

inhibía la estimulación de aproximadamente un 50% de mRNA de IL-1 α acumulado por el forbol (80).

Con los anticuerpos monoclonales, se valora que ocurre en la piel tras el tratamiento con Cs A (32, 37-38, 137-140).

a) En dermis:

Durante el tratamiento con Cs A, el acúmulo dérmico de linfocitos T (CD3+, CD4+, CD8+ y rIL-2+), macrófagos (DR+/OKM1+) y células dendríticas (DR+/CD1+) disminuyeron paralelamente a la mejoría clínica. Las células con rIL-2+ desaparecían mucho más tarde en las lesiones blanqueadas. En la piel normal clínicamente todavía se ven acúmulos parcheados de células mononucleares en papilas dérmicas, cerca de la unión dermo-epidérmica.

b) En epidermis:

Durante el tratamiento el número de linfocitos T epidérmicos, células OKM1+ y DR+CD1-, disminuyeron tras la mejoría clínica. Las células CD8+ y rIL-2+ desaparecían más tarde. Había una gradual normalización del patrón de distribución celular como en la piel normal y aumentaba el número de células CD1+. También las células DR+ se distribuían más regularmente cuando las lesiones aclaraban.

III. OBJETIVOS

1º. Estudiar las alteraciones del sistema inmunológico, y el origen de las mismas, en los pacientes psoriásicos graves antes y después del tratamiento con Ciclosporina A.

2º. Comprobar si existe relación entre las alteraciones del sistema inmunológico, si las hay, y la gravedad de los pacientes.

3º. Comparar los efectos inmunosupresores de la ciclosporina A con la mejora o no de las manifestaciones clínicas.

4º. Valorar si la Ciclosporina A puede ser utilizada de modo estandarizado en todos los pacientes psoriásicos graves.

III. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para llevar a cabo los objetivos propuestos en el presente trabajo, realizamos el siguiente diseño experimental, con la coordinación y colaboración de las siguientes Unidades del Hospital Universitario "Virgen del Rocío" de Sevilla, implicados en ello:

- * Sección de Dermatología.
- * Unidad de Colagenosis.
- * Servicio de Inmunología.

1) Selección de pacientes:

La Sección de Dermatología establecía los criterios de selección de los pacientes, en un segundo paso la Unidad de Colagenosis determinaba, la ausencia de criterios de exclusión en cuyo caso el paciente ingresaba inmediatamente en protocolo de tratamiento.

2) Estudios clínicos:

* En todos los pacientes se realizaba un estudio basal que comprendía:

a) Valoración dermatológica:

- Modalidad y extensión (PASI) del proceso.

b) Valoración general:

- Historia clínica y exploración rutinaria con atención especial a la presencia de enfermedades infecciosas o neoplásicas concomitantes, disfunción hepatorrenal y patología sistémica asociada a psoriasis.

c) Valoración analítica: hemograma, recuento y fórmula, VSG, bioquímica hepática, parámetros habituales de función renal (urea, creatinemia, sedimento urinario), iones, colesterol y triglicéridos.

* En valoraciones sucesivas se controlaba:

- a) Evolución de la sintomatología cutánea.
- b) Repercusión general y posibles efectos secundarios del tratamiento.
- c) Determinación de ciclosporinemia.

3) Estudios inmunológicos:

Se realizaron tres valoraciones:

- 1.- Basal (previo al tratamiento).
- 2.- En fase terapéutica precoz (tras 3 semanas de tratamiento).
- 3.- En fase terapéutica tardía (más de dos meses después de su inicio).

En cada una de ellas, los pacientes se sometían a extracción de sangre venosa periférica para procesarla en el Servicio de Inmunología del mismo Hospital. Los estudios consistieron en:

- a) Determinación de subpoblaciones celulares linfocitarias mediante el empleo de anticuerpos monoclonales: CD3, CD19, CD4, CD8, DR clase II y CD16 que reconocen las diferentes células linfocitarias, monocitarias y las células natural killer.

b) Cuantificación de la expresión, en las membranas celulares, de marcadores de adhesión y activación: CD11b, CD54, CD69, CD71 y CD25.

c) Cuantificación de reactantes de fase aguda: inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM), fracciones del complemento sérico (C3, C4), ceruloplasmina, α -1 antitripsina, α -1 glicoproteína y α -2 macroglobulina.

d) Cuantificación de citocinas: interleukina-1 beta y factor de necrosis tumoral alfa (IL-1 β y TNF α).

IV. MATERIAL Y METODOS.

4.1. PACIENTES.

4.1.1. Pacientes psoriásicos graves.

Se estudiaron 19 pacientes con psoriasis grave (12 varones y 7 mujeres) con una edad media de 46 años (límites 11-78 años). El tiempo medio de evolución de la enfermedad, previo al protocolo, era de 13 años (límites 2-31 años).

La modalidad de psoriasis en los pacientes fue:

- * Placas severas crónicas, en 12 pacientes, 6 de ellos con afectación articular.
- * Eritrodérmica, en 3 pacientes.
- * Pustulosa, en 3 pacientes.
- * Pustulosis palmo-plantar, en 1 paciente, con afección articular.

Siete de los pacientes presentaban distintas modalidades de artropatía psoriásica:

- * Oligoarticular en 3 casos.
- * Artritis reumatoide en 2.
- * Espondilitis anquilosante en 1.
- * Afectación interfalángica distal en 1.

4.2. METODOS.

4.2.1. Selección clínica de pacientes psoriásicos graves.

Se requirieron como criterios de inclusión:

- * Una afección cutánea extensa, valorada con el PASI.
- * Nula respuesta a tratamientos convencionales previos (corticoides, breas u otros productos tópicos, metotrexato UVA, PUVA, retinoides o calaguala) o contraindicación para su empleo.

Se excluyeron pacientes que presentaban hipertensión que no pudiera ser controlada farmacológicamente o que sufrieran infección, nefropatía o hepatopatía.

La valoración inicial media del PASI, en los enfermos fue del 54% (límites 20-90) y la efectuó siempre la misma persona de acuerdo con el formulario-protocolo expuesto como Tabla I.

		Centro	Examen	Paciente nº _____			
			Semana 0	Iniciales	_____		
				Fecha de Examen	_____		
INDICE DE SEVERIDAD DEL AREA PSORIASICA (PASI)							
<u>Sistema de Evaluación o puntuación</u>							
Puntuación	0	1	2	3	4	5	6
Eritema Infiltrac. Descamaci.	No	Leve	Moderada	Severa	Muy Severa	----	----
Area %	0	<10	10<30	30<50	50<70	70<90	90<100
<u>CABEZA (C) Puntuación</u>				<u>TRONCO (T) Puntuación</u>			
ERITEMA	_____			ERITEMA	_____		
INFILTRACION	_____			INFILTRACION	_____		
DESCAMACION	_____			DESCAMACION	_____		
Suma	=====			Suma	=====		
xArea	_____			xArea	_____		
=	=====			=	=====		
x0,1 =	_____			x0,3 =	_____		
<u>MIEMBROS SUPERIORES (MS) Puntuación</u>				<u>MIEMBROS INFERIORES (MI) Puntuación</u>			
ERITEMA	_____			ERITEMA	_____		
INFILTRACION	_____			INFILTRACION	_____		
DESCAMACION	_____			DESCAMACION	_____		
Suma	=====			Suma	=====		
xArea	_____			xArea	_____		
=	=====			=	=====		
x0,2 =	_____			x0,4 =	_____		
PASI= (C) _____ + (T) _____ + (MS) _____ + (MI) _____ = _____							

TABLA I.

4.2.2. Protocolo de tratamiento.

Se utilizó solución de CsA (1cc=100 mg), disuelta en leche con cacao, administrada por vía oral y en una sola toma diaria (excepto en casos de intolerancia digestiva, en los que se fraccionó la dosis en dos tomas). La dosis inicial se estableció en 2,5 mg/Kg/d en los primeros pacientes. Más tarde, la valoración dosis/respuesta, nos hizo adoptar una dosis inicial de 5 mg/Kg/d.

Se realizaron controles, inicialmente semanales y, con posterioridad, a intervalos de 3-4 semanas, en los que se registraba la respuesta clínica, aparición o no de efectos secundarios y los datos analíticos (Tabla II).

Psoriasis. TRATAMIENTO CON CsA. (PROTOCOLO DE SEGUIMIENTO).

Paciente:

1. CLIN. GENERAL.

Peso						
Pres. arterial						
PASI						
Hipertr. gingi.						
Hipertricosis						
Infección						
Intol. gástrica						
Artromialgias						
Otras						

2. ANALITICA

Hemoglob. g/dl						
Hematíes						
Leucocitos						
Neutr. %						
Eosin. %						
Basóf. %						
Linfo. %						
Monoc. %						
Plaquetas						
VSG						
K sérico						
Urea/Cr sér.						
Bilirrubina						
F. Alcalina						
GOT/GPT						
Ac. Urico						
Proteinuria						
Colesterol						
Triglicéridos						
Cs A (Dosis)						
Cs A (Nivel)						

TABLA II.

Los niveles de Cs A se determinaron en sangre total mediante el método de RIA utilizando anticuerpos monoclonales. La dosis se ajustó según respuesta clínica, la presencia de efectos adversos y los niveles de ciclosporinemia. Las reducciones de la misma se realizaron, por lo general, tras 4-6 semanas de la persistencia de mejoría y correspondían a 0,5 mg/kg/d.

4.2.3. Técnica para el estudio del sistema inmune inespecífico: Determinación en suero de proteínas de fase aguda, mediante técnicas de nefelometría.

Realizada por el laboratorio de Análisis Clínicos del mismo hospital.

4.2.4. Técnicas para el estudio del sistema inmune específico.

4.2.4.1. Caracterización de subpoblaciones celulares.

a. FUNDAMENTO.

Se aplicó la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta con anticuerpos monoclonales. Esta se basa en la medida del color (fluorescencia, ficoeritrina,...) emitido por las células debidamente marcadas, así como en las propiedades diferenciales de las células en estudio, tales como tamaño, granularidad, densidad, etc.

Las células, así marcadas, se hacen pasar por un citómetro de flujo (FACScan), que dispone de elementos de reconocimiento y contaje de alta velocidad.

La suspensión celular se hace pasar en forma de gotas microscópicas, cada una de las cuales contiene una célula rodeada de su envoltura líquida. Estas células pasan por un campo de detección atravesado por un potente rayo láser que produce la dispersión de la luz y la activación del color.

b. REACTIVOS.

. Anticuerpo Monoclonal Leu4 marcado con fluoresceína, reconocedor de la molécula CD3, presente en los linfocitos T totales (Becton Dickinson).

. Anticuerpo Monoclonal Leu3a marcado con fluoresceína, reconocedor de la molécula CD4, presente en los linfocitos colaboradores (Becton Dickinson).

. Anticuerpo Monoclonal Leu2a marcado con ficoeritrina, reconocedor de la molécula CD8, presente en los linfocitos supresores/citotóxicos (Becton Dickinson).

. Anticuerpo Monoclonal Leu12 marcado con ficoeritrina, reconocedor de la molécula CD19, presente en los linfocitos B (Becton Dickinson).

. Anticuerpo Monoclonal Leu11c marcado con ficoeritrina, reconocedor de la molécula CD16, utilizado para la identificación de la población de células Natural Killer (NK).

. Anticuerpo Monoclonal anti HLA-DR (Becton Dickinson), utilizado para reconocer a la población de células T activadas, células B y monocitos.

. Tampón fosfato PBS (Merieux).

. Solución lisante (Becton Dickinson).

c. PROCEDIMIENTO.

- Distribuir en tubos de plástico, previamente rotulados, 20 microlitros de los monoclonales a emplear.

- Sobre ellos, añadir 100 microlitros de la muestra de sangre periférica, en cada tubo. Agitar suavemente e incubar 10 minutos a temperatura ambiente y protegidos de la luz.

- Terminada la incubación, añadir a cada tubo 2 ml de la solución lisante al 1/10 en agua destilada, agitar los tubos en el vortex e incubar 5 minutos más.
- Centrifugar los tubos 5 minutos a 2000 rpm.
- Tirar el sobrenadante y decantar el botón celular.
- Añadir 2 ml de PBS a cada tubo y lavar centrifugando 5 minutos a 2000 rpm.
- Tirar el sobrenadante del lavado y decantar el botón celular, resuspender éste en 200 microlitros de PBS. En estas condiciones las muestras están listas para ser leídas en el citómetro de flujo.

4.2.4.2. Estudio de la expresión de marcadores de adhesión y activación.

a. FUNDAMENTO.

En determinadas condiciones biológicas o experimentales, los linfocitos expresan moléculas denominadas de activación y de adhesión. Las primeras aparecen durante la activación linfocitaria y las segundas, sirven para facilitar la adhesión de unas células con otras o con diferentes sustratos. Al igual que en el caso anterior, se utilizó la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

b. REACTIVOS.

. Anticuerpo Monoclonal especificidad CD11b (Becton Di-ckinson), reconoce la molécula de adhesión MAC-1, presente en monocitos, granulocitos, células NK y receptor 3 del C (CR3).

. Anticuerpo Monoclonal especificidad CD54 (Immunotech), reconoce la molécula de adhesión intercelular, ICAM-1.

. Anticuerpo Monoclonal especificidad CD69, anti-humanLeu-23 (Becton Dickinson), molécula que induce activación, sobre células T y B.

. Anticuerpo Monoclonal anti-receptor de transferrina, especificidad CD71 (Becton Dickinson).

. Anticuerpo Monoclonal anti IL-2R, especificidad CD25 (Becton Dickinson).

. Tampón fosfato PBS (Merieux).

. Solución lisante (Becton Dickinson).

c. PROCEDIMIENTO.

El mismo seguido para la obtención de las subpoblaciones celulares, con lectura final en el citómetro de flujo.

4.2.4.3. Estudio de TNF alfa e IL-1 beta mediante técnica de ELISA.

a. FUNDAMENTO.

Ambas citocinas juegan importantes funciones biológicas en la inflamación cutánea, la acción sinérgica de ambas, sobre las células endoteliales, constituye el centro de toda inflamación. La cuantificación se realizó en suero por la técnica tipo "sandwich" de ELISA (enzyme-linked immunospecific assay). La identificación de los complejos antígeno-anticuerpo se efectúa mediante el empleo de enzimas, bien unidas al antígeno, o bien al anticuerpo. La enzima que utilizamos, en nuestro caso, fué la peroxidasa. El complejo Ag-Ac se detecta cuando al administrar el sustrato (incoloro), éste adquiere color por la acción de la enzima, los cambios de color que se producen son detectados por colorimetría.

b. REACTIVOS TNF α .

- . Anti-TNF α humano (clon 199), n $^{\circ}$ de catálogo 1198670, (Boehringer).
 - . Anti-TNF α humano-POD, fragmentos Fab (clon 195), n $^{\circ}$ de catálogo 1198688 (Boehringer).
 - . 3,3',5,5' Tetrametilbencidina (TMB).
 - . Tampón de adsorción ph 9.6.
 - . Solución de bloqueo (BSA, 1% + 0.02% NaN₃B).
 - . Tampón Tris-CLH/CLNa, pH 7.4.
 - . Tampón estándar (BSA, 1% en tampón Tris).
 - . Tampón del conjugado y la muestra (BSA, 1%, EDTA, H₂O).
 - . Solución de adsorción (dilución del anticuerpo 1/20 en Tampón de adsorción).
 - . Tampón de lavado (Tween-20 1 ml + H₂O hasta 1 litro).
 - . Solución estándar (curva patrón)
 - 400 pg/ml; 25 pg/ml
 - 200 pg/ml; 12,5 pg/ml
 - 100 pg/ml; 6,25 pg/ml
 - 50 pg/ml
- Se reconstituyen los estándar con tampón estándar.
- . Solución anti-TNF α -POD (diluir la solución reconstituída a 1/20 con Tampón del conjugado).
 - . Solución sustrato (Acetato sódico 1,36 g, H₂O hasta 80ml, se ajusta pH a 4,9 con ac.cítrico, 2,1 g/100ml. Se completa hasta 100 ml).

. Solución sustrato (solución Stock: Disolver 10 mg de TMB en 1 ml de DMSO, 42 mmol/l. Diluir 0,1 ml de solución stock en 10 ml de tampón sustrato y añadir 0,015 ml de H_2O_2).

. Solución de parada (H_2SO_4 , 1 M. Disolver H_2SO_4 4,9 ml y H_2O hasta 50 ml.

c. METODO $TNF\alpha$.

1. Adsorción del anticuerpo $TNF\alpha$ a la placa. Pipetear 0,1ml (100 landas) de solución de adsorción en cada pocillo, cubrir e incubar 1 h., en estufa a $35^\circ C$.

2. Etapa postadsorción o bloqueo.

Eliminar las soluciones de los pocillos, pipetear 0,2 ml de solución de bloqueo en cada pocillo, cubrir e incubar 30 min. a T^a ambiente.

3. Lavado.

Eliminar las soluciones de los pocillos, lavar 5 veces con tampón de lavado.

4. Fijación de las muestras de los pacientes a los anticuerpos adsorbidos.

Pipetear 0,1 ml de la solución estándar problema en cada pocillo, cubrir e incubar 16 h. (toda la noche) a $4^\circ C$.

5. Lavado.

Repetir punto 3.

6. Unión del anticuerpo conjugado.

Pipetear 0,1 ml de solución anti- $TNF\alpha$ -POD en cada pocillo, cubrir e incubar 4 h. a T^a ambiente.

7. Lavado.

Repetir punto 3.

8. Reacción con el sustrato.

Pipetear 0,1 ml de solución de sustrato en cada pocillo e incubar 1 h. a T^a ambiente.

9. Parada.

Pipetear 0,1 ml de H₂SO₄ en cada pocillo.

10. Lectura.

Lectura de la muestra con un densímetro óptico a 450 nm.

- Cálculo de los resultados: Se realizarán, extrapolando los valores de cada una de las muestras, a la curva estándar obtenida, y luego se multiplicarán los valores por cada uno de los factores de dilución empleados.

d. REACTIVOS IL-β.

. IL-1β Standard (Quantikine R&D Systems).

. Antih IL-1β conjugada.

. Tampón concentrado de lavado.

. Solución de sustrato.

e. METODO IL-β.

El método se realiza siguiendo las instrucciones del fabricante, ya que el kit viene preparado con el anticuerpo IL-1β pegado en los pocillos de la placa.

La solución estándar (curva patrón) es de:

250 pg/ml ; 15,6 pg/ml

125 pg/ml ; 7,8 pg/ml

62,5 pg/ml ; 3,9 pg/ml

31,3 pg/ml

Todos los pasos se realizan a T^a ambiente.

La lectura final en un densímetro óptico a 450 nm.

Cálculo de los resultados: idéntico al método TNF α .

4.2.5. Estudios estadísticos.

Los datos se almacenaron utilizando la base de datos DBase IV, de Borland International Inc., en un microordenador personal Inves WS-100 Plus. El análisis estadístico, de los resultados obtenidos, se realizó mediante el paquete informático Kwikstat 3, de TexaSoft. Las pruebas utilizadas fueron:

- 1) Prueba "t" de Student para variables independientes para la comparación de los valores de la muestra problema con la muestra control.
 - 2) Prueba "t" para variables pareadas para la comparación de las distintas series de valores dentro de la muestra problema.
 - 3) Prueba "t" para muestra única en el caso concreto de análisis de citocinas (problema/control) dado que solo se conocen los valores de N y x de la población control, facilitados por la casa comercial (interleuquina-1) y para α TNF se tomaron los valores normales del propio laboratorio de inmunología.
- Como límite de significación estadística se aceptó un valor de $p < 0.05$.

V. RESULTADOS.

Se completó el protocolo de estudio en 17 de los 19 pacientes (Figs. 1 y 2 y Tabla III). De los dos restantes, uno falleció y, el otro, abandonó el tratamiento por falta de respuesta a los dos meses de iniciarlo (incluso con dosis de CsA superiores a las que se utilizan comunmente). (Tabla IV).

Las determinaciones basales de los parámetros mencionados en el diseño del protocolo, en todos los pacientes, se compararon con los de 32 individuos (para subpoblaciones linfocitarias) y 20 individuos (para marcadores de adhesión y activación y reactantes de fase aguda), para las citocinas (la IL-1 β) con los controles de la casa comercial, y para α TNF con los valores normales del propio laboratorio de inmunología).

Se realizó un segundo control a las 3 semanas y tras dos meses de tratamiento con Cs A respectivamente en todos los pacientes. Estos resultados se compararon con las determinaciones basales y con los controles.



Fig 1. Paciente nº 10, antes del tratamiento con Cs A.



Fig 2. Paciente nº 10, tras el tratamiento con Cs A.

5.1. EL SISTEMA INMUNE PREVIO AL TRATAMIENTO CON CICLOSPORINA A.

a). SUBPOBLACIONES CELULARES LINFOCITARIAS.

1.- Subpoblaciones linfocitarias T (Tabla V): en los pacientes se observó la presencia de una ligera linfopenia, con respecto a los controles, que afectaba a las subpoblaciones CD3+ y CD8+ (correspondientes a los linfocitos T totales y T supresores). Las diferencias fueron estadísticamente significativas para todas las subpoblaciones, excepto para CD4+, y especialmente llamativas para CD8+ ($p=0.002$).

2.- Linfocitos B (CD19+) (Tabla V): Los recuentos fueron ligeramente más bajos en la serie problema, sin alcanzar significación estadística.

3.- Linfocitos T activados totales y células natural killer, (anticuerpos monoclonales HLA de clase II y CD16+, respectivamente), (Tabla VI): se observó una disminución significativas, con respecto a los controles, para la población celular natural killer ($p=0.05$).

b). MOLECULAS DE ADHESION Y ACTIVACION.

1.- Cuantificación de los linfocitos que expresan marcadores de adhesión (CD11b y CD54) (Tabla VII): Estas moléculas, se hallan significativamente disminuídas, comparadas con el grupo control ($p = 0.001$).

2.- En los marcadores de activación CD25, CD69 y CD71 (Tabla VIII): los valores fueron ligeramente más bajos para CD25 y CD69, mientras que para CD71

estaban aumentados en los pacientes, con respecto a los controles, sin alcanzar significación estadística.

c). REACTANTES DE FASE AGUDA.

