

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**PROGRAMA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA**



**EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO DE LA PSORIASIS CON ETANERCEPT Y  
DETERMINACIÓN DE LAS MUTACIONES EN EL GEN CARD14 EN  
PACIENTES DEL SERVICIO DE DERMATOLOGÍA DEL H.N.C.A.S.E.-  
AREQUIPA, AÑOS 2009- 2014**

Tesis presentada por la Bachiller:

**DÁNNAE TERESA PAZ MELGAR**

Para obtener el Título Profesional de:

**MÉDICO CIRUJANO**

**AREQUIPA- PERÚ**

**2015**

## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo en primer lugar a Dios quien me permitió tener vida suficiente como para poder llegar a este momento tan importante, quien me dio fuerza y vocación como para poder escoger esta noble profesión. A mi padre por todas sus enseñanzas, por haber sido mi apoyo constante, mi fuerza en los momentos de debilidad, por ayudarme a salir siempre adelante pese a las dificultades. A mi madre por su apoyo constante, por su preocupación permanente, por nunca haberme dejado sola. A mis pacientes, por haberme enseñado a amar mi profesión de corazón, por sus sonrisas, por su gratitud y por su perseverancia.*

## AGRADECIMIENTO

*Un especial agradecimiento a la Dra. Lilia Zapata Cárcamo, por la sugerencia del tema de Tesis. Al Dr. Benjamín Paz Aliaga por la ayuda en el conocimiento de la Biología Molecular y Dr. César Bernabé Ortiz por su asesoría y por haberme permitido trabajar en su laboratorio el aspecto experimental. Sin ellos, este logro no habría sido posible.*

## ÍNDICE GENERAL

Glosario .....	1
Relación de tablas y figuras .....	3
Resumen .....	6
Abstract .....	8
Introducción .....	10
Marco Teórico .....	12
1. La psoriasis como enfermedad dermatológica .....	12
2. Avances en el conocimiento de las bases inmunológicas y bioquímicas de la enfermedad .....	23
3. Aplicación de los avances científicos en el estudio del tratamiento de la psoriasis .....	28
4. Etanercept en el tratamiento de la psoriasis .....	34
5. Estudios sobre la Biología Molecular de la enfermedad .....	37
Capítulo I: Material y métodos .....	40
Capítulo II: Resultados .....	52
Capítulo III: Discusión y Comentarios .....	77
Capítulo IV: Conclusiones .....	84
Recomendaciones .....	85
Bibliografía .....	86
Anexos .....	92

## GLOSARIO

<b>AINES:</b>	Antiinflamatorio no esteroideo
<b>AMPc:</b>	AMP cíclico
<b>B- bloqueantes:</b>	Bloqueadores b- adrenérgicos
<b>CARD14:</b>	Gen que codifica para una proteína 14 conteniendo un dominio para el reclutamiento de las caspasas
<b>DLQI:</b>	Calidad de vida en dermatología
<b>DNA:</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>GM- CSF:</b>	Factor estimulador de colonias granulocito macrófago
<b>GMPc:</b>	GMP cíclico
<b>HLA:</b>	Antígeno leucocitario humano
<b>IFN gamma:</b>	Interferón gamma
<b>IFN-a:</b>	Interferón alfa
<b>IL 12:</b>	Interleuquina 12
<b>IL23:</b>	Interleuquina 23
<b>IL6:</b>	Interleuquina 6
<b>IL8:</b>	Interleuquina 8
<b>IM:</b>	Intramuscular
<b>iNOS:</b>	Óxido nítrico sinteasa
<b>IV:</b>	Intravenosa
<b>LPS:</b>	Lipopolisacáridos
<b>LT CD4+:</b>	Linfocitos T CD4 activos
<b>LT CD8+:</b>	Linfocitos T CD8 activos
<b>LT:</b>	Leucotrieno
<b>LTh1:</b>	Linfocito T helper tipo 1