Se observó (Tabla IX) un aumento de: Inmunoglobulinas IgA e IgM, complemento C4, ceruloplasmina (CERU), alfa-1 antitripsina (α 1AT) y alfa-1 glicoproteína (α 1 GP). Alfa-2 macroglobulina (α 2 MA), disminuyó con respecto a los controles. Las diferencias fueron claramente significativas.

d). CITOCINAS, IL-1 β Y TNF α .

Para ambas citocinas se encontraron (Tabla X) aumentos significativos, respecto a los controles, mucho más llamativo para α TNF ($p < 0.001$) que para IL-1 β ($p = 0.004$).

5.2. EL SISTEMA INMUNE EN FASE TERAPEUTICA PRECOZ.

Se realizó la valoración a las tres semanas de tratamiento con Cs A. Se establecieron comparaciones con los valores basales (estudiados en el apartado anterior) y con los controles.

a). SUBPOBLACIONES CELULARES LINFOCITARIAS (T. PRECOZ).

1.- Cuando se compararon, entre los mismos pacientes, con sus valores basales, los recuentos de linfocitos T (y subpoblaciones) y linfocitos B, experimentaron un aumento, especialmente significativo para linfocitos T y T cooperadores ($p < 0.05$) (Tabla XI). De tal manera que la disminución significativa del recuento de CD3+ y CD8+ (observada en situación basal respecto a controles), desaparecía en fase terapéutica precoz. (Tabla XII).

2.- Los recuentos de linfocitos T activados totales (DR+) aumentaron significativamente en la fase precoz, respecto a los basales. Las células Natural Killer (CD16+), que estaban significativamente descendidas en situación basal, aumentaron tras el tratamiento precoz, respecto a los valores iniciales de los propios pacientes ($p < 0.05$), desapareciendo la diferencia estadística previamente observada con los controles (Tablas XIII y XIV).

b). MOLECULAS DE ADHESION Y ACTIVACION (T. PRECOZ).

1.- Las moléculas de adhesión CD54, que corresponde a la expresión de ICAM-1 sobre los linfocitos T, y CD11b aumentaron ligeramente tras el tratamiento precoz, respecto a sus valores basales, pero sin alcanzar significación estadística. Por tanto, permanecieron muy por debajo de los valores de los controles (igual que en situación basal) a pesar del tratamiento. (Tablas XV y XVI).

2.- La expresión postratamiento precoz de las moléculas de activación CD25 y CD69, apenas se modificaron pero mostraron una tendencia ascendente inversa a la observada en situación basal con respecto a los controles. CD71 presentó, una vez más, un comportamiento contrario a las otras dos moléculas de activación: con tratamiento se observó una disminución de sus valores, con respecto a los valores basales (aumentados), pero permanecieron niveles altos en relación a los controles. No obstante, la gran dispersión de los valores observada en los pacientes, impide sacar conclusiones fiables (Tablas XVII y XVIII).

c). REACTANTES DE FASE AGUDA (T. PRECOZ).

El tratamiento, en fase precoz, no modificó los cambios observados en la situación basal con respecto a los controles. (Tablas XIX y XX).

d). CITOCINAS, IL-1 β y TNF α (T. PRECOZ).

Estas citocinas, como se vió, estaban aumentadas significativamente en situación basal. Con tratamiento no hubo modificación apreciable de TNF α . IL-1 β , por el contrario, mostró una tendencia al descenso (aunque permaneció muy por encima de los valores de los controles) que no llegó a ser significativa (Tablas XXI y XXII).

5.3. EL SISTEMA INMUNE EN FASE TERAPEUTICA TARDIA.

En este período de fase terapéutica tardía o de mantenimiento, los pacientes se valoraron tras más de 2 meses de tratamiento con CsA, cuando se observó evidente mejoría clínica. Se calcularon los resultados obtenidos en esta fase, con los hallados en el estado basal de los pacientes y con los controles.

a). SUBPOBLACIONES CELULARES LINFOCITARIAS (T. TARDIA).

1.- Linfocitos T y subpoblaciones: la elevación de CD3+, observada en fase precoz, se invierte, las cifras vuelven a ser significativamente más bajas que los controles y no difieren, casi de las basales. Los CD4+, que no se diferenciaban estadísticamente de los controles, ni en fase basal ni precoz, sí se diferencian en esta fase tardía, con disminución significativa ($p < 0.05$) respecto a los controles. Los CD8+, permanecieron invariables, siempre descendidos con respecto a los controles (Tabla XXIII).

2.- Linfocitos B (CD19+): disminuyeron respecto a los valores observados en fase terapéutica precoz: la tendencia al descenso que experimentaron, se aproximó al límite de la significación estadística ($p = 0.06$), respecto a los controles (Tabla XXIV).

3.- Linfocitos T activados totales (HLA-II): disminuyeron respecto a los valores basales y los controles, pero sin alcanzar significación estadística. Las células natural Killer (CD16+), aumentadas significativamente en fase precoz, volvieron a disminuir hasta cifras semejantes a las basales (estadísticamente disminuidas, basales y tardías, con respecto a controles) (Tablas XXV y XXVI).

b). MOLECULAS DE ADHESION Y ACTIVACION (T. TARDIA).

1.- La expresión de las moléculas de adhesión, CD11b y CD54, aumentó discretamente, casi al límite de la significación estadística, con respecto a las fase previas aunque permaneciendo, como siempre, por debajo de los valores observados en controles ($p < 0.05$) (Tablas XXVII y XXVIII).

2.- La expresión de moléculas de activación CD25, que se había elevado durante la fase terapeutica precoz disminuyó considerablemente incluso por debajo de los valores observados en los controles ($p=0.002$). Con CD71 ocurrió algo semejante: descendió hasta límites subnormales ($p=0.027$). Por el contrario, CD69 apenas se modificó (Tabla XXVIII).

C). REACTANTES DE FASE AGUDA (T. TARDIA).

Al comparar los reactantes de fase aguda en fase terapeutica tardía respecto a los valores basales, no se encontraron modificaciones significativas: permanecieron elevados con respecto a los controles (Tablas XXIX y XXX).

d). CITOCINAS, IL-1 β Y TNF α (T. TARDIA).

La IL-1 β , alta en situación basal y tendente a la reducción en fase precoz continuó descendiendo: experimentó un descenso significativo con respecto al nivel basal ($p=0.045$), aunque siempre permaneció elevada respecto a los controles ($p=0,045$). El valor de TNF α no se modificó por el tratamiento; permaneció invariablemente elevado con respecto a controles (Tablas XXXI y XXXII).

TABLAS Y FIGURAS.



Tabla III. PACIENTES Y FORMAS DE LA ENFERMEDAD.

- * 19 pacientes: 12 varones, 7 mujeres.
- * Edad: media 46 años; límites 11-78.
- * 8 presentaban forma en placas (42%).
- * 11 presentaban otras modalidades de psoriasis (58%).
 - . 2 placas y artritis oligoarticular.
 - . 2 placas y artritis reumatoide.
 - . 1 eritrodérmica, placas.
 - . 1 eritrodérmica, placas y artritis oligoarticular.
 - . 1 pustular y artritis tipo espondilitis anquilosante.
 - . 1 eritrodérmica.
 - . 1 eritrodérmica pustular, placas.
 - . 1 pustulosis palmo-plantar y artritis interfalángica distal.
 - . 1 eritrodérmica pustular, eritrodérmica, placas.
- * 7 pacientes (37%) presentaban afectación articular.
- * En 17 pacientes se realizan estudios inmunológicos.

Tabla IV. RESPUESTA AL TRATAMIENTO.

Nº	Sx/E	Años evoluc. psoriasis	Dosis Cs A (mg/Kg/d)	Meses de seguimiento	PASI	
					Pre	Post
1	V/51	25	1,5 (2-5)	36	75	5
2	V/26	11	3,5 (3,5-5)	35	50	5
3	V/51	8	5 (2,5-8)	7	90	90*
4	H/11	6	3,2 (2-4)	36	90	0
5	H/53	10	2,6 (2,3-3)	37	80	10
6	H/69	22	3,6 (2,5-5)	36	65	5
7	V/61	30	2,7 (2,5-3)	9	72	5**
8	V/53	31	5 (3-6)	22	50	20*
9	H/50	2	3,3 (2,5-5)	29	31	0
10	H/56	16	3,2 (3-5)	29	40	5
11	V/27	2	3,3 (3-5)	2	75	0
12	H/28	18	3,8 (3-5)	24	35	10
13	H/35	15	4 (2,5-5)	18	30	0
14	V/56	10	3,4 (2,7-5)	19	50	10
15	V/49	5	4 (2,5-5)	12	27	0
16	V/78	5	3,3 (1,5-5)	12	30	0
17	V/26	10	5 (4-5)	12	48	10
18	V/29	11	4,6 (4-5)	11	65	0
19	V/66	14	4,2 (3-5)	11	20	5

(*) No respuesta: abandona el protocolo

(**) Fallece

Tabla V

CELULAS	PACIENTES N=17	CONTROLES N=32	P
CD3+céls/ μ l($\bar{x} \pm$ DS)	1316.8 \pm 638	1672.3 \pm 475	0.032*
CD4+céls/ μ l(")	873.8 \pm 593	992 \pm 320	0.45***
CD8+céls/ μ l(")	507.5 \pm 213	721.4 \pm 211	0.002**
CD19+céls/ μ l (")	193.2 \pm 148	291.1 \pm 191	0.07***

* p < 0.05, ** p < 0.005, *** p = NS

Tabla V.- Subpoblaciones de linfocitos T y linfocitos B previo al tratamiento con Cs A. Se usaron anticuerpos monoclonales y citometría de flujo. Los valores son expresados en números absolutos de linfocitos positivos para cada anticuerpo monoclonal.

Tabla VI

CELULAS	PACIENTES N=17	CONTROLES N=32	P
HLA-II céls/ μ l ($\bar{x} \pm$ DS)	139.5 \pm 84	124 \pm 96	0.5**
CD16+ céls/ μ l ($\bar{x} \pm$ DS)	172.7 \pm 131	261 \pm 148	0.051*

* p = 0.05, ** p = NS

Tabla VI.- Subpoblaciones de linfocitos T HLA clase II y células Natural Killer (CD16+), antes del tratamiento Cs A. Valorados por anticuerpos monoclonales y citometría de flujo.

Tabla VII

	PACIENTES N=17	CONTROLES N=20	P
CD11b céls/ μ l ($\bar{x} \pm DS$)	185.6 \pm 174	457.2 \pm 237	<0.001*
CD54 céls/ μ l (")	92.4 \pm 110	346.4 \pm 275	0.001**

* p < 0.001, ** p = 0.001

Tabla VII.- Se muestra los linfocitos que expresan marcadores de adhesión CD11b y CD54, calculados por citometría de flujo usando anticuerpos monoclonales específicos. Se representan valores absolutos del total de los linfocitos contados, antes de la toma de la Cs A. Las células positivas fueron calculadas entre los canales 520 a 1024.

Tabla VIII

	PACIENTES N=17	CONTROLES N=20	P
CD25 céls/ μ l($\bar{x} \pm DS$)	219.3 \pm 289	253.7 \pm 174	0.672*
CD69 céls/ μ l(")	52.0 \pm 62	58.4 \pm 58	0.752*
CD71 céls/ μ l(")	133.3 \pm 213	70.9 \pm 56	0.256*

* p = NS

Tabla VIII.- Se muestra los linfocitos que expresan marcadores de activación CD25, CD69 y CD71, calculados por citometría de flujo usando anticuerpos monoclonales. Se representan valores absolutos del total de los linfocitos contados antes de la toma de Cs A. Las células positivas fueron calculadas entre los canales 520 a 1024.

Tabla IX

REACTANTES	PACIENTES N=17	CONTROLES N=20	P
IgG mg/dl($\bar{x} \pm DS$)	1202 \pm 307	1105 \pm 157	0.251***
IgA mg/dl(")	312.3 \pm 118	189 \pm 40	0.001*
IgM mg/dl(")	166.3 \pm 65	102 \pm 25	0.001*
C3 mg/dl (")	159.4 \pm 42	163.1 \pm 23	0.75***
C4 mg/dl (")	39.1 \pm 15	31.0 \pm 3.7	0.05*
CERU.mg/dl(")	44.9 \pm 16	34.1 \pm 4	0.015**
α 1AT.mg/dl(")	191.5 \pm 58	140.4 \pm 19	0.003(*)
α 1GP.mg/dl(")	88.2 \pm 30	54.9 \pm 5.2	<0.001*
α 2MA.mg/dl(")	147.4 \pm 49	195.2 \pm 11	0.001*

* p = < 0.001, (*) p < 0.005, ** p < 0.05, *** p = NS

Tabla IX.- Se muestra los reactantes de fase aguda, medidos en suero y calculados por nefelometría.

Tabla X

CITOCINAS	PACIENTES N=17	VALORES NORMALES	P
IL-1 β pg/ml($\bar{x} \pm DS$)	13.1 \pm 11.4	3.9	0.004*
TNF α pg/ml(")	46.7 \pm 26	15	<0.001**

* P <0.05, ** p <0.001

Tabla X.- Se muestran las citocinas basales IL-1 β y TNF α , medidas en suero por técnica de ELISA, comparada con los valores normales.

Tabla XI

CELULAS	BASAL	T. PRECOZ	P
CD3+céls/ μ l($\bar{x} \pm DS$)	1316.8 \pm 638	1863 \pm 1028	0.008*
CD4+céls/ μ l(")	873.8 \pm 593	1231.8 \pm 737	0.014*
CD8+céls/ μ l(")	507.5 \pm 213	591.1 \pm 279	0.127**
CD19+céls/ μ l (")	193.2 \pm 148	247 \pm 238	0.553**

* p < 0.05, ** p = NS

Tabla XI.- Se muestran los valores basales de los linfocitos T, subpoblaciones T y linfocitos B y se comparan con los obtenidos tras el tratamiento precoz con Cs A.

Tabla XII

CELULAS/μL	CONTROLES	T. PRECOZ	P
CD3+ ($\bar{x} \pm DS$)	1672.3 \pm 475	1863 \pm 1028	0.54*
CD4+ (")	991.6 \pm 320	1231.8 \pm 737	0.29*
CD8+ (")	721.4 \pm 211	591.1 \pm 279	0.103*
CD19+ (")	291.1 \pm 191	247 \pm 238	0.53*

* P = NS

Tabla XII.- Se comparan los valores de los linfocitos T, subpoblaciones T y linfocitos B de los controles, con los obtenidos en fase terapeutica precoz de los pacientes.

Tabla XIII

CELULAS	BASAL	T. PRECOZ	P
HLA-IIcél/s/ μ l ($\bar{x} \pm DS$)	139.5 \pm 85	180.1 \pm 100	0.044*
CD16+cél/s/ μ l (")	172.7 \pm 131	362.9 \pm 293	0.019*

* p < 0.05

Tabla XIII.- Se muestran los valores de los linfocitos T activados totales y de las células natural killer y se comparan con los obtenidos tras el tratamiento precoz con Cs A.

Tabla XIV

CELULAS/ μ L	CONTROLES	T. PRECOZ	P
HLA-II ($\bar{x} \pm DS$)	124.8 \pm 96	180.1 \pm 100	0.102*
CD16+ (")	261.3 \pm 145	362.9 \pm 293	0.275*

* p = NS

Tabla XIV.- Se compararon los valores de los controles con los obtenidos en fase terapéutica precoz.

Tabla XV

	BASAL	T. PRECOZ	P
CD11b céls/ μ l ($\bar{x} \pm DS$)	185.6 \pm 174	153.3 \pm 90	0.234*
CD54 céls/ μ l (")	92.4 \pm 110	171.8 \pm 136	0.367*

* p = NS

Tabla XV.- Se muestran los valores de las moléculas de adhesión linfocitarias basales y se comparan con los obtenidos tras el tratamiento precoz con CsA.

Tabla XVI

	CONTROLES	T. PRECOZ	P
CD11b céls/ μ l ($\bar{x} \pm DS$)	457.2 \pm 237	253.3 \pm 90	0.003*
CD54 céls/ μ l (")	346.4 \pm 275	171.8 \pm 136	0.035**

* P < 0.005, ** P < 0.05

Tabla XVI.- Se comparan los valores de las moléculas de adhesión linfocitaria de los pacientes, tras el tratamiento precoz con Cs A, con los controles.

Tabla XVII

	BASAL	T. PRECOZ	P
CD25 céls/ μ l($\bar{x} \pm DS$)	219.3 \pm 289	454.3 \pm 514	0.108*
CD69 céls/ μ l(")	52.0 \pm 62	61.5 \pm 86	0.282*
CD71 céls/ μ l(")	133.3 \pm 213	102.0 \pm 142	0.484*

* p = NS

Tabla XVII.- Se muestran los valores de las moléculas de activación basales y se comparan con los valores obtenidos tras el tratamiento precoz con Cs A.

Tabla XVIII

	CONTROLES	T. PRECOZ	P
CD25 céls/ μ l($\bar{x} \pm DS$)	253.7 \pm 174	454.3 \pm 514	0.21*
CD69 céls/ μ l(")	58.4 \pm 58	61.5 \pm 86	0.90*
CD71 céls/ μ l(")	70.9 \pm 56	102.0 \pm 142	0.481*

* p = NS

Tabla XVIII.- Moléculas de activación tras el tratamiento precoz comparadas con los controles.

Tabla XIX

REACTANTES	BASAL	T. PRECOZ	P
IgG mg/dl($\bar{x} \pm DS$)	1202 \pm 307	1143 \pm 175	0.531*
IgA mg/dl(")	312.3 \pm 118	289.7 \pm 136	0.54*
IgM mg/dl(")	166.3 \pm 65	155.9 \pm 75	0.86*
C3 mg/dl (")	159.4 \pm 42	150.8 \pm 38	0.08*
C4 mg/dl (")	39.1 \pm 15	33.3 \pm 12	0.206*
CERU.mg/dl(")	44.9 \pm 16	42.3 \pm 15	0.23*
α 1AT.mg/dl(")	191.5 \pm 58	178.3 \pm 48	0.08*
α 1GP.mg/dl(")	88.2 \pm 30	77.6 \pm 23	0.005**
α 2MA.mg/dl(")	147.4 \pm 49	138.3 \pm 39	0.95*

* p = NS, ** p = 0.005

Tabla XIX.- Valores de los reactantes de fase aguda basales, comparadas tras el tratamiento precoz, medidos en suero por nefelometría.

Tabla XX

REACTANTES	CONTROLES	T. PRECOZ	P
IgG mg/dl ($\bar{x} \pm DS$)	1105 \pm 157	1143 \pm 175	0.54**
IgA mg/dl (")	189 \pm 40	289.7 \pm 136	0.037*
IgM mg/dl (")	102 \pm 25	155.9 \pm 75	0.043*
C3 mg/dl (")	163.1 \pm 23	150.8 \pm 38	0.35**
C4 mg/dl (")	29.7 \pm 7.8	33.3 \pm 12	0.39**
CERU.mg/dl(")	34.1 \pm 4	42.3 \pm 15	0.11**
α 1AT.mg/dl(")	190.4 \pm 226	178.3 \pm 48	0.8**
α 1GP.mg/dl(")	54.9 \pm 5.2	77.6 \pm 23	0.009*
α 2MA.mg/dl(")	245 \pm 229	138.3 \pm 39	0.95**

* p < 0.05, ** p = NS

Tabla XX.- Valores de los reactantes de fase aguda tras el tratamiento precoz con Cs A, comparados con los controles.

Tabla XXI

CITOCINAS	BASAL	T. PRECOZ	P
IL-1 β pg/ml($\bar{x} \pm DS$)	13.1 \pm 11.4	11.5 \pm 13	0.7*
TNF α pg/ml (")	46.7 \pm 25	36.5 \pm 22.5	0.147*

* p = NS

Tabla XXI.- Se muestran los valores de las citocinas basales y se comparan con los hallados tras el tratamiento precoz. Valoración en suero de las citocinas por ELISA.

Tabla XXII

CITOCINAS	CONTROLES	T. PRECOZ	P
IL-1 β pg/ml($\bar{x} \pm DS$)	3.9	11.5 \pm 13	0.08**
TNF α pg/ml (")	15	36.5 \pm 22.5	0.007*

* P < 0.05, ** P = NS

Tabla XXII.- Valores séricos de citocinas tras el tratamiento precoz, comparadas con los controles. Técnica de ELISA.

Tabla XXIII

CELULAS	BASAL	T. TARDIA	P
CD3+ céls/ μ l($\bar{x} \pm DS$)	1316.8 \pm 638	1270.7 \pm 366	0.794*
CD4+ céls/ μ l(")	873.8 \pm 593	795.1 \pm 166	0.549*
CD8+ céls/ μ l(")	507.5 \pm 213	521.5 \pm 323	0.866*
CD19+ céls/ μ l(")	193.2 \pm 148	187.8 \pm 152	0.870*

* p = NS

Tabla XXIII.- Se muestran poblaciones linfocitarias T, subpoblaciones T y linfocitos B. Comparación de los valores basales con los hallados durante el período de mantenimiento con Cs A. Medición por FACScan.

Tabla XXIV

CELULAS/ μ L	CONTROLES	T. TARDIA	P
CD3+ ($\bar{x} \pm DS$)	1672.3 \pm 475	1270.7 \pm 366	0.004*
CD4+ (")	991.6 \pm 320	795.1 \pm 166	0.007**
CD8+ (")	721.4 \pm 211	521.5 \pm 323	0.031**
CD19+ (")	254.7 \pm 204	187.8 \pm 152	0.06***

* P < 0.005, ** P < 0.05, *** P = NS

Tabla XXIV.- Se comparan los valores obtenidos en la fase terapeutica tardía de los linfocitos T, sus subpoblaciones y los linfocitos B, con los controles. Medición en sangre periférica por FACScan.

Tabla XXV

CELULAS/ μ l	BASAL	T. TARDIA	P
HLA-II céls/ μ l($\bar{x} \pm$ DS)	139.5 \pm 85	109.1 \pm 81	0.276*
CD16+ céls/ μ l (")	172.7 \pm 131	185.5 \pm 96	0.739*

* p = NS

Tabla XXV.- Se comparan los resultados basales de linfocitos T activados (HLA-II) y células natural killer (CD16+), con los hallados en fase terapéutica tardía. Técnica por FACScan.

Tabla XXVI

CELULAS/ μ l	CONTROLES	T. TARDIA	P
HLA-II ($\bar{x} \pm$ DS)	124 \pm 96	109.1 \pm 81	0.57**
CD16+ (")	261.3 \pm 148	185.5 \pm 96	0.048*

* P < 0.05, ** P = NS

Tabla XXVI.- Comparación linfocitos T activos (HLA-II) y NK de la fase terapéutica tardía, con los controles.

Tabla XXVII

CELULAS/ μ l	BASAL	T. TARDIA	P
CD11b céls/ μ l ($\bar{x} \pm DS$)	185.6 \pm 175	269.4 \pm 172	0.212*
CD54 céls/ μ l (")	92.4 \pm 110	148.0 \pm 132	0.127*
CD25 céls/ μ l (")	219.3 \pm 289	102 \pm 74	0.102*
CD69 céls/ μ l (")	52.0 \pm 62	45.1 \pm 47	0.684*
CD71 céls/ μ l (")	133.3 \pm 213	35.8 \pm 34	0.061*

* p = NS

Tabla XXVII.- Valores de las moléculas de adhesión (CD11b, CD54) y de activación (CD25, CD69 y CD71) basales, comparadas con los hallados durante la fase de mantenimiento con Cs A. Valores en sangre periférica por técnica de FACScan.

Tabla XXVIII

CELULAS/ μ l	CONTROLES	T. TARDIA	P
CD11b ($\bar{x} \pm DS$)	457.2 \pm 237	269.4 \pm 172	0.010**
CD54 (")	346.4 \pm 275	148.0 + 132	0.008**
CD25 (")	253.7 \pm 174	102 \pm 174	0.002*
CD69 (")	58.4 \pm 58	45.1 \pm 47	0.45***
CD71 (")	70.9 \pm 56	35.8 \pm 34	0.027**

* P < 0.005, ** P < 0.05, *** P = NS

Tabla XXVIII.- Comparación de los valores en fase de mantenimiento con Cs A, con los controles. Moléculas de adhesión y activación. Técnica de FACScan.

Tabla XXIX

REACTANTES	BASAL	T. TARDIA	P
Ig G mg/dl ($\bar{x} \pm DS$)	1224 \pm 304	1240 \pm 265	0.630*
IgA mg/dl (")	310 \pm 122	334.2 \pm 146	0.112*
IgM mg/dl (")	164.3 \pm 67	181.2 \pm 72	0.270*
C3 mg/dl (")	159.4 \pm 42	147.8 \pm 41	0.125*
C4 mg/dl (")	39.1 \pm 16	39.1 \pm 18	0.986*
CERU. mg/dl(")	45.7 \pm 16	43.3 \pm 8	0.624*
α 1AT. mg/dl(")	197.2 \pm 55	182.5 \pm 42	0.468*
α 1GP. mg/dl(")	88.9 \pm 31	83.6 \pm 30	0.483*
α 2MA. mg/dl(")	147.4 \pm 51	151.0 \pm 38	0.570*

* p = NS

Tabla XXIX.- Valores de los reactantes de fase aguda en periodo de mantenimiento con Cs A, comparados con los resultados basales. Medición en suero por nefelometría.

Tabla XXX

REACTANTES	CONTROLES	T. TARDIA	P
IgG mg/dl ($\bar{x} \pm DS$)	1105 \pm 157	1240 \pm 265	0.079***
IgA mg/dl (")	189 \pm 40	334.2 \pm 108	<0.001*
IgM mg/dl (")	102 \pm 25	181.2 \pm 72	<0.001*
C3 mg/dl (")	163.1 \pm 23	147.8 \pm 41	0.189***
C4 mg/dl (")	29.7 \pm 7.8	39.1 \pm 18	0.056***
CERU.mg/dl(")	34.1 \pm 4	43.3 \pm 8	<0.001*
α 1AT.mg/dl(")	190.4 \pm 226	182.5 \pm 42	0.8***
α 1GP.mg/dl(")	54.9 \pm 5.2	83.6 \pm 30	0.001**
α 2MA.mg/dl(")	245 \pm 229	151.0 \pm 38	0.08***

* p < 0.001, ** p = 0.001, *** p = NS

Tabla XXX.- Se muestran valores comparados entre los controles y la fase terapéutica tardía con Cs A. Reactantes de fase aguda en suero medidos por nefelometría.

Tabla XXXI

CITOCINAS	BASAL	T. TARDIA	P
IL-1 β pg/ml($\bar{x} \pm DS$)	13.1 \pm 11.4	7.6 \pm 7	0.045*
TNF α pg/ml (")	46.7 \pm 25	52.2 \pm 42.5	0.5**

* p < 0.05, ** p = NS

Tabla XXXI.- Se comparan los valores hallados de las citocinas, durante el tratamiento de mantenimiento, con los valores basales. Medición en suero por técnica de ELISA.

Tabla XXXII

CITOCINAS	CONTROLES	T. TARDIA	P
IL-1 β pg/ml($\bar{x} \pm DS$)	3.9	7.6 \pm 7	0.045**
TNF α pg/ml (")	15	52.2 \pm 42.5	0.002*

* p < 0.005, ** p < 0.05

Tabla XXXII.- Comparación de los valores de las citocinas en suero, del período de tratamiento tardío, con los controles Técnica de ELISA.

TABLAS COMPARATIVAS DE EVOLUCION DE PARAMETROS.

a). SUBPOBLACIONES CELULARES LINFOCITARIAS (EVOLUCION).

Tabla XXXIII

	CONTROLES	BASAL	T. PRECOZ	T.TARDIA
CD3+	1672	1316.8	1863	1270.7
CD4+	992	873.8	1231.8	795.1
CD8+	721.4	507.5	591.1	521.5
CD19+	291.1	193.2	247.8	187.8

Tabla XXXIII.- Se observan las poblaciones linfocitarias T, subpoblaciones T y linfocitos B: basales, en fase de terapéutica precoz y tardía y se comparan con los controles.

Tabla XXXIV

	CONTROLES	BASAL	T. PRECOZ	T.TARDIA
HLA-II	124	139.5	180.1	109.1
CD16+	261	172.7	362.9	185.5

Tabla XXXIV.- Linfocitos T activados(HLA-II) y células CD16+. Valores basal, en tratamiento precoz y de mantenimiento comparados con los controles.

b). MOLECULAS DE ADHESION Y ACTIVACION (EVOLUCION).

Tabla XXXV

	CONTROLES	BASAL	T. PRECOZ	T.TARDIA
CD11b	457.2	185.6	253.3	269.4
CD54	346.4	92.4	171.8	148.0
CD25	253.7	219.3	454.3	102
CD69	58.4	52	61.5	45.1
CD71	70.9	133.3	102.0	35.8

Tabla XXXV.- Se observa la evolución de los valores de las moléculas de adhesión y activación en fase basal, terapéutica precoz y tardía comparada con los controles.

c). REACTANTES DE FASE AGUDA (EVOLUCION).

Tabla XXXVI

	CONTROLES	BASAL	T. PRECOZ	T. TARDIA
IgG	1105	1202	1143	1240
IgA	189	312.3	289.7	334.2
IgM	102	166.3	155.9	181.2
C3	163.1	159.4	150.8	147.8
C4	31	39.1	33.3	39.1
CERU.	34.1	44.9	42.3	43.3
α 1AT.	140.4	191.5	178.3	182.5
α 1GP.	54.9	88.2	77.6	83.6
α 2MA.	195.2	147.4	138.3	151

Tabla XXXVI.- Reactantes de fase aguda. Se observan los valores evolutivos basales, en tratamiento precoz y tardía y se compara con los controles.

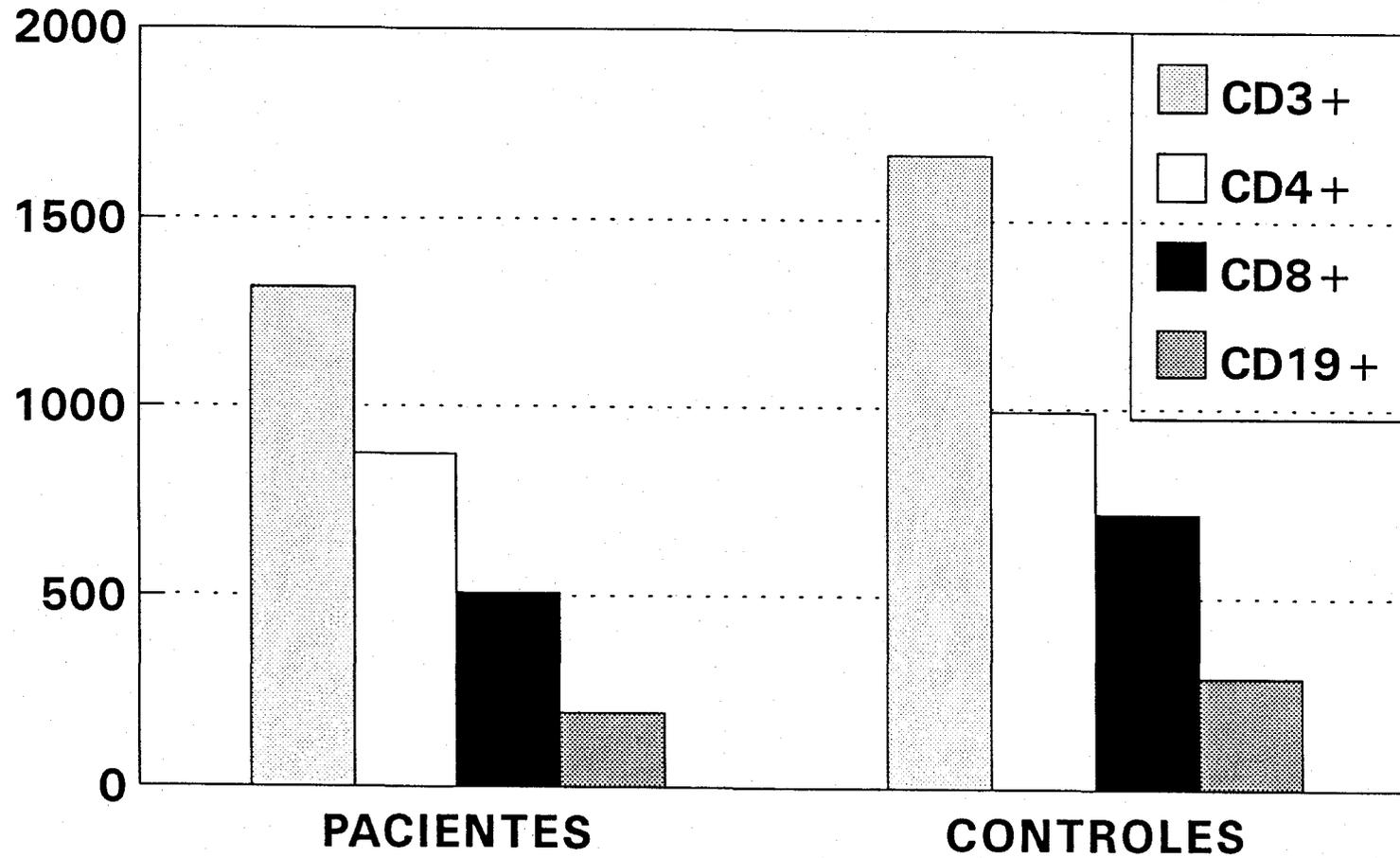
d). CITOCINAS IL-1 β Y TNF α (EVOLUCION).**Tabla XXXVII**

	CONTROLES	BASAL	T. PRECOZ	T. TARDIA
IL-1 β	3.9	13.1	11.5	7.6
TNF α	15	46.7	36.5	52.2

Tabla XXXVII.- Evolución de los valores de las citocinas IL-1 β y TNF α en fase basal, terapéutica precoz y tardía comparados con los controles.

LINFOCITOS T Y B

SISTEMA INMUNE BASAL

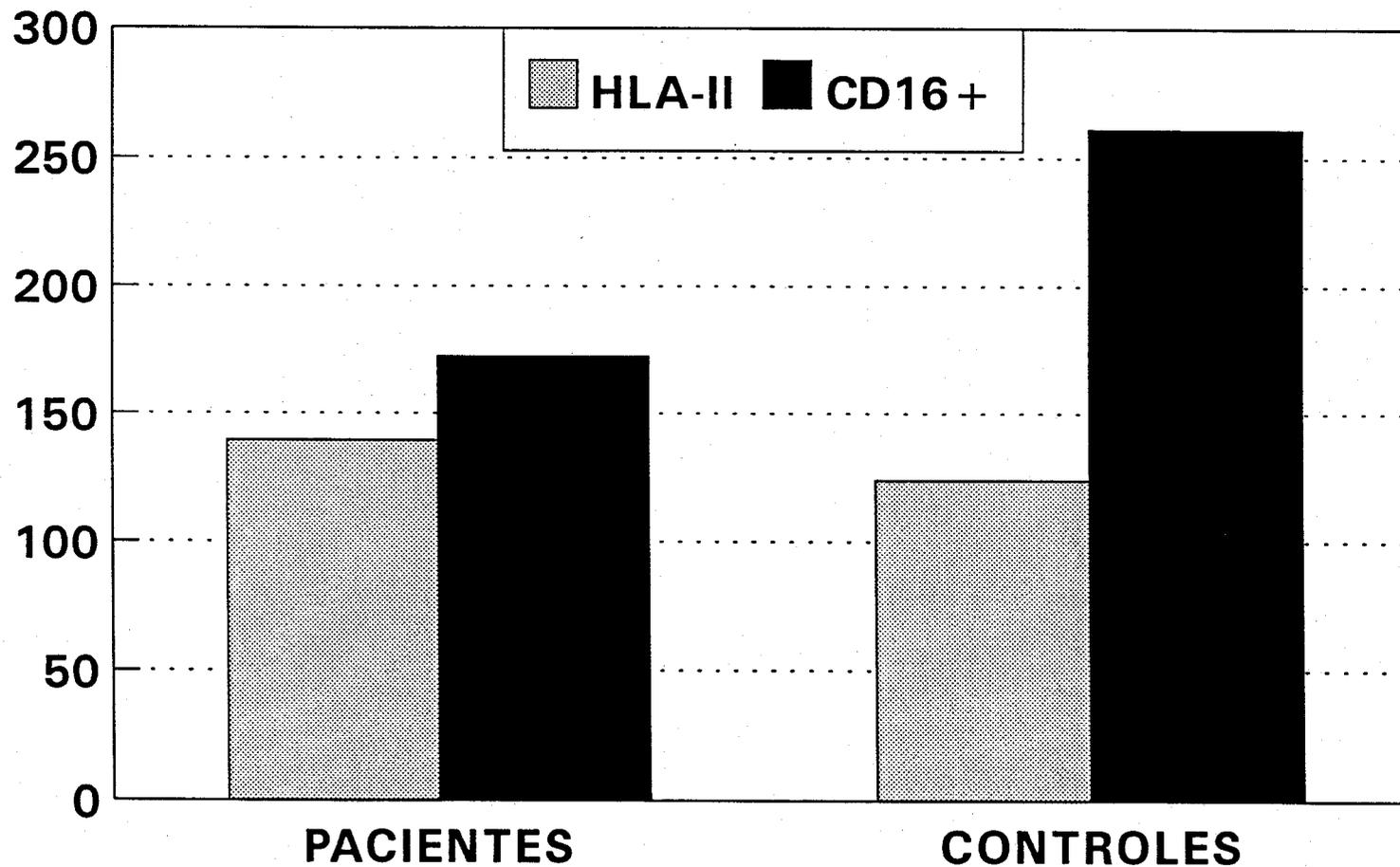


CD3+ $p < 0.032$ CD8+ $p < 0.002$
Poblaciones celulares basales. FIGURA 3



LINFOCITOS T* (HLA-II) Y CD16+ SISTEMA INMUNE BASAL

100



100

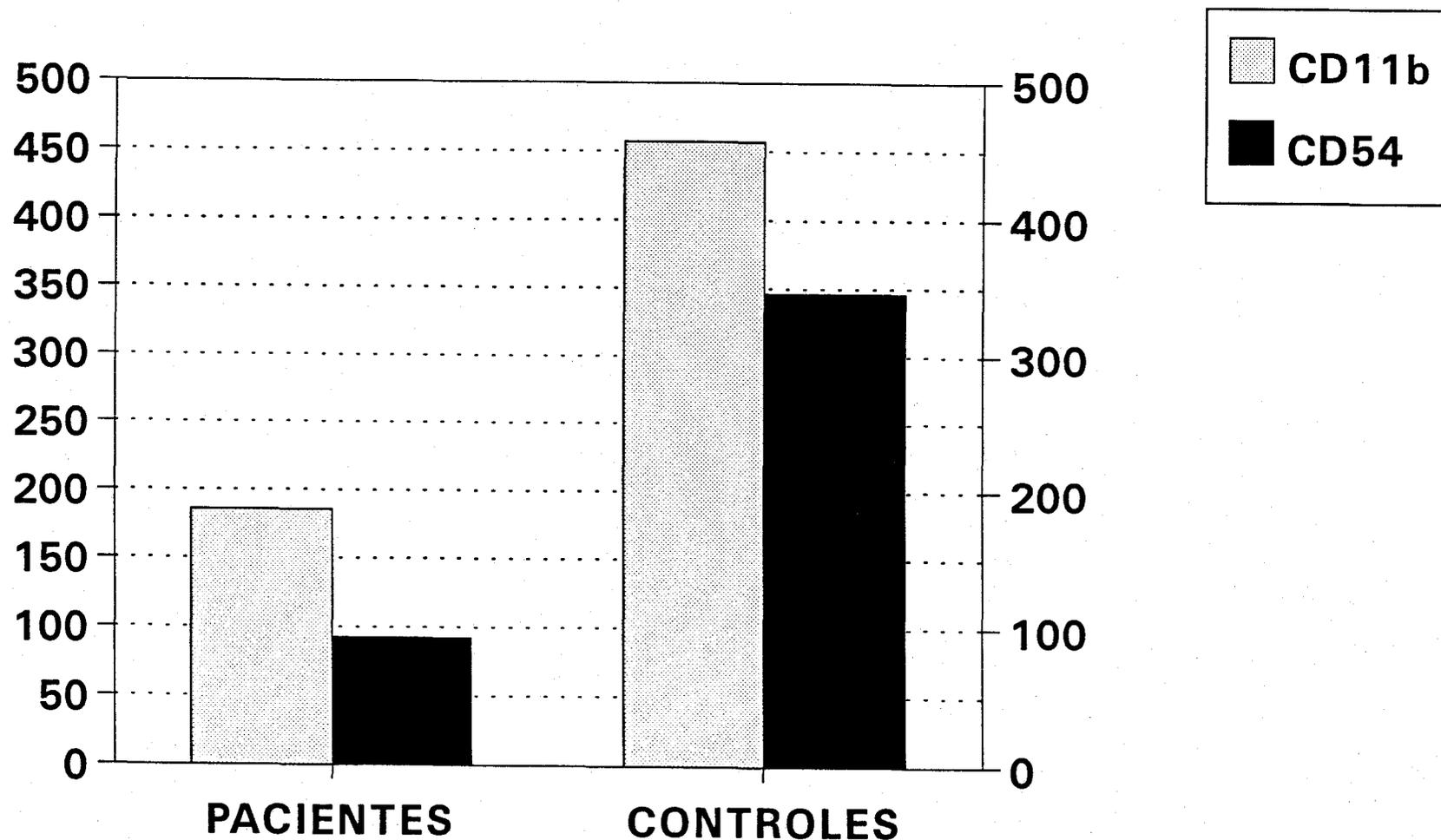
CD16+ p < 0.051

Linfoc. activados y NK basales. FIGURA 4

MOLECULAS DE ADHESION

SISTEMA INMUNE BASAL

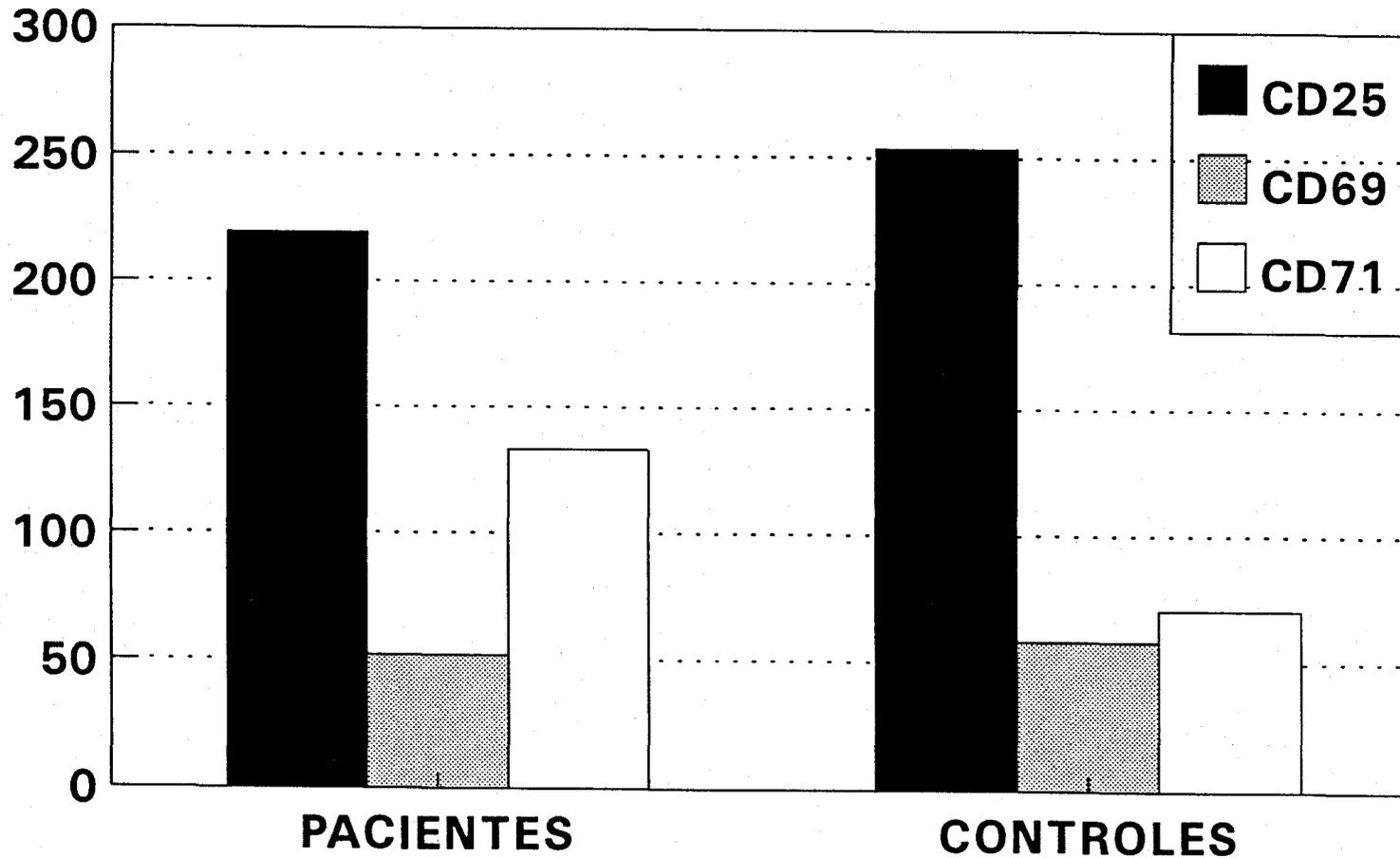
101



CD11b(Mac-1) $p < 0.001$, CD54(ICAM-1) $p = 0.001$
Marcadores de adhesión basales. FIGURA 5