<b>LTh17:</b>	Linfocito t helper tipo 17
<b>LTh2:</b>	Linfocito T helper tipo 2
<b>MAGUK</b>	Guanilato kinasas asociadas a membrana
<b>MAPK:</b>	Proteino quinasa activada por mitógenos
<b>Mem-TNF-R1:</b>	Receptor del factor de necrosis tumoral tipo 1 unido a membrana
<b>NF- Kb:</b>	Factor de transcripción kappa beta
<b>NGF:</b>	Factor de crecimiento neuronal
<b>p:</b>	Brazo largo del cromosoma
<b>PAF:</b>	Factor activador de plaquetas
<b>PAMPs:</b>	Patrones moleculares asociados a patógenos
<b>PASI:</b>	Índice de área y severidad de la psoriasis
<b>PCR:</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>PG:</b>	Prostaglandinas
<b>PUVA:</b>	Fotoquimioterapia
<b>q:</b>	Brazo corto del cromosoma
<b>RANTES:</b>	Regulada por la activación normal de la célula T expresada o secretada (Citoquina L5)
<b>SC:</b>	Subcutánea
<b>s-TNF-R1:</b>	Receptor del factor de necrosis tumoral tipo 1 libre en solución
<b>TLR:</b>	Receptor Toll Like (receptor tipo Toll)
<b>TNF-a R:</b>	Receptor del factor de necrosis tumoral alfa
<b>TNF-a:</b>	Factor de necrosis tumoral alfa
<b>TNF-R2:</b>	Receptor del factor de necrosis tumoral tipo 2
<b>VEGF:</b>	Factor de crecimiento vasculo- endotelial
<b>VIP:</b>	Péptido vasoactivo intestinal

## RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

### 1. Relación de Figuras:

**Figura 1:** Bases Inmunológicas del Desarrollo de la Psoriasis

**Figura 2:** Modelo que explica la acción directa del Gen CARD 14 en la etiopatogenia de la psoriasis y relación con el mecanismo de acción del Etanercept

**Figura 3:** Toma de muestra de mucosa oral mediante la técnica del Hisopado

**Figura 4:** Electroforesis en agarosa del ADN purificado

**Figura 5:** El gen CARD14 con sus 21 exones

**Figura 6:** Secuencia genómica del fragmento amplificado

**Figura 7:** Electroforesis en gel de poliacrilamida de los productos de amplificación por PCR

**Figura 8:** Distribución de los pacientes por género

**Figura 9:** Distribución de los pacientes por grupo étnico

**Figura 10:** Distribución de los pacientes por el tiempo de evolución de la enfermedad (en años)

**Figura 11:** Características clínicas al final del tratamiento

**Figura 12:** Otras manifestaciones clínicas de la psoriasis

**Figura 13:** PASI Basal

**Figura 14:** PASI Final

**Figura 15:** PASI Basal vs PASI Final

**Figura 16:** DLQI Basal vs DLQI Final

**Figura 17:** Efectos adversos de tipo infeccioso relacionados al uso de Etanercept

**Figura 18:** Relación de procesos neoproliferativos y el uso de Etanercept

**Figura 19:** Tratamientos previos recibidos

**Figura 20:** Distribución de los pacientes por género

**Figura 21:** Distribución de los pacientes por grupo étnico

**Figura 22:** Distribución por tiempo de evolución de la enfermedad (en años)

- Figura 23:** Otras manifestaciones clínicas de la psoriasis
- Figura 24:** PASI Basal vs PASI Final
- Figura 25:** DLQI Basal vs DLQI Final
- Figura 26:** Efectos adversos de tipo infeccioso relacionados al uso de Etanercept
- Figura 27:** Tratamientos previos recibidos
- Figura 28:** Cromatograma que permitió secuenciar del fragmento seleccionado del Gen CARD14
- Figura 29:** Secuencia del fragmento amplificado del exón 3 e inicio del intrón 3 del gen CARD14
- Figura 30:** Secuencia estándar utilizada (secuencia del fragmento homólogo del homo sapiens) y presencia de las mutaciones
- Figura 31:** Árbol de diferencias entre las secuencias del fragmento del gen CARD14 amplificado tanto de los pacientes como de los controles