101

MOLECULAS DE ACTIVACION SISTEMA INMUNE BASAL



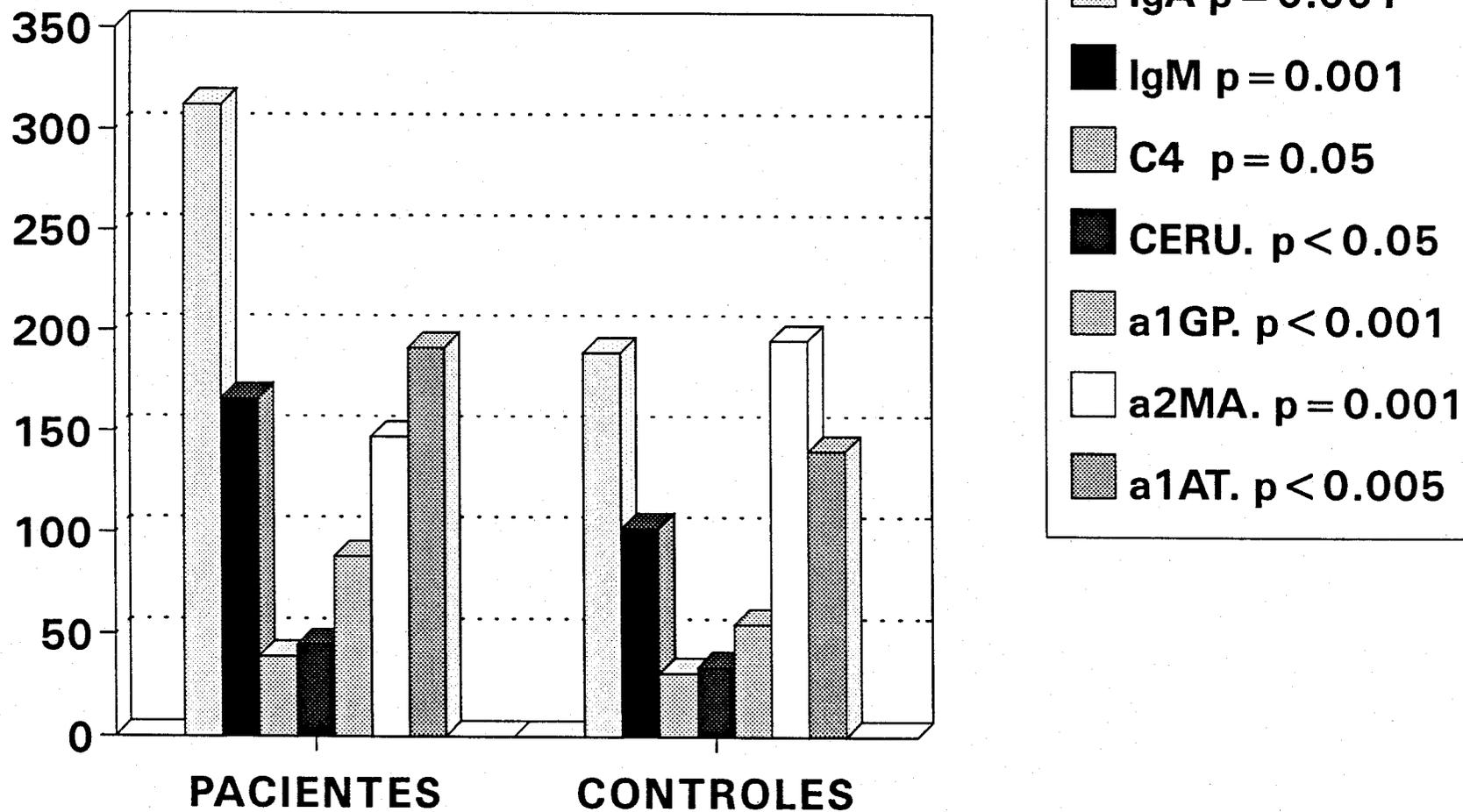
p = NS

Moléculas de activación basales. FIGURA 6

REACTANTES DE FASE AGUDA

SISTEMA INMUNE BASAL

103

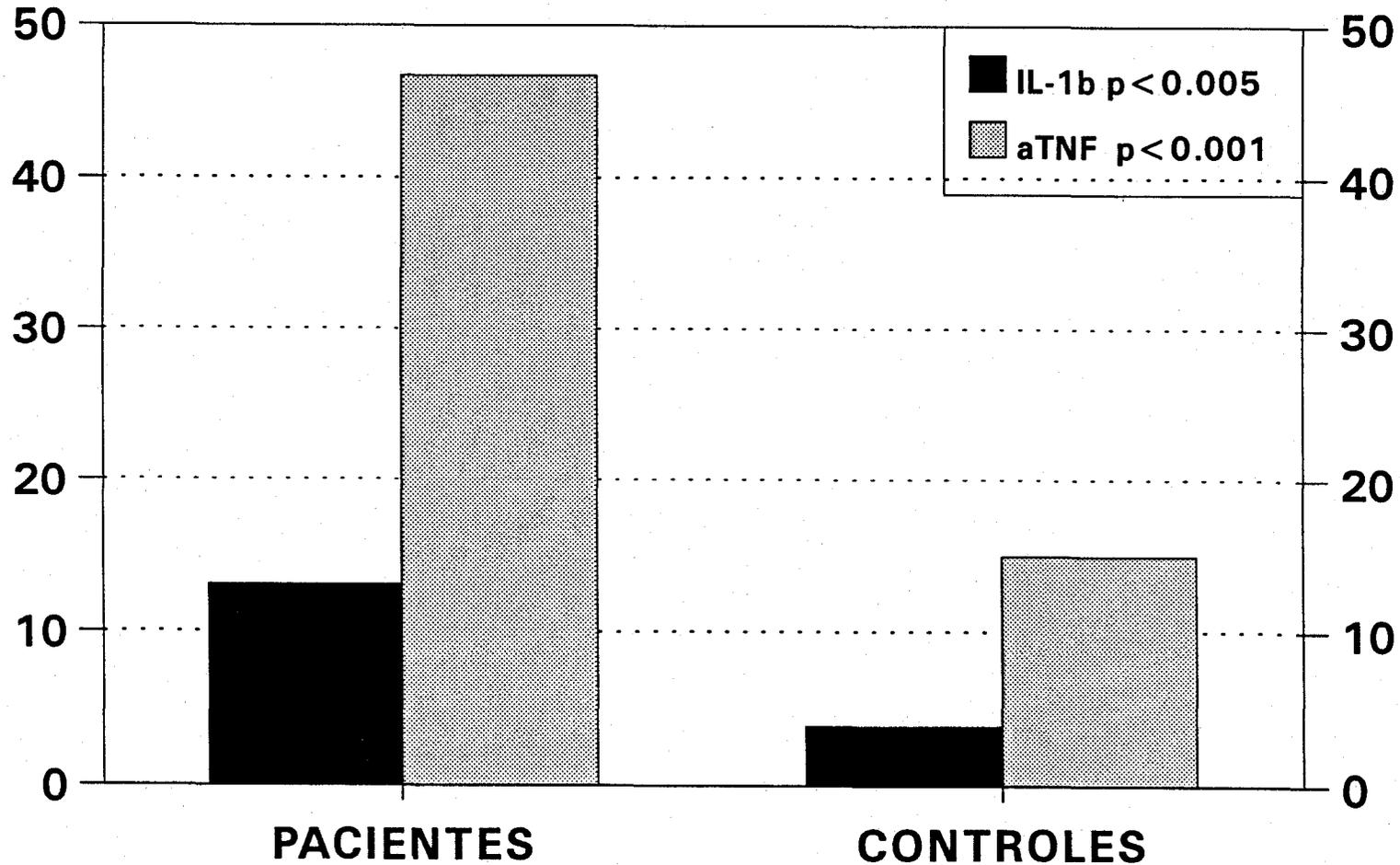


Reac.fase aguda basales, signif.FIGURA 7

103

IL-1 beta y alfa TNF SISTEMA INMUNE BASAL

104



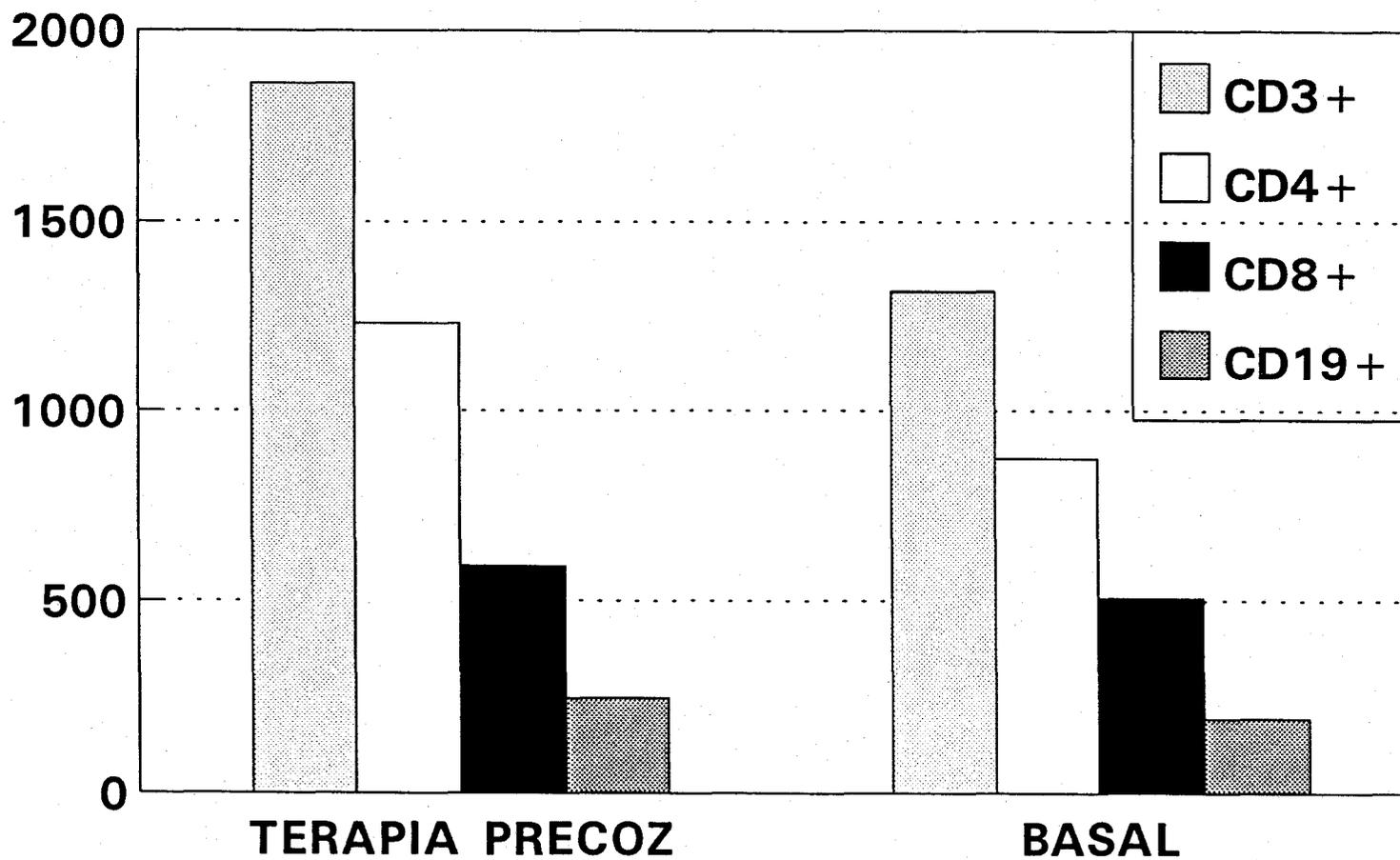
Valores basales citocinas. FIGURA 8

104

LINFOCITOS T y B

FASE TERAPEUTICA PRECOZ

105



CD4+ $p < 0.05$

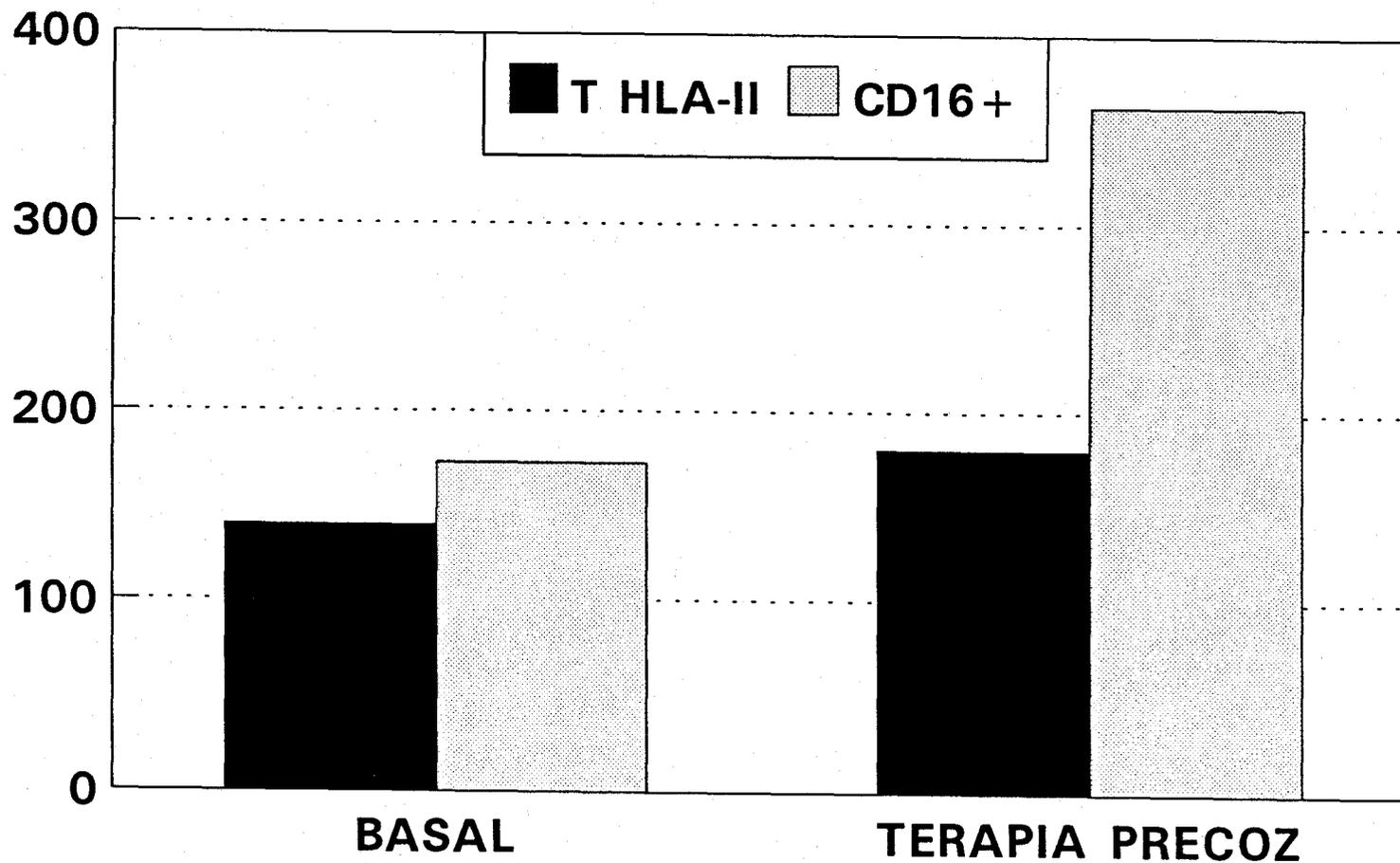
Valores terapia precoz y basal.FIGURA 9

105

LINFOCITOS T* y CD16+

FASE TERAPEUTICA PRECOZ

106



T* y CD16+ $p < 0.05$

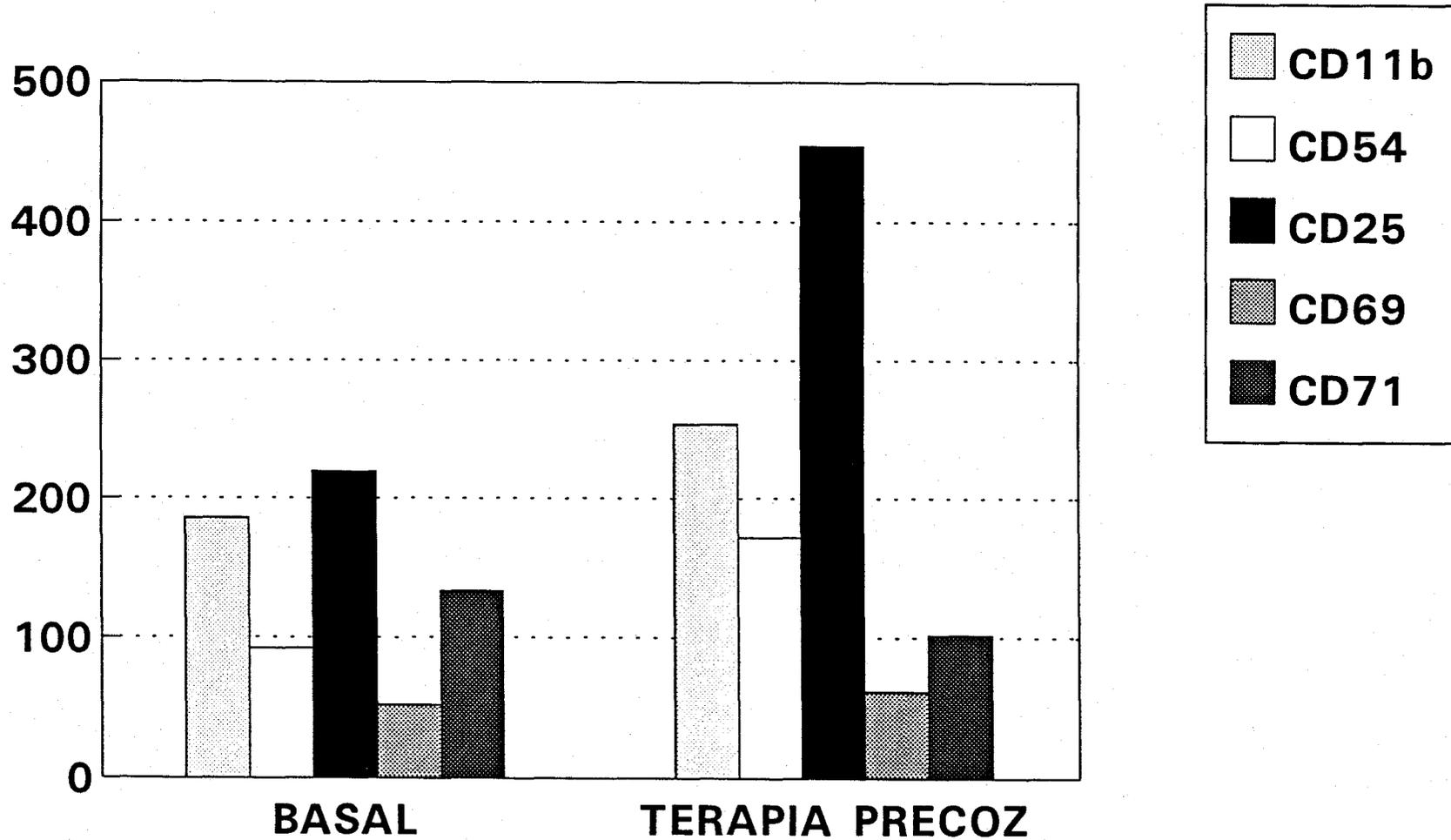
Valores tras tto.precoz. FIGURA 10

106

M. ADHESION Y ACTIVACION

FASE TERAPEUTICA PRECOZ

107



p = NS

FIGURA 11

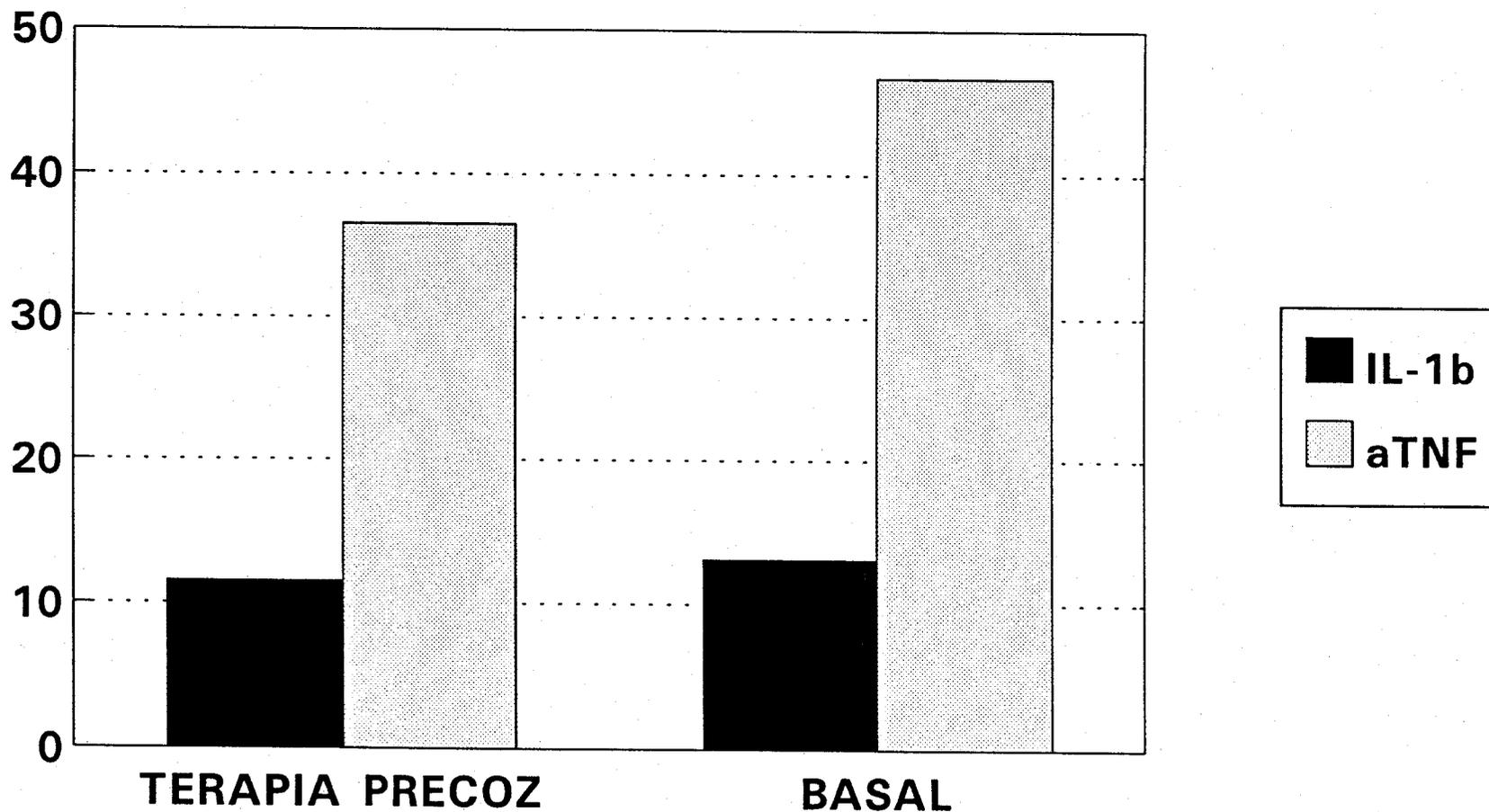
Valores basales y tras tto.precoz.

107

IL-1 beta y alfa TNF

FASE TERAPEUTICA PRECOZ

108



p = NS

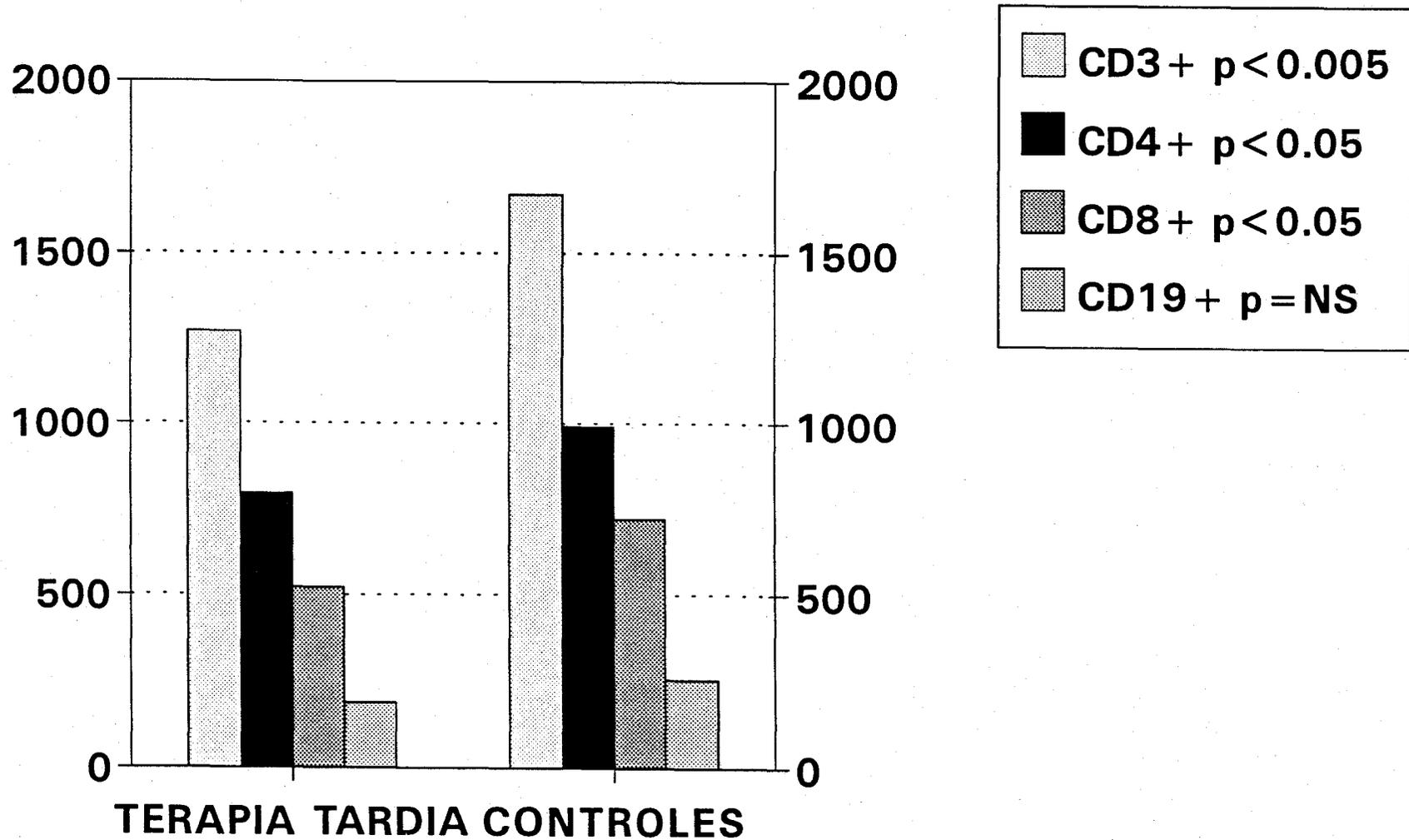
Citocinas tras tto.precoz. FIGURA 12

108

LINFOCITOS T Y B

FASE TERAPEUTICA TARDIA

109

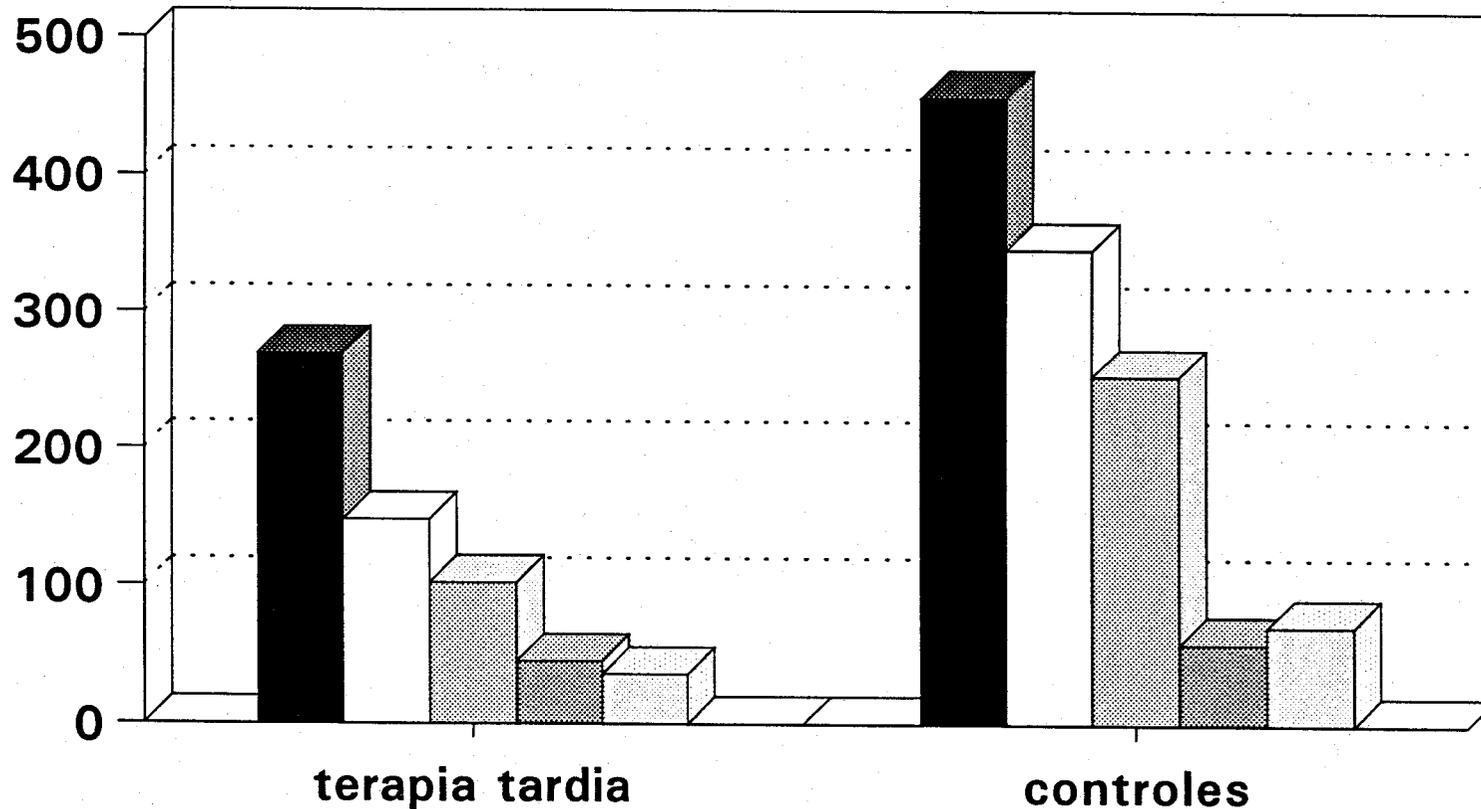


Valores t.tardia y control. FIGURA 13

109

M. ADHESION Y ACTIVACION

FASE TERAPEUTICA TARDIA



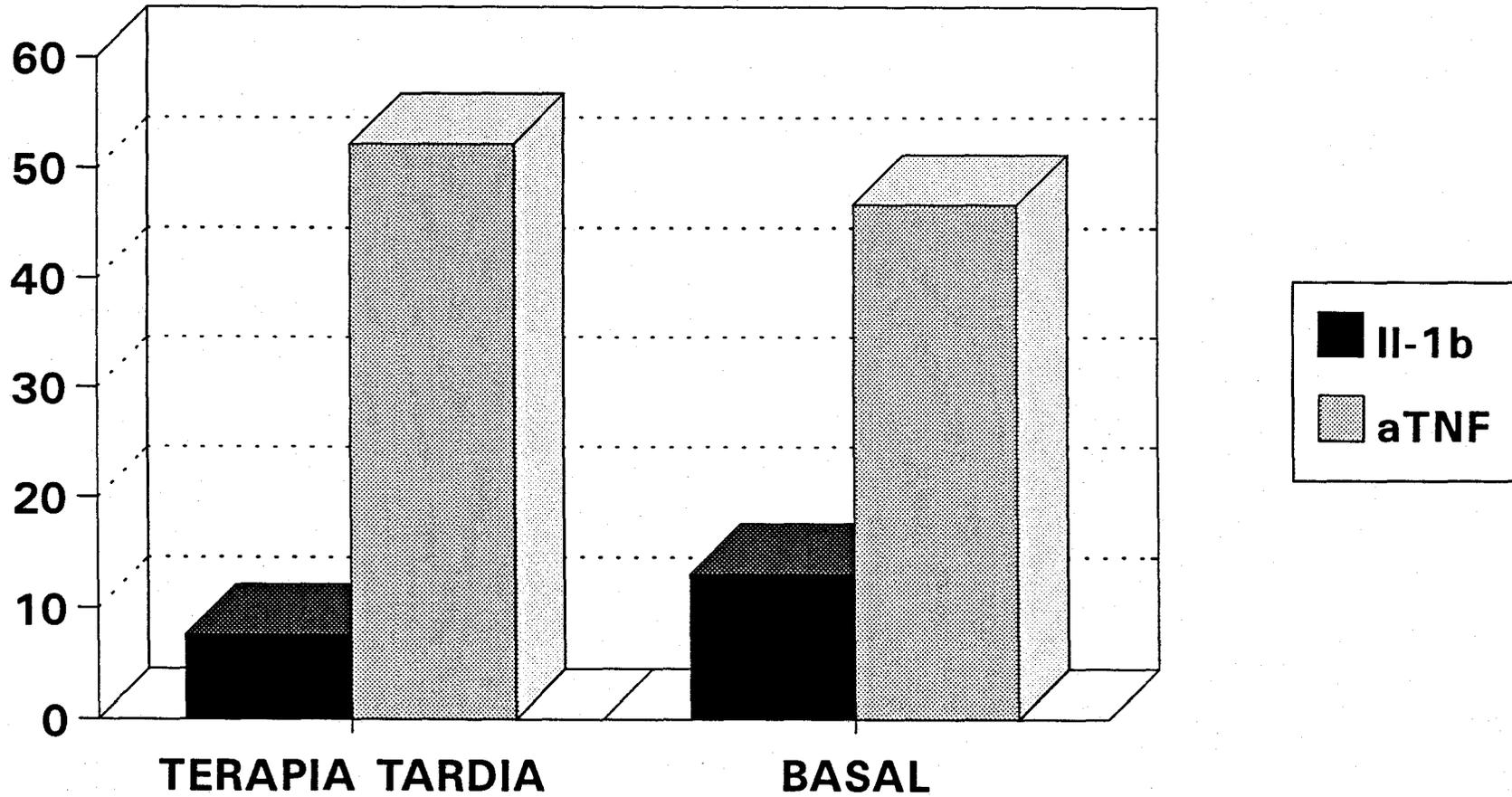
■ CD11b (Mac-1) □ CD54 (ICAM-1) ■ CD25 ■ CD69 ■ CD71

CD11b, CD54, CD71: $p < 0.05$ y CD25: $p < 0.005$
Valores t.tardia y control. FIGURA 14

IL-1 beta y alfa TNF

FASE TERAPEUTICA TARDIA

111



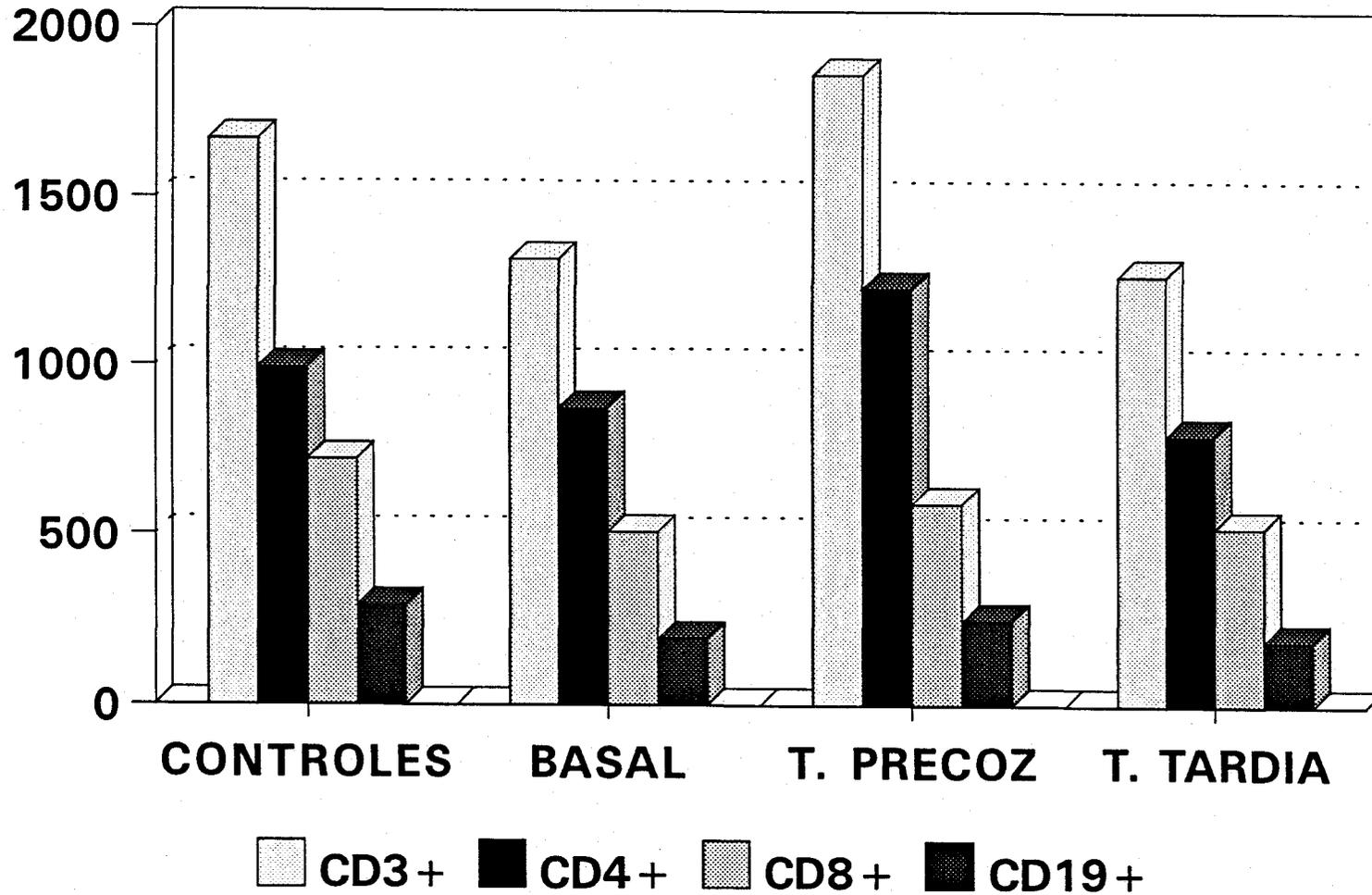
IL-1b $p < 0.05$
Citocinas, t.tardia y basal.FIGURA 15

111

LINFOCITOS T Y B

EVOLUCION

112

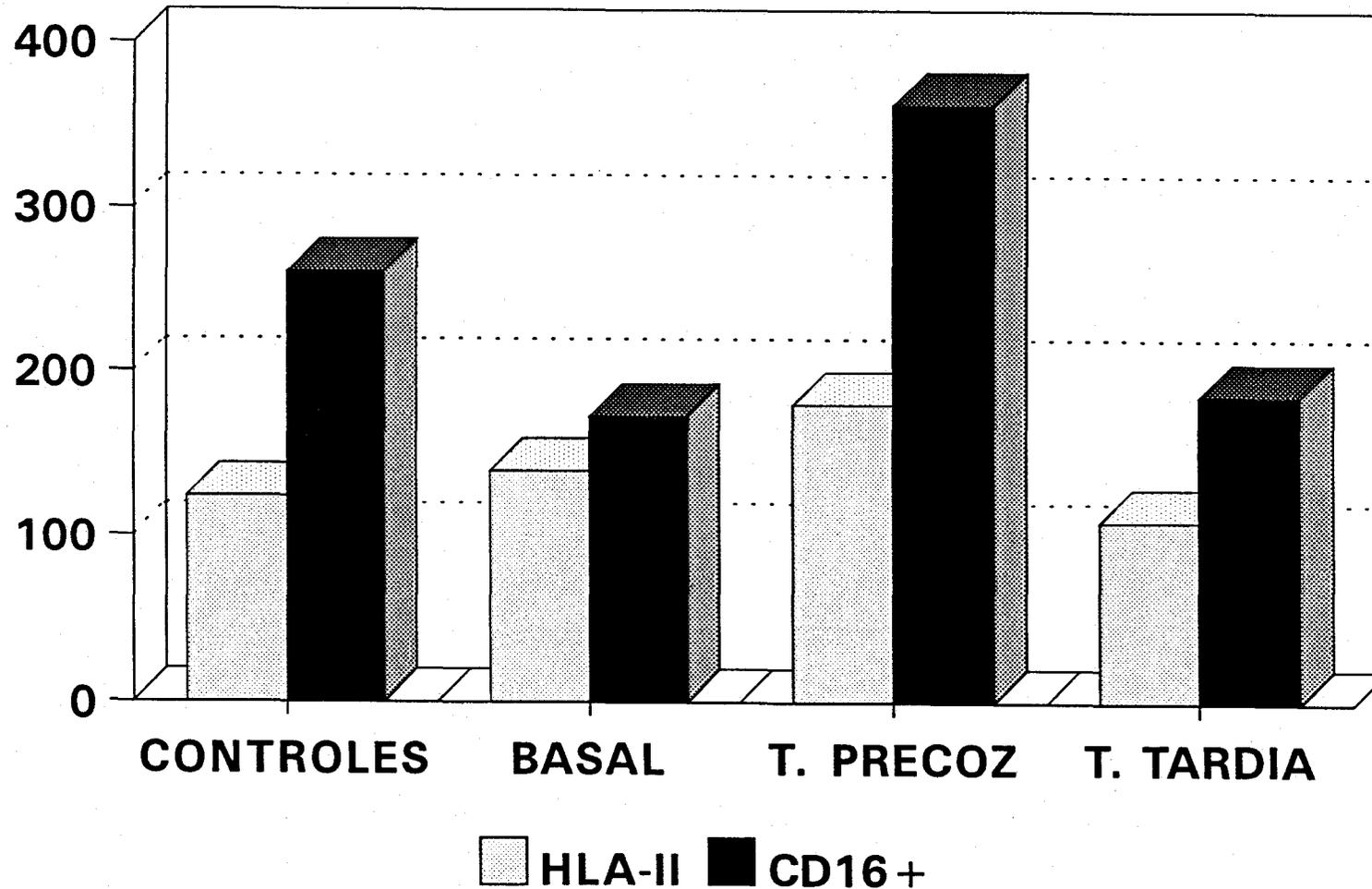


Evoluc. linf. T, subp. y B. FIGURA 16

112

LINFOCITOS T* HLA-II Y CD16+ EVOLUCION

113

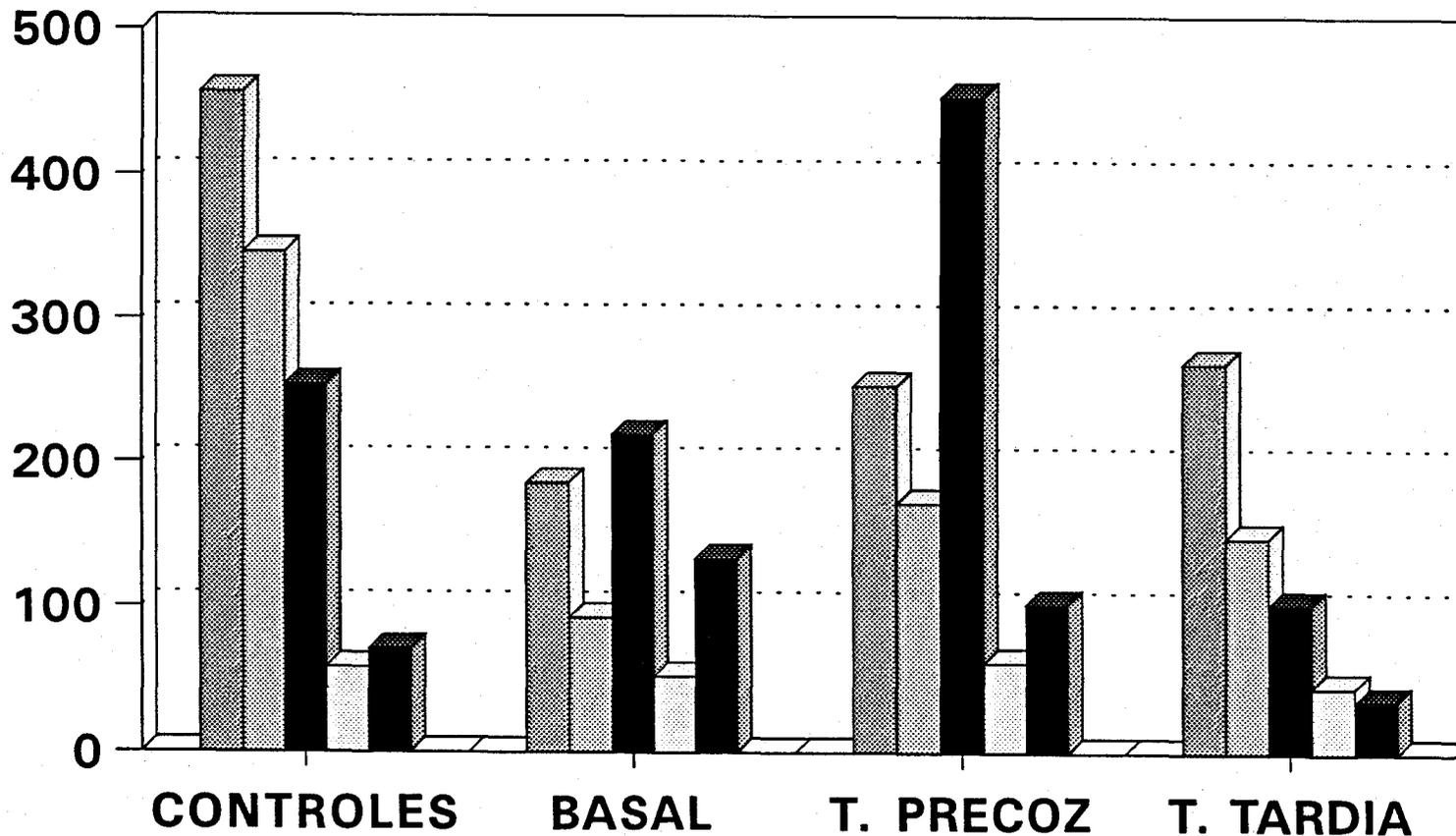


Evolucion linfocitos T* y NK.FIGURA 17

113

M. ADHESION Y ACTIVACION

EVOLUCION

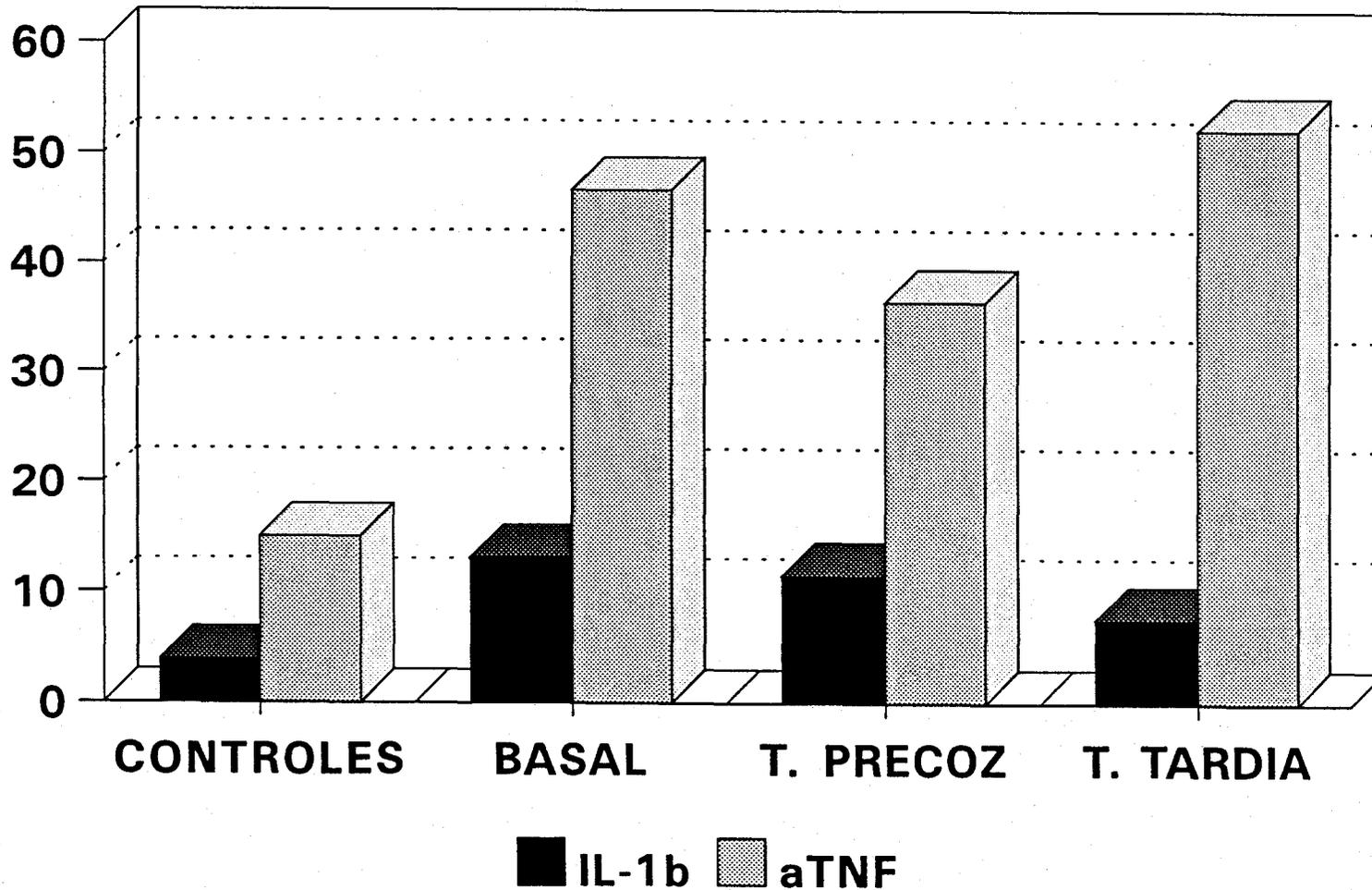


CD11b (Mac-1) CD54 (ICAM-1) CD25 CD69 CD71

Evoluc. m. adhesión y activ. FIGURA 18

IL-1 beta y TNF alfa EVOLUCION

115



Evolucion IL-1b y aTNF. FIGURA 19

115

VI. DISCUSSION.

La hipótesis principal sobre una patogénesis inmune de la psoriasis, se atribuye a Cormane et al. (141) que, en 1976, centró su atención en el linfocito T supresor. Rimbaud et al. (142), en 1972, sugirieron que los factores inmunológicos podían explicar las anormalidades bioquímicas de la lesión psoriásica, proponiendo una teoría inmunobioquímica.

La piel contiene tejido linfoide (27), puesto en evidencia por los anticuerpos monoclonales; se observan en ella, tanto células residentes como circulantes o no residentes (28-31, 34, 143). Posteriormente, los conocimientos acerca de la función de citocinas y moléculas de adhesión han reforzado la teoría de la circulación linfomonocítica en la piel (34, 43-45, 144), que rellenan ciertas lagunas en la comprensión del proceso psoriásico.

El mecanismo de acción más conocido de la Cs A es la inmunodepresión de las células CD4+ por inhibición del receptor de la IL-2. La mejoría que produce en los pacientes psoriásicos, administrada por vía oral, nos llevó al estudio de la influencia del fármaco sobre el sistema inmune de los pacientes psoriásicos graves. Con metodología combinada de estudio de subpoblaciones linfocitarias, marcaje de moléculas que expresan activación y adhesión, mediante anticuerpos monoclonales, y citometría de flujo, realizamos un estudio en sangre periférica, según se detalla en el apartado sobre material y métodos.

Añadimos a nuestro estudio, la cuantificación en suero de las citocinas IL-1 β y TNF α , por su importante función en la inflamación cutánea, y el estudio clásico de reactantes de fase aguda.

Nuestro propósito ha sido valorar las variaciones inmunológicas en sangre periférica, de los pacientes psoriásicos, así como los efectos del tratamiento inmunosupresor con Cs A. Estos conocimientos, a su vez, nos han permitido analizar de forma indirecta, las modificaciones inmunitarias de la piel, relacionadas con la enfermedad.

Cuando estudiamos los linfocitos T totales, T cooperadores, T citotóxicos /supresores, linfocitos B y natural killer, en estado basal, en los pacientes con psoriasis y comparamos los resultados con los de individuos controles, encontramos una linfopenia generalizada (CD3+), que dependía fundamentalmente de las subpoblaciones CD8+ ($p=0.002$) y también de células natural-killer CD16+. Sin embargo CD4+ permanecían dentro de la normalidad.

Esta variedad de linfopenia, a expensas de linfocitos supresores, ha sido reconocida también por Baker et al.(48), que la encuentran en pacientes con placas crónicas que afectan a más de un 10% de la superficie cutánea, y por Chen et al. (145), que hallan ligera disminución de linfocitos totales, y cooperadores, pero sin significación respecto a los controles. Sin embargo, otros autores, como Prens et al. (146), Andary et al. (147) o De Pietro et al.(47), no encuentran ninguna anomalía significativa en sangre periférica para CD3+, CD4+ y CD8+.

Los linfocitos T activados (HLA-II), de nuestra serie, estaban ligeramente aumentados, aunque sin alcanzar significación estadística, respecto a los controles. Estos hallazgos son semejantes a los de Prens et al.(146), Andary et al. (147) y Kasteler et al.(148). La elevación de linfocitos T activados alcanzó incluso, para este último, significación estadística.

Las células natural killer (que expresan el marcador CD16) se encontraron significativamente disminuídas, en situación basal, con respecto a los controles. Esta circunstancia ha sido comprobada también en la fase de actividad de otros procesos inflamatorios autoinmunes (tales como la uveítis de la enfermedad de Behçet) sensibles al tratamiento con Cs A (149).

La expresión de las moléculas de adhesión, en situación previa al tratamiento, estaba significativamente disminuída en los linfocitos de sangre periférica ($p \leq 0.001$), posiblemente porque las células detectadas no han alcanzado un dintel de expresión suficiente para adherirse, mientras que la mayoría de las células que sí poseen las moléculas de adhesión ampliamente expresadas estarían fijadas en el pool marginal, por lo que escaparían a nuestra técnica de análisis (volveremos más adelante sobre este tema).

Las concentraciones de moléculas de IgA e IgM, C4, ceruloplasmina, alfa-1 antitripsina y alfa-1 glicoproteína, estaban aumentadas y la de alfa-2 macroglobulina disminuída (todas ellas significativamente) antes del tratamiento.

Varios estudios, por técnica de nefelometría, han comprobado un aumento de inmunoglobulinas, semejante al que observamos nosotros, siendo significativo para la IgA, y el complemento C4 (39,56); otros autores encuentran aumentado, además, el nivel de C3 por técnicas diferentes de la nefelometría (58, 59). LeRoy et al.(150), por el contrario, no encuentran anormalidades en los reactantes de fase aguda en pacientes con psoriasis.

La IL-1 β y TNF α , se hallaban significativamente elevadas en suero ($p < 0.005$ y $p < 0.001$ respectivamente), antes del tratamiento. Nosotros pensamos que los aumentos de estas citocinas podrían ser los responsables de una mayor expresión de las moléculas de activación y adhesión tanto en linfocitos como en queratinocitos y en las células del endotelio lo que estimularía el flujo de células T y de monocitos/macrófagos hacia la epidermis, de tal manera que existiría un turnover continuo entre el pool marginal y el pool circulante, dependiente de la densidad de expresión de las moléculas de activación y adhesión, a su vez, inducidas por las citocinas TNF α e IL-1 β . Hipótesis apoyada también por los estudios cutáneos de Griffiths et al. (43), Dustin et al. (143) y Nickoloff et al. (151). Estas transformaciones posiblemente sean responsables también de la linfopenia que se observa en sangre periférica. No todos los estudios concuerdan en la demostración de niveles elevados de IL-1 β . Los diferentes resultados pueden deberse a diferencias importantes entre las técnicas empleadas por los autores (12-14, 150).

En la fase de terapia precoz, nos sorprendió un aumento de todos los linfocitos y de la expresión de las moléculas de activación, mientras que los reactantes de fase aguda y las citocinas disminuyeron ligeramente, respecto a sus propios valores basales.

Especialmente llamativo fué el ascenso precoz, significativo ($p = 0.014$), de los linfocitos CD4+, bajo tratamiento con Cs A. Este efecto, aparentemente paradójico de la Cs A ha sido comprobado, como comentaremos más adelante, en experimentación animal.

El recuento de células NK (CD16) ascendió llamativamente, en fase precoz, con respecto a los valores basales ($p= 0.019$) por influencia del tratamiento hasta equilibrarse con los valores de los controles ($p= 0.27$). Este aumento de las células NK es frecuente en episodios de recuperación de procesos autoinmunes e incluso de algunas infecciones víricas (149).

Creemos que al existir una disminución, aunque leve, de las citocinas ($\text{TNF}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$) comienza a disminuir la influencia de éstas sobre los reactantes de fase aguda que inician una fase de recuperación, a su vez, los linfocitos del pool marginal (al estar menos influenciados por las tasas decrecientes de citocinas), comienzan a desprenderse y pueden ser captados por nuestras técnicas de análisis en sangre periférica.

El tratamiento con PUVA reduce, a la vez, la expresión de las moléculas de adhesión sobre los queratinocitos (44) y disminuye el infiltrado inflamatorio en la dermis. La Cs A añade, además, la reducción de la expresión de ICAM-1 de las células endoteliales papilares (152).

En la fase de terapia tardía, a la vez que observamos una evidente mejoría clínica, volvemos a hallar una linfopenia (utilizando como referencia a los controles) mantenida, que a diferencia de la que se observaba en la fase basal, es a expensas de CD4^+ , que estaban significativamente disminuídos ($p=0.05$). Es decir, la Cs A actúa, como se presuponía, disminuyendo los linfocitos CD4^+ .

Los recuentos de linfocitos T activados (HLA-II), que permanecían elevados aún en la fase precoz, disminuyeron a valores incluso inferiores a los valores de los controles. Esta disminución en la expresión de moléculas de clase II suponemos que está relacionada con la disminución de la producción de determinadas citocinas (IL1 e IL2) que la inducen.

Paralelamente, la expresión de otras moléculas de activación estudiadas estaba disminuída respecto a sus valores basales: el receptor de la IL-2 o CD25 y el receptor de la transferrina o CD71, estaban significativamente disminuídas respecto a los controles ($p < 0.005$ y $p < 0.05$, respectivamente), a diferencia de lo observado en situación basal, prueba de su sensibilidad a la Cs A (100,104,107).

Los resultados de otros autores, que investigaron estas moléculas en pacientes con psoriasis, han sido un tanto discordantes: Kapp A. et al. (50) encontraron niveles aumentados del receptor de IL-2 en suero por técnica de ELISA, y Prens et al. (150), utilizando anticuerpos monoclonales, hallaron aumentos de CD25 y de CD71 en sangre periférica, mientras que Andary et al. (152) no encontraron ninguna anomalía en los marcadores de activación.

Observamos que la Cs A, en la fase tardía, continúa produciendo un aumento progresivo de la expresión de las moléculas de adhesión (CD11b, CD54) en sangre periférica (aunque con baja significación estadística), por su acción inhibidora, directa o indirecta (dependiente de IL1, por ejemplo), sobre la expresión de moléculas de adhesión de las células endoteliales. Esto, que da lugar al desprendimiento de los linfocitos unidos a los vasos, a los queratinocitos y a las células de Langerhans, sería el reflejo de la mejoría a nivel cutáneo.

Aunque aumentada, la expresión de las moléculas de adhesión, permanece inferiores a la de los controles; posiblemente, estos pacientes en la fase tardía, estén en un proceso de recuperación del sistema inmune aunque no llegue nunca a alcanzar los niveles de los sujetos sanos control; quizás por tratarse de un sistema inmune ya alterado genéticamente. Esta hipótesis ha sido refrendada al desarrollarse la enfermedad tras un trasplante de médula ósea de un dador psoriásico así como por el efecto contrario: el aclaramiento de una psoriasis severa tras recibir el paciente una médula ósea de un sujeto libre de la enfermedad (153).

La IL-1 β , en fase de tratamiento tardío, experimentó una disminución aún mayor, que en fase de terapia precoz, respecto a sus valores basales, con clara significación estadística ($p < 0.05$). La observación paralela de una mejoría clínica de los pacientes sugiere que la Cs A afecta a la célula macrofágica presentadora de antígeno, como han apuntado Varey et al. (154) y Furue and Katz (155). El TNF α , citocina más específicamente monocitaria, no sufrió sin embargo ninguna modificación por la Cs A. Tigalowna et al. (39), tampoco observaron, cambios en las concentraciones de TNF α con dosis bajas de Cs A durante tratamiento de 12 meses. Coincidiendo con nuestra propia experiencia, encontraron valores basales de TNF α (medido por técnica de ELISA) muy aumentados en los pacientes psoriásicos (media de 40 pg/ml) con respecto a los controles sanos (14 +/- 20 pg/ml). Murdoch et al. (156), encontraron también niveles elevados de TNF α en dos tercios de los individuos de una familia afectada de psoriasis. LeRoy et al. (150), por el contrario, encontraron niveles sanguíneos dentro de los límites normales tanto para TNF α (< 20 pg/ml) como para IL-1 β (medida por técnica de RIA).

Tras la observación, en fase terapéutica precoz, de que la Cs A oral, actuaba como inmunomodulador y no como inmunodepresor, para las poblaciones celulares de linfocitos (T y sus subpoblaciones y B) y para las moléculas de activación, realizamos una revisión bibliográfica, para contrastar nuestros datos. Comprobamos que Kroczek et al. (157), tras la administración de dosis de 5 mg/kg/d, e incluso mayores, de Cs A oral, observaban un aumento de la activación celular en ratones; el hecho de que no observaran efectos inmunosupresores les llevó a pensar inicialmente que el fármaco no alcanzaba en sangre niveles de inmunodepresión clínica. Pero, tras la comprobación de que dichos niveles eran adecuados, nuevos experimentos les condujeron a la observación de un marcado aumento de varios parámetros de activación linfocítica, entre ellos el aumento de la expresión del receptor de IL-2.

Algunos autores han sugerido que el mecanismo de acción de la Cs A "in vivo" difiere de sus efectos "in vitro" y que éste fármaco inhibe la actividad de la célula T helper no estimuladas in vivo, pero que carece de efecto sobre estas células cuando han sido sometidas previamente a estímulo antigénico (157).

Sin embargo, cuando la Cs A se mantiene a dosis menores, como ocurre en la fase terapéutica tardía o de mantenimiento, en la que, paralelamente, suele desarrollarse una respuesta clínica favorable, la elevación de CD3+ observada en fase precoz se invierte: las cifras vuelven a ser significativamente más bajas que los controles y casi no difieren de las basales.

Los CD4+ se comportan, en esta fase tardía, como células sensibles a la Cs A y experimentan una disminución significativa, respecto a los controles, lo que no se observaba ni en fase basal ni precoz. Esto concuerda con el mecanismo de acción propugnado por la literatura consultada.

Los CD8+, permanecieron invariables tanto en fase basal, precoz y tardía, siempre inferiores (con significación estadística) con respecto a los controles. Muchos autores, han investigado la hipótesis de un defecto de las células T supresoras en sangre periférica y han apuntado su posible papel en la patogénesis de la psoriasis. Una débil actividad supresora, junto con otros factores, podría permitir el desarrollo de la actividad aumentada de las células B (49, 158, 159) que se reflejaría en un aumento de la producción de inmunoglobulinas como la observada en nuestros pacientes.

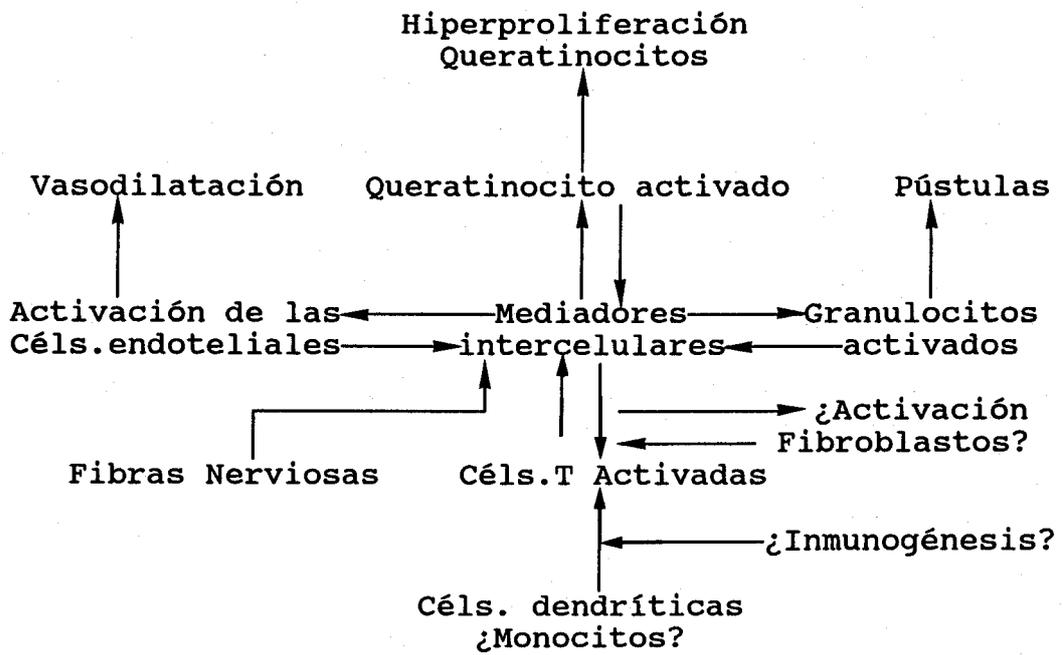
Con respecto al recuento de los linfocitos B, comprobamos unos valores basales débilmente descendidos (sin claro valor estadístico) que tras el tratamiento siguieron la tendencia al descenso hasta llegar al límite de la significación estadística ($p=0.06$) respecto a los controles. Se observó un paralelismo entre la disminución de las células B y la de las células T cooperadoras. Se he sugerido también una posible acción directa, de la Cs A sobre linfocitos B (132).

La Cs A, en esta fase de mantenimiento, deprime ligeramente el recuento de las células T activadas periféricas, pero esta disminución nunca alcanzó significación estadística, respecto a sus propios valores basales ni respecto a los controles y no parece relacionarse con la mejoría clínica, lo que también han observado, a nivel cutáneo, Lisby et al. (44) y Petzelbauer et al. (152).

Las células NK (CD16) descendieron ligeramente en la fase terapéutica tardía hasta valores un poco superiores a los basales aunque siempre inferiores a los de los controles.

En resumen, nuestros resultados acerca de los efectos de Cs A sobre el sistema inmunitario, en pacientes con psoriasis, indican que los linfocitos T supresores/citotóxicos son resistentes a los efectos de la Cs A, mientras que las células T cooperadoras son sensibles a ella. La Cs A actuaría, directa o indirectamente, sobre monocitos-macrófagos-células de Langerhans, al reducir su producción de IL-1, se inhibiría la activación de linfocitos T colaboradores y la consiguiente expansión de células T colaboradoras y T supresoras así como la cascada de activación de citocinas, que producen expresión de moléculas de adhesión en los vasos y los queratinocitos y, en último lugar, la proliferación epidérmica.

Algunas investigaciones apoyan la idea de que la expresión primaria del gen en la psoriasis estaría en el monoblasto, y se perpetuaría hasta las células dendríticas y células de Langerhans: luego el defecto estaría en la médula ósea y no en los queratinocitos, hipótesis investigada por Krueger et al.(160), al observar un aumento quimiotáctico de los monocitos en sangre periférica, y más recientemente, reforzada por otros autores que han apuntado la misma observación (19, 161-162). Sin embargo, el hecho de que los mismos queratinocitos sean capaces también de producir IL-1 (42,52) resta valor a dichas afirmaciones.



(Tomado de Bos J.D.). (162)

VII. CONCLUSIONES.

El análisis de los datos obtenidos en los precedentes capítulos nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- 1). Nuestros enfermos presentan en estado basal, una linfopenia generalizada (CD3+), a expensas de la subpoblación de linfocitos supresores (CD8+) y natural killer (CD16+).
- 2). Los reactantes de fase aguda, en estado basal, estaban significativamente aumentados para Ig A e IgM, C4, ceruloplasmina, α -1 antitripsina y α -1 glicoproteína, mientras α -2 macroglobulina estaba descendida.
- 3). La IL-1 β y TNF α , en estado basal, se hallaban significativamente aumentadas en suero.
- 4). Los pacientes en estado basal, no presentan aumentos significativos de linfocitos activados.
- 5). La expresión de las moléculas de adhesión, en estado basal, estaban significativamente disminuídas, respecto a los controles.
- 6). En fase terapéutica precoz, hay un aumento de todas las poblaciones celulares, especialmente significativas para CD4+, y de las moléculas de activación.

- 7). La IL-1 β y TNF α se encuentran disminuídas ligeramente en fase de tratamiento precoz.
- 8). La expresión de moléculas de adhesión, en fase de terapia precoz, sufren un ascenso en sangre periférica.
- 9). En fase terapéutica tardía, se observa evidente mejoría clínica y recuperación inmunológica de los pacientes, aunque todavía con linfopenia respecto a los controles.
- 10). La Cs A, en fase de terapia tardía, disminuye la subpoblación linfocitaria CD4+, IL-1 β y la expresión de los marcadores de activación CD25 y CD71.
- 11). La Cs A, en fase de terapia tardía, no afecta a la subpoblación de linfocitos citotóxicos/supresores, natural killer y TNF α .
- 12). La Cs A, a dosis bajas, puede ser utilizada como alternativa de tratamiento en pacientes psoriásicos graves, sin nefropatía, hepatopatía e infección o hipertensión no controlada.

VIII. RESUMEN.

La psoriasis, por su cronicidad y su resistencia a los tratamientos, siempre ha planteado un reto terapéutico en dermatología. La introducción de la Cs A como terapia en la psoriasis grave, nos indujo al estudio de éste fármaco y su influencia a nivel inmunológico en estos pacientes.

Realizamos el estudio en 19 pacientes con psoriasis grave (12 varones y 7 mujeres), con una edad media de 46 años (límites 11-78). El tiempo medio de evolución de la enfermedad, previo al protocolo, era de 13 años (límites 2-31) y la valoración media inicial del PASI del 54% (límites 20-90). Siete pacientes presentaban distintas modalidades de artropatía psoriásica.

Se realizaron estudios inmunológicos en 17 de los 19 pacientes y los parámetros inmunológicos estudiados en sangre periférica fueron: subpoblaciones linfocitarias, marcaje de moléculas que expresan activación y adhesión, mediante anticuerpos monoclonales y conteo por citómetro de flujo. Cuantificación en suero de las citocinas IL-1 β y TNF α por ELISA y reactantes de fase aguda por técnica de nefelometría.

Las determinaciones basales de los parámetros mencionados de los pacientes, se compararon con los de 32 individuos sanos (para las subpoblaciones linfocitarias) y 20 individuos sanos (para marcadores de adhesión y activación y reactantes de fase aguda), para las citocinas, la IL-1 β con los controles de la casa comercial y el TNF α con los valores normales del laboratorio de inmunología.

Se realizó un segundo control a las 3 semanas y tras dos meses de tratamiento con Cs A respectivamente, en todos los pacientes. Estos resultados se compararon con las determinaciones basales y con los controles.

Nuestro propósito ha sido valorar las variaciones inmunológicas en sangre periférica, de los pacientes psoriásicos, así como los efectos del tratamiento inmunosupresor con Cs A. Estos conocimientos, a su vez, nos han permitido analizar de forma indirecta, las modificaciones inmunitarias de la piel, relacionadas con la enfermedad, cuando ésta mejora con el tratamiento de Cs A.

Los pacientes en estado basal presentaban una linfopenia generalizada (CD3+), que dependía fundamentalmente de las subpoblaciones de linfocitos T citotóxicos /supresores (CD8+) y células natural killer (CD16+). Los linfocitos T activados (HLA-II) y los marcadores de activación (CD25, CD69 y CD71) poseían unos valores normales.

La expresión de las moléculas de adhesión estaban significativamente disminuídas en los linfocitos de sangre periférica de los pacientes en estado basal. Las citocinas IL-1 β y TNF α , y los reactantes de fase aguda Ig A e Ig M, C4, ceruloplasmina, alfa-1 antitripsina y alfa-1 glicoproteína, estaban elevados, y la alfa-2 macroglobulina disminuída en suero, antes del tratamiento.

En fase de terapia precoz, aumentaron todas las poblaciones linfocitarias y los marcadores de activación y adhesión, respecto a sus propios valores basales, y se produjo un descenso ligero de los reactante de fase aguda y de la IL-1 β .

En fase de terapia tardía, con dosis menores de Cs A, se observó evidente mejoría clínica y se comprobó, respecto a los controles, una linfopenia generalizada, que a diferencia del estado basal, era a expensas de la subpoblación de linfocitos cooperadores (CD4+). De igual forma los marcadores de activación CD25 y CD71, disminuyeron significativamente. La expresión de las moléculas de adhesión, a pesar

de sufrir un aumento por la Cs A, siempre permanecieron por debajo de los valores de los controles.

Los linfocitos T citotóxicos/supresores, no se modificaron ni en fase basal, precoz, ni tardía, siempre se mostraron inferiores, respecto a los controles, es decir, no sufrieron variación por la Cs A.

Las células T activadas periféricas y las natural killer, descendieron un poco, en fase tardía, pero no se modificaron respecto a los controles y no parece relacionarse con la mejoría clínica.

La IL-1 β , en fase de tratamiento tardío, experimentó mayor disminución que en fase precoz de tratamiento, respecto a sus valores basales, con clara significación estadística. Sin embargo el TNF α no se modificó por el tratamiento, manteniendo niveles altos en suero.

En resumen, nuestros resultados acerca de los efectos de la Cs A sobre el sistema inmunitario, en pacientes con psoriasis, indican que los linfocitos T supresores /citotóxicos son resistentes a los efectos de la Cs A, mientras que las células T cooperadores son sensibles a ella.

Las citocinas aumentadas en estado basal, son las responsables de la expresión elevada de moléculas de adhesión a nivel cutáneo y en el endotelio vascular, lo que produciría un aflujo de linfocitos hacia la lesión psoriásica cutánea dando lugar a la linfopenia registrada en sangre periférica. La ciclosporina, en este sentido, actuaría reduciendo los niveles de citocinas y en consecuencia de moléculas de adhesión cutáneas y endoteliales, con la consiguiente mejoría clínica y de recuperación inmunológica para el paciente.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. CHRISTOPHERS E., KRUEGER G.G.: Psoriasis. En: Fitzpatrick T.B, Eisen A.Z, Wolff K, Freedberg I.N, Austen K.F. Dermatología en Medicina General. Ed. Panamericana, Buenos aires, 1988; 585-616.
2. FRY L.: Psoriasis. Br J Dermatol 1988; 119:445-461.
3. FARBER E.M., NALL M.L.: The Natural History of Psoriasis in 5.600 Patients. Dermatologica. 1974; 148:1-18.
4. URBINA GONZALEZ F., CRISTOBAL GIL M.C., AGUILAR MARTINEZ A., ET AL.: Edad de comienzo y afectación familiar en el psoriasis. Estudio computerizado de 2.523 casos. Actas Dermo-Sif. 1988; 79:33-38.
5. SUAREZ-ALMANZOR M.E., RUSSELL A.S.: The Genetics of Psoriasis: Haplotype Sharings in Siblings with the disease. Arch Dermatol. 1990; 126:1040-1042.
6. GOTTLIEB A.B., KRUEGER J.G.: HLA Region Genes and Immune Activation in the Pathogenesis of Psoriasis. Arch Dermatol. 1990; 126:1083-1086.
7. FARBER E.M., NICKOLOFF B.J., RECHT B., FRAKI J.E.: Stress, symmetry and psoriasis: Possible role of neuropeptides. J Am Acad Dermatol 1986; 14:305-311.
8. SWERLICK R.A., CUNNINGHAM M.W., HALL N.K.: Monoclonal antibodies cross-reactive with Group-A Streptococci and normal and psoriatic human skin. J Invest Dermatol 1986; 87:367-371.
9. DUVIC M., JOHNSON T., RAPINI R., ET AL.: Acquired immunodeficiency syndrome-associated psoriasis and Reiter's syndrome. Arch Dermatol 1987; 123:1622-1632.

10. CAMP R.D.R., MALLET A.I., CUNNINGHAM F.M., ET AL.: The role of chemo-attractant lipoxygenase products in the pathogenesis of psoriasis. *Br.J. Dermatol.* 1985; 113(Suppl.28):98-103.
11. NICKOLOFF B.J.: The Cytokine Network in Psoriasis. *Arch Dermatol* 1991; 127:871-884.
12. GOMI T., SHIOHARA T., MUNAKATA T., ET AL.: Interleukin 1 alpha, Tumor Necrosis Factor alpha and Interferon gamma in Psoriasis. *Arch Dermatol* 1991; 127:827-830.
13. COOPER K.D., HAMMERBERG C., BAADSGAARD O., ET AL.: Interleukin-1 in Human Skin: Dysregulation in Psoriasis. *J Invest Dermatol* 1990; 95:24S-26S.
14. PRENS E.P., BENNE K., DAMME J., ET AL.: Interleukin-1 and Interleukin-6 in Psoriasis. *J Invest Dermatol* 1990; 25:121S-124S.
15. CASTELLS-RODELLAS A., CASTELL J.V., RAMIREZ-BOSCA A., ET AL.: Interleukin-6 in Normal Skin and Psoriasis. *Acta Derm Venereol*(Stockh) 1992; 72:165-168.
16. NICKOLOFF B.J., MITRA R.S., ELDER J.T., ET AL.: Decreased growth inhibition by recombinant gamma interferon is associated with increased transforming growth factor-alpha production in keratinocytes cultured from psoriatic lesions. *Br J Dermatol* 1989; 121:161-174.
17. GOTTLIEB A.B.: Immunologic mechanisms in psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 1988; 18:1376-1380.

18. BOS J.D.: The pathomechanisms of psoriasis; the skin immune system and cyclosporin. *Br J Dermatol* 1988; 118:141-155.
19. MIER P.D., GOMMANS J.M., ROELFZEMA H.: On the aetiology of psoriasis. *Br J Dermatol* 1980; 103:457-460.
20. BARKER J.N.W.N., MITRA R.S., GRIFFITHS C.E.M., DIXIT V.M., NICKOLOFF B.J.: Keratinocytes as initiators of inflammation. *Lancet* 1991; 337:211-214.
21. FORD-HUTCHINSON A.W. AND CHAN C.C.: Pharmacological actions of leukotrienes in the skin. *Br J Dermatol*. 1985; 113(Suppl 28):95-97.
22. BRAVERMAN I.M., SIBLEY J.: Role of the microcirculation in the treatment and pathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1982; 78:12-17.
23. SCHUBERT C., CHRISTOPHERS E.: Mast cells and macrophages in early relapsing psoriasis. *Arch Dermatol Res*. 1985; 277:352-358.
24. CORMANE R.H.: Immunopathology of psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1981; 270:201-215.
25. VALDIMARSSON H., BAKER B.S., JONSDOTTIR I., FRY L.: Psoriasis: a disease of abnormal keratinocyte proliferation induced by T lymphocytes. *Immunol Today* 1986; 7:256-259.
26. BAADSGAARD O., FISHER G., VOORHEES J.J. AND COOPER K.D.: The Role of the Immune System in the Pathogenesis of Psoriasis. *J Invest Dermatol* 1990; 95:32S-34S.
27. STREILEIN J.W.: Skin-Associated Lymphoid Tissues(SALT): Origins and Functions. *J Invest Dermatol* 1983; 80:012S-016S

28. BOS J.D. AND KAPSENBERG M.L.: The skin immune system. Its cellular constituents and their interactions. *Immunol. Today* 1986; 7:235-240.
29. BOS J.D., ZONNEVELD I., DAS P.K., ET AL.: The Skin Immune System (SIS): Distribution and Immunophenotype of lymphocyte Subpopulations in Normal Human Skin. *J Invest Dermatol* 1987; 88:569-573.
30. GRIFFITHS E.M.: La circulation des cellules dans la peau. *Ann. Dermatol. Venereol.* 1992; 119:51-55.
31. BOS J.D., HULSEBOCH H.J., KRIEG S.R., ET AL.: Immunocompetent cells in psoriasis: *in situ* immunophenotyping by monoclonal antibodies. *Arch Dermatol Res.* 1983; 275:181-189.
32. FINZI A.F., MOZZANICA N., PIGATTO P.D. AND CHIAPPINO G.: Cyclosporin for Psoriasis. *Clinical and Immunological Studies. Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989; Suppl. 146:137.
33. KONDO K.: Studies on the migratory cells in the skin I. The migratory cells in the epidermis of men and dogs (translation). *Jpn J. Med. Sci.* 1922; 2:59-60.
Citado por Griffiths E.M.: La circulation des cellules dans la peau. *Ann. Dermatol. Venereol.* 1992; 119:51-55.
34. NICKOLOFF B.J.: Role of Interferon-gamma in cutaneous trafficking of Lymphocytes with emphasis on Molecular and Cellular Adhesion Events. *Arch Dermatol* 1988; 124:1835-1843.
35. BAADSGAARD O., FISHER G.J., VOORHEES J.J. AND COOPER K.D.: Interactions of epidermal cells and T cells in inflammatory skin diseases. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23:1312-1317.

36. MOLL J.M.H. AND WRIGHT V.: Psoriatic arthritis. *Semin. Arthritis Rheum.* 1973; 3:55-78. Citado en: Roenigk H.H., Maibach H.I., eds. *Psoriasis*. Marcel Dekker Inc., New York, 1991; 171-194.
37. FREDRIKSSON T., PETERSSON U.: Severe psoriasis: Oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 1978; 157:238-244. Citado en: Marks R., Barton S.P., Shuttleworth D., Finlay A.Y.: Assessment of Disease Progress in psoriasis. *Arch Dermatol* 1989; 125:235-240.
38. BAKER B.C., GRIFFITHS C.E.M., LAMBERT S., ET AL.: The effects of cyclosporine A on T lymphocyte and dendritic cell subpopulations in psoriasis. *Br J Dermatol* 1987; 116:503-510.
39. TIGALONOWA M., BJERKE J.R., GALLATI H. AND MATRE R.: Immunological changes following treatment of psoriasis with cyclosporin. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989; Suppl. 146:142-146.
40. BAKER B.S., SWAIN A.F., FRY L., VALDIMARSSON H.: Epidermal T lymphocytes and HLA-DR expression in psoriasis. *Br J Dermatol* 1984; 110:555-564.
41. BAADSGAARD O., GUPTA A.K., TAYLOR R.S., ET AL.: Psoriatic epidermal cells demonstrate increased numbers and function of non-Langerhans antigen-presenting cells. *J Invest Dermatol* 1989; 92:190-195.
42. LUGER T.A.: Epidermal cytokines. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989; 69 (Suppl 151):61-76.

43. GRIFFITHS C.E.M., VOORHEES J.J. AND NICKOLOFF B.J.: Characterization of intercellular adhesion molecule-1 and HLA-DR expression in normal and inflamed skin: Modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20:617-29.
44. LISBY S., RALFKIAER E., ROTHLEIN R., AND VEJLSGAARD G.L.: Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression correlated to inflammation. *Br J Dermatol* 1989; 120:479-84.
45. SINGER K.H., TUCK D.T., SAMPSON H.A., HALL R.P.: Epidermal keratinocytes express the adhesion molecule intercellular adhesion molecule-1 in inflammatory dermatoses. *J Invest Dermatol* 1989; 92:746-750.
46. FRY L.: Psoriasis: inmunopatología y tratamiento a largo plazo con ciclosporina. *Actas Dermo-Sif.* 1992; 83 supl.:11-15.
47. DE PIETRO W.P., BERGER C.L., HARBER L.C., EDELSON R.L.: Normal numbers of phenotypic helper suppressor, and total T cell populations in psoriasis vulgaris. Quantitation by monoclonal antibodies. *J Am Acad Dermatol.* 1981; 5:304-307. Citado por: Jablonska S. and Glinski W. en *Psoriasis*. Ed. Rösenigk H.H. and Maibach H.I. Marcel Dekker, Inc. New York 1991:261-283.
48. BAKER B.S., SWAIN A.F., VALDIMARSSON H. AND FRY L.: T-cell subpopulations in the blood and skin of patients with psoriasis. *Br J Dermatol.* 1984; 110:37-44.
49. CLOT J., GUILHOU J.J., ANDARY M.: Immunological Aspects of Psoriasis: V.T cell subsets and suppressor cell functions regulating immune responses in peripheral blood. *J Invest Dermatol.* 1982; 78:313-315.

50. KAPP A., PISKORSKI A. AND SCHOFF E.: Elevated levels of interleukin 2 receptor in sera of patients with atopic dermatitis and psoriasis. *Br J Dermatol.* 1988; 119:707-710.
51. DE RIE M.A., HAMERLINCK F., HINTZEN R.Q., BOS J.D., VAN LIER R.A.W.: Quantitation of soluble CD27, a T-cell activation antigen, and soluble interleukin-2 receptor in serum from patients with psoriasis. *Arch Dermatol Res.* 1991; 283:533-534.
52. DINARELLO C.A.: Interleukin-1. En: *The Cytokine Handbook* Ed. A. Thompson. Academic Press. London 1991:47-82.
53. NICKOLOFF B.J., KARABIN G.D., BARKER J.N.W.N., ET AL.: Cellular localization of interleukin-8 and its inducer, Tumor Necrosis Factor-alpha in psoriasis. *Am J Pathol.* 1991; 138:129-140.
54. JABLONSKA S. AND GLINSKI W.: Overview of Immunology. En: *Psoriasis*. Ed. Röegnick H.H. and Maibach H.I. Marcel Dekker, Inc. New York, 1991:261-283.
55. MAJEWSKI S., WASIK M., JABLONSKA S. ET AL.: Defective natural-killer and killer-cell activity associated with increased polymorphonuclear leukocyte adherence in psoriasis. *Arch Dermatol Res.* 1986; 278:264-269.
56. ORTEGA RESINAS M., HERRERA SAVAL A., LOPEZ ELORZA F., CAMACHO MARTINEZ F.: Inmunoglobulinas séricas y fracciones C3, C4 del complemento en el psoriasis. *Actas Dermo-Sif.* 1988; 79 (6):551-554.

57. REUSCH M.K., FULLERTON S.H., NICKOLOFF B.J., ET AL.:

Leukotriene B₄ enhances adherence of human polymorphonuclear leukocytes to dermal microvascular endothelial cells in vitro. *Arch Dermatol Res.* 1988; 280:194-197.

58. OHKOHCHI K., TAKEMATSU H., AND TAGAMI H.: Increased anaphylatoxins (C3a and C4a) in psoriatic sera. *Br J Dermatol.* 1985; 113:189-196.

59. ACEVEDO F. AND HAMMAR H.: Complement C3 proteins in psoriasis. *Br J Dermatol.* 1989; 121:329-335.

60. LAHTI A., MAIBACH H.I.: Systemic corticosteroids. En: *Psoriasis*. Ed. Røegnick H.H. and Maibach H.I. Marcel Dekker, Inc. New York, 1991:559-562.

61. RYAN T.J., BAKER H.: Systemic corticosteroids and folic antagonists in the treatment of generalized pustular psoriasis. *Br J Dermatol* 1969; 81:134-45. Cited in: *Textbook of Dermatology*. 5th ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1992:1424.

62. STERN R.S., FITZPATRICK T.B., PARRISH J.A., ET AL.: Oral psoralen Photochemotherapy. En: *Psoriasis*. Ed. Røegnick H.H. and Maibach H.I. Marcel Dekker, Inc. New York, 1991:603-623.

63. ELLIS C.N., HARVEY G. AND ARMSTRONG R.B.: Clinical use of etretinate and acitretin: United States Experience.

En: *Psoriasis*. Ed. Røegnick H.H. and Maibach H.I. Marcel Dekker, Inc. New York, 1991:715-724.

64. GOLLNICK H.P.M. AND ORFANOS C.E.: Clinical efficacy of etretinate and acitretin: European experience. En: Psoriasis Ed. Røegnick H.H. and Maibach H.I. Marcel Dekker, Inc. New York, 1991:725-748.
65. MUELLER W., HERRMANN B.: Cyclosporin A for psoriasis. N Engl J Med, 1979; 301:555.
66. HARPER J.I., KEAT A.C.S. AND STAUGHTON R.C.D.: Cyclosporin for psoriasis. Lancet, 1984; 2:981-2.
67. VAN HOOFF J.P., LEUNISSEN K.M.L. AND STAAK W.V.D.: Cyclosporin and psoriasis. Lancet, 1985; 1:335.
68. VAN JOOST TH., HEULE F., STOLZ E. AND BEUKERS R.: Short-term use of cyclosporin A in severe psoriasis. Br J Dermatol, 1986; 114:615-20.
69. GRIFFITHS C.E.M., POWLES A.V., LEONARD J.N., ET AL.: Clearance of psoriasis with low dose cyclosporin. Br Med J, 1986; 293:731-732.
70. ELLIS C.N., GORSULOWSKY D.C., HAMILTON T.A., BILLINGS J.K. ET AL.: Cyclosporine improves psoriasis in a Double-blind study. J.A.M.A. 1986; 256:3110-3116.
71. MARKS J.M.: Cyclosporin A treatment of severe psoriasis. Br J Dermatol, 1986; 115:745-746.
72. WENTZELL J.M., BAUGHMAN R.D., O'CONNOR G.T., ET AL.: Cyclosporine in the treatment of psoriasis. Arch Derma. 1987; 123:163-65.
73. PICASCIA D.D., GARDEN J.M., FREINKEL R.K. AND ROENIGK H.H.: Resistant severe psoriasis controlled with systemic cyclosporine therapy. Transplant Proc. 1988; 3(Suppl 4): 58-62.

74. GRIFFITHS C.E.M., POWLES A.V., McFADDEN J., ET AL.: Long-term cyclosporin for psoriasis. *Br J Dermatol.* 1989; 120: 253-260.
75. POWLES A.V., BAKER B.S., VALDIMARSSON H. AND FRY L.: Four years' experience of cyclosporin for psoriasis. *Br J Dermatol.* 1990; 123(Suppl.37):43-44.
76. ELLIS C.N., FRADIN M.S., MESSANA J.M., ET AL.: Cyclosporine for plaque-type psoriasis. Results of a multidose, double-blind trial. *N Engl J Med.* 1991; 324:277-284.
77. ROENIGK H.H. AND GARRET S.M.: Combination therapy for psoriasis. *En: Psoriasis. Ed. Røegnigk H.H. and Maibach H.I. Marcel Dekker, Inc. New York, 1991:847-853.*
78. BOREL J.F.: The history of cyclosporin A and its significance. In *Cyclosporin A: Proceedings of an International Conferance on Cyclosporin A*, ed. White DJG Amsterdam, 1982. Elsevier Biomedical Press, pp 5-17.
79. Sandimmun (Ciclosporin). A Clinical and pharmacological review. Monografia lab. Sandoz Pharma Ltd, CH4002 Basle, Switzerland.
80. BOREL J.F.: Mechanism of action and rationale for cyclosporin A in psoriasis. *Br J Dermatol* 1990; 122(Supp.36):5-12.
81. BOREL J.F., FEURER C., GUBLER H.U. AND STÄHELIN H.: Biological effects of cyclosporin A: A new antilymphocytic agent *Agents Actions* 1976; 6:468-475.
82. KAHAN B.D.: Drug Therapy: Cyclosporine. *N Engl J Med* 1989; 321 (25):1725-1738.

83. BRITTON S., PALACIOS R.: Cyclosporin A: Usefulness, risks and mechanisms of action. *Immunol Rev* 1982; 65:5-22.
Citado por: Page E.H., Wexler D.M., Guenther L.C.: Cyclosporin. *AJ Am Acad Dermatol* 1986; 14:785-791.
84. WATKINS P.B.: The role of cytochromes P-450 in cyclosporine metabolism. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23:1031-1311.
85. ROBINSON W.T., SCHRAN H.F., BARRY E.P.: Methods to measure cyclosporine levels: High pressure liquid chromatography, radioimmunoassay, and correlation. *Transplant Proc.* 1983; 15(Suppl.):2403-2408.
86. GUPTA A.K., BROWN M.D., ELLIS C.N., ET AL.: Cyclosporine in dermatology. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21:1245-56.
87. MOCKLI G., KABRA P.M, KURTZ T.W.: Laboratory monitoring of cyclosporine levels: Guidelines for the dermatologist. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23:1275-9.
88. BOREL J.F., RYFFEL B.: The Mechanism of Action of Cyclosporin: A Continuing Puzzle. In: *Cyclosporin in Autoimmune Diseases*. 1st International Symposium, Basilea 1985, March. Ed. Rosemarie Schindler, Berlin, Heidelberg, Nueva York, Tokyo. Springer-Verlag, 1985; pp:24-32.
89. BOREL J.F., RUEGGER A., STAHELIN H.: A new Antilymphocytic Agent. *Experientia*, 1976; 32:777. Abstract.
90. CALNE R.Y., WHITE D.J.G., THIRU S., ET AL.: Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors *Lancet* 1978; 2:1323-1327.

91. POWLES R.L., BARRETT A.J., CLINK H., ET AL.: Ciclosporin A for the treatment of Graft-versus-host disease in man. *Lancet* 1978; 2:1327-1331.
92. BOREL J.F., FEURER C., MAGNEE C., STAHELIN H.: Effects of the new anti-lymphocytic peptide cyclosporin A in animals. *Immunology* 1977; 32:1017-1025.
93. SHEVACH E.M.: The effects of cyclosporin A on the immune system. *Ann.Rev.Immunol.* 1985; 3:397-423.
94. KAHAN B.D., YOSHIMURA N., PELLIS N.R., ET AL.: Pharmacodynamics of Cyclosporine. *Transplant Proc.* 1986; (Suppl.5):238-251.
95. SCHREIER M.H.: Interleukin-2 and its role in the immune response. *Triangle* 1984; 23:141-152.
96. LeGRUE S.J., FRIEDMAN A.W., KAHAN B.D.: Binding of cyclosporine by human lymphocytes and phospholipid vesicles. *J Immunol* 1983; 131(2):712-718.
97. RYFFEL B., GOTZ U., HEUBERGER B.: Cyclosporin receptors on human lymphocytes. *J Immunol* 1982; 129(5):1978-1982.
98. RUSSELL D.H., MATRISIAN L., KIBLER R., ET AL.: Prolactin receptors on human lymphocytes and their modulation by cyclosporine. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 121:899-906.
99. LINZER D.I.H., NATHANS D.: Nucleotide sequence of a growth-related mRNA encoding a member of the prolactin-growth hormone family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81:4255-4259.
100. HESS A.D.: Effect of Interleukin 2 on the Immunosuppressive Action of Cyclosporine. *Transplantation* 1985; 39:62-68.

101. SZAMEL M., BERGER P., RESCH K.: Inhibition of lymphocyte activation by cyclosporin A-interference with the early activation of plasma membrane phospholipid metabolism. *Immunobiology*, 1984; 168:18-19.
102. COLOMBANI P.M., ROBB A., HESS A.D.: Cyclosporine A binding to calmodulin:a possible site of action on T lymphocytes. *Science* 1985; 228:337-339.
103. HANDSCHUMACHER R.E., HARDING M.W., RICE J., ET AL.: Cyclophilin:A specific cytosolic binding protein for Cyclosporin A. *Science* 1984; 226:544-547.
104. ELLIOT J.F., LIN Y., MIZEL S.B., ET AL.: Induction of Interleukin 2 messenger RNA inhibited by cyclosporin A. *Science* 1984; 226:1439-1441.
105. KRONKE M., LEONARD W.J., DEPPER J.M., ET AL.: Cyclosporin A inhibits T-cell growth factor gene expression at the level of mRNA Transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(16):5214-5218.
106. GRANELLI-PIPERNO A.: Lymphokine gene expression in vivo is inhibited by cyclosporine A. *J Exp Med* 1990; 171:533-544.
107. BOREL J.F.: Mecanismo de acción y bases para el empleo de la Ciclosporina A en la psoriasis. *Actas Dermo-Sif.* 1992; 83(Supl):2-7.
108. TAKAHASHI N., HAYANO T., SUZUKI M.: Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase is the cyclosporin A-binding protein cyclophilin. *Nature* 1989; 337:473-475. Citado por Griffiths C.E.M. and Voorhees J.J.: Cyclosporine A in the treatment of psoriasis:A clinical and mechanistic perspective. *J Invest Dermatol* 1990; 95:53S-55S.
109. TILLO T., GRAS J.: Estudio de la acción de la ciclosporina A sobre el **priming** para una respuesta secundaria. *Inmunología*, 1990; 9(1):20-25.

110. FAN T.P.D. AND LEWIS G.P.: Mechanism of cyclosporin A-induced inhibition of prostacyclin synthesis by macrophages. *Prostaglandins* 1985; 30:735-747.
111. FURUE M., AND KANTZ SI.: The effect of cyclosporine on epidermal cells.I. Cyclosporine inhibits accessory cell functions of epidermal Langerhans cells in vitro. *J.Immunol.* 1988; 140:4139-4143.
112. DEMIDEM A., TAYLOR J.R., GRAMMER S.F., STREILEIN J.W.: Comparison of effects of transforming growth factor-beta and cyclosporin A on antigen-presenting cells of blood and epidermis. *J Invest Dermatol* 1991; 96:401-407.
113. ZOJA C., FURCI L., GHILARDI F., ET AL.: Cyclosporin induced endothelial cell injury. *Lab. Invest.* 1986; 55:455-462.
114. FURUE M., GASPARI A.A., KATZ S.I.,: The effect of Cyclosporin A on Epidermal Cells.II. Cyclosporin A inhibits proliferation of normal and transformed keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1988; 90:796-800.
115. DYKES P.J., BRUNT J. AND MARKS R.: The effect of cyclosporin on human epidermal keratinocytes in vitro. *Br J Dermatol* 1990; 122:173-180.
116. SHARPE GR. AND FISHER C.: Time-dependent inhibition of growth of human keratinocytes and fibroblasts by cyclosporin A:effect on keratinocytes at therapeutic blood levels. *Br J Dermatol.* 1990; 123:207-213.
117. SHARPE R.J., ARNDT K.A., BAUER S.I., MAIONE T.E.: Cyclosporine inhibits basic fibroblast growth factor-driven proliferation of human endothelial cells and keratinocytes. *Arch Dermatol.* 1989; 125:1359-1362.

118. NICKOLOFF B.J., FISHER G.J., MITRA R.S., AND VOORHEES J.J.: Additive and synergistic antiproliferative effects of cyclosporin and gamma interferon on cultured human keratinocytes. *Am.J.Pathol.* 1988; 131:12-18.
119. KANITAKIS J. AND THIVOLET J.: Ciclosporina. Un inmunosupresor que afecta a la proliferación celular epitelial. *Arch Dermatol.Ed.española* 1990; 1(4):238-246.
120. KHANDKE L., KRANE J.F., ASCHINOFF R., ET AL.: Cyclosporine in psoriasis treatment. Inhibition of keratinocyte cell cycle progression in G1 independent of effects on transforming growth factor α /epidermal growth factor receptor pathways. *Arch Dermatol* 1991; 127:1172-1179.
121. KRUPP P. AND MONKA C.: Side-effect profile of cyclosporin A in patients treated for psoriasis. *Br J Dermatol* 1990; 122(Suppl.36):47-56.
122. FEUTREN G., ABEYWICKRAMA K., FRIEND D. AND VON GRAFFENRIED B.: Renal function and blood pressure in psoriatic patients treated with cyclosporin A. *Br J Dermatol* 1990; 122(Suppl.36):57-69.
123. MASON J.: Renal side-effects of cyclosporin A. *Br J Dermatol* 1990; 122(Suppl.-36):71-77.
124. MASON J. AND MOORE L.C.: Indirect assessment of renal dysfunction in patients taking cyclosporin A for autoimmune diseases. *Br J Dermatol* 1990; 122(Suppl.36):79-84.
125. FEUTREN G., FRIEND D., TIMONEN P., ET AL.: Predictive value of cyclosporin A level for efficacy or renal dysfunction in psoriasis. *Br J Dermatol* 1990; 122(Suppl.36):85-93.

126. INTERNATIONAL KIDNEY BIOPSY REGISTRY OF CYCLOSPORIN A (SANDIMMUN[®]) IN AUTOIMMUNE DISEASES.: Kidney biopsies in control or cyclosporin A-treated psoriatic patients. *Br J Dermatol* 1990; 122(Suppl.36):95-100.
127. WOLVERTON S.E.: Systemic drug therapy for psoriasis. *Arch Dermatol* 1991; 127:565-568.
128. ALEGRE V., CALATAYUD A., PUJOL C., ET AL.: Neoplasias cutáneas múltiples en un portador de trasplante renal en tratamiento con ciclosporina. *Actas Dermo-Sif.* 1989; 80: 471-473.
129. MEROT Y., MIESCHER P.A., BALSIGER F., ET AL.: Cutaneous malignant melanomas occurring under cyclosporin A therapy:a report of two cases. *Br J Dermatol* 1990; 123:237-239.
130. BAGOT M., WECHSLER J., PERRUSSEL M., ET AL.: Pseudolymphome induit par la ciclosporine. *Ann.Dermatol. Venereol.*1989; 116:894-896.
131. PALESTINE A.G., NUSSENBLAT R.B., CHAN C-C.: Side effects of systemic cyclosporine in patients not undergoing transplantation. *Am J Med* 1984; 77:652-656. Citado por: Biren C.A., Barr R.J.: Dermatologic applications of cyclosporine. *Arch Dermatol* 1986; 122:1028-1032.
132. HANNAM-HARRIS A.C., TAYLOR D.S. AND NOWELL P.C.: Cyclosporin A directly inhibits human B cell proliferation by more than a single mechanism. *J Leukocyte Biol.*1985; 38: 231-239. Citado por Freinkel R.K: Cyclosporine A. En: *Psoriasis*. Ed.Röegnick H.H. and Maibach H.I.Marcel Dekker Inc. New York, 1991:593-600.

133. MROWIETZ U. AND CHRISTOPHERS E.: Effects of cyclosporine A treatment on psoriasis. I: Influence of low-dose cyclosporine on human monocyte function in vitro. *Transplant Proc.* 1988; 20(Suppl.4):53-57.
134. COOPER K.D., BAADSGAARD O., ELLIS C.N., ET AL.: Mechanisms of cyclosporine A inhibition of antigen-presenting activity in uninvolved and lesional psoriatic epidermis. *J Invest Dermatol* 1990; 94:649-656.
135. HO V.C., GRIFFITHS C.E.M., ELLIS C.N., ET AL.: Intralesional cyclosporine in the treatment of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22:94-100.
136. NIWA Y., KANO T., TANIGUCHI S., ET AL.: Effect cyclosporin A on the membrane-associated events in human leukocytes with special reference to the similarity with dexamethasone. *Biochem. Pharmacol.* 1986; 35:947-951.
137. FINZI A.F., MOZZANICA N., CATTANEO A., ET AL.: Effectiveness of cyclosporine treatment in severe psoriasis: A clinical and immunologic study. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21:91-7.
138. BAKER B.S., POWLES A.V., SAVAGE C.R., ET AL.: Intralesional cyclosporin in psoriasis: effects on T lymphocyte and dendritic cell subpopulations. *Br J Dermatol* 1989; 120: 207-213.
139. GUPTA A.K., BAADSGAARD O., ELLIS C.N., VOORHEES J.J., COOPER K.D.: Lymphocytes and macrophages of the epidermis and dermis in lesional psoriatic skin, but not epidermal Langerhans cells, are depleted by treatment with cyclosporin A. *Arch Dermatol Res* 1989; 281:219-226.
140. GRIFFITHS C.E.M. AND VOORHEES J.J.: Cyclosporine A in the treatment of psoriasis: A clinical and mechanistic perspective. *J Invest Dermatol* 1990; 95:53S-55S.

141. CORMANE R.H., HUNYADI J., HAMERLINCK F.: The role of lymphoid cells and polymorphonuclear leukocytes in the pathogenesis of psoriasis. *J Dermatol.*1976; 3:247-259.
142. GUILHOU J.J., MEYNADIER J., CLOT J.: New concepts in the pathogenesis of psoriasis. *Br J Dermatol.*1978; 98:585-592.
143. DUSTIN M.L., SINGER K.H., TUCK D.T. AND SPRINGER T.A.: Adhesion of T lymphoblasts to epidermal keratinocytes is regulated by interferon τ and is mediated by intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1). *J. Exp. Med.*1988; 167: 1323-1340.
144. VEJLSGAARD G.L., RALFKIAER E., AVNSTORP C. ET AL.: Kinetics and characterization of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression on keratinocytes in various inflammatory skin lesions and malignant cutaneous lymphomas. *J Am Acad Dermatol.*1989; 20:782-90.
145. CHEN Z., FOCA A., NORTON-KOGER B., DOBSON R.L., RUST P. AND LA VIA M.F.: Mononuclear cell phenotypes in patients with psoriasis. *Dermatologica* 1986; 172:291-297.
146. PRENS E.P., BENNE K., VAN JOOST T. AND BENNER R.: The autologous mixed epidermal cell-T lymphocyte reaction is elevated in psoriasis: A crucial role for epidermal HLA-DR+/CD1a- antigen-presenting cells. *J Invest Dermatol* 1991; 96:880-887.
147. ANDARY M., GUILLOT B., MARTINEAU V., GUILHOU J-J. AND CLOT J.: Effect of cyclosporine treatment on peripheral blood and epidermal T cells from patients with psoriasis. *J Invest Dermatol* 1990; 95(4):460 (Abstract).

148. KASTELER J.S., PETERSEN M.J., VANCE J.E. AND ZONE J.J.: Circulating activated T lymphocytes in autoeczematization Arch Dermatol. 1992; 128:795-798.
149. HAMZA M.: Pathologie et physiopathologie de la Maladie de Behçet. Rev de Rhum 1988; 55:771-778.
150. LeROY F., BROWN K.A., GREAVES M.W., ET AL.: Blood mononuclear cells from patients with psoriasis exhibit an enhanced adherence to cultured vascular endothelium. J Invest Dermatol 1991, 97:511-516.
151. NICKOLOFF B.J., GRIFFITHS C.E.M., BARKER J.N.W.N.: The role of adhesion molecules, chemotactic factors, and cytokines in inflammatory and neoplastic skin disease-1990 update. J Invest Dermatol 1990; 94:151S-157S.
152. PETZELBAUER P., STINGL G., WOLFF K. AND VOLC-PLATZER B.: Cyclosporin A suppresses ICAM-1 expression by papillary endothelium in healing psoriatic plaques. J Invest Dermatol 1991; 96:362-369.
153. EEDY D.J., BURROWS D., BRIDGES J.M., JONES F.G.C. : Clearance of severe psoriasis after allogenic bone marrow transplantation. Br Med J. 1990; 300:908.
154. VAREY A.M., CHAMPION B.R., COOKE A.: Cyclosporine affects the function of antigen-presenting cells. Immunol. 1986; 57:111-114.
155. FURUE M. AND KATZ S.I.: Cyclosporine A inhibits antigen-presenting and accessory cell functions of Langerhans cells. Clin. Res. 1987; 35:684A.
156. MURDOCH M., NAVSARIA H., BALKWELL F. ET AL.: Tumour necrosis factor and psoriasis. Br J Dermatol. 1988; 119(Suppl.33):46 (Abstract).

157. KROCZEK R.A., BLACK C.D.V., BARBET J. AND SHEVACH E.M.: Mechanism of action of cyclosporin A in vivo.I.Cyclosporin A fails to inhibit T lymphocytes activation in response to alloantigens. J Immunol.1987; 139(11):3597-3603.

158. HUNYADI J., DOBOZY A., KENDERESSY A.S. AND SIMON N.: Suppressor-function of peripheral blood mononuclear cells in patients with psoriasis vulgaris. J Invest Dermatol 1980; 75:217-218.

159. SAUDER D.N., BAILIN P.L., SUNDEEN J., KRAKAUER R.S.: Suppressor cell function in psoriasis. Arch Dermatol 1980; 116:51-55.

160. KRUEGER G.G., JEDERBERG W.W., OGDEN B.E., REESE D.L.: Inflammatory and immune cell function in psoriasis:II. Monocyte function, lymphokine production. J Invest Dermatol. 1978; 71:195-201.

161. COOPER K.D., VOORHEES J.J., FISHER G.J. ET AL.: Effects of cyclosporine on immunologic mechanisms in psoriasis. J Am Acad Dermatol. 1990; 23:1318-28.

162. BOS J.D.: Pathogenesis. Symposium Psoriasis. 18TH World Congress of Dermatology. New York, 1992.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Facultad de Medicina

Don Tomás Cabedo

Parámetros inmunológicos, en pacientes prionicos
proves, tratados con Colcepride A.

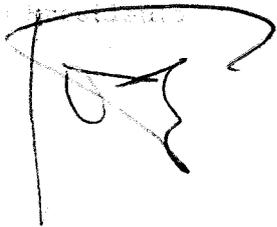
Septo Cum Laude

5

Octubre

93

El Vocal
Sindical



El Vocal,
M. Avou

El Decano,