## 2. Relación de Tablas:

- Tabla 1:** Incidencia de la Psoriasis en Latinoamérica
- Tabla 2:** Principales Inmunosupresores y retinoides usados en el tratamiento de la Psoriasis
- Tabla 3:** Fármacos que actúan por antagonizar al Factor de Necrosis Tumoral
- Tabla 4:** Fármacos Anticitoquinas
- Tabla 5:** Fármacos Anti células T
- Tabla 6:** Características clínicas y prevalencia (previas al tratamiento con Etanercept)
- Tabla 7:** Análisis estadístico de las diferencias entre el PASI Basal y Final a través de la prueba de T para media de dos muestras emparejadas

**Tabla 8:** Análisis estadístico de las diferencias entre el DLQI Basal y Final a través de la prueba T para media de dos muestras emparejadas

**Tabla 9:** Otros efectos adversos relacionados al uso de Etanercept

**Tabla 10:** Características clínicas (previas al tratamiento con Etanercept)

**Tabla 11:** Otros efectos adversos relacionados al uso de Etanercept



## RESUMEN

Se estudió la eficiencia del tratamiento de la psoriasis con etanercept en pacientes del Servicio de Dermatología del Hospital Nacional Carlos Alberto Seguí Escobedo a través de la determinación del PASI y del DLQI. Adicionalmente se relacionaron los resultados obtenidos con la presencia de mutaciones en un sector seleccionado del gen CARD14.

Se revisaron las historias clínicas de 17 pacientes que correspondían a los que habían recibido etanercept como terapia monosistémica a la dosis de 25 o 50 mg dos veces por semana. Se usaron los valores del PASI y del DLQI que figuraban en las historias clínicas antes y después del tratamiento. Del grupo se seleccionaron a nueve pacientes y con su consentimiento informado se les tomó una muestra de mucosa oral mediante la técnica del hisopado. En las muestras se aisló el ADN y se amplificó mediante PCR un sector del gen CARD14 que incluía la parte final del exón 3 y el inicio del intrón 3, que se considera altamente sensible a mutaciones relacionadas con la psoriasis. Las secuencias amplificadas se enviaron al Departamento de Biología Molecular del Hospital General de Massachusetts para su secuenciación, lo que sirvió para la detección de las mutaciones.

Con relación a la determinación del PASI, se encontró una tasa alta de respuesta al tratamiento con etanercept en los pacientes con psoriasis, con valores de P75 y P90 de 58% y 90% respectivamente. En lo que respecta al DLQI, el promedio previo al tratamiento fue de 25.77 (mala calidad de vida) y disminuyó a 3.6 después del tratamiento (calidad de vida satisfactoria). En general el fármaco fue bien tolerado por los pacientes y sólo se detectaron algunas infecciones intercurrentes que podrían tener cierta relación. No se encontraron en nuestros pacientes las mutaciones 349G>A y 354G>A descritas como asociadas a la enfermedad, en cambio encontramos en un paciente del grupo estudiado una mutación no descrita anteriormente que denominamos como 349-2 G>A localizada a solo dos nucleótidos de la primera mutación en el gen CARD14 descrita en psoriasis y exactamente del mismo tipo (transición en donde el cambio es de guanina

por adenina). Las otras mutaciones detectadas están más alejadas de la zona considerada como sensible a mutaciones asociadas a la psoriasis y parecen estar más relacionadas a factores étnicos que a la misma enfermedad ya que se detectaron en la misma proporción en los pacientes y en los controles.

Se comenta la alta eficacia encontrada en el tratamiento con etanercept de los pacientes estudiados y su buena tolerancia. Igualmente, la ausencia de las mutaciones descritas como asociadas a la psoriasis por otros autores y la detección de una nueva mutación, a solo dos nucleótidos de una de las descritas y con iguales características, lo que abre la posibilidad de futuros estudios.

**PALABRAS CLAVE:** Psoriasis, etanercept, gen CARD14, PASI, DLQI



## ABSTRACT

We studied the efficiency of the treatment of psoriasis with etanercept in patients of the Service of Dermatology of the Hospital National Carlos Alberto Seguin Escobedo through the determination of the PASI and the DLQI. Additionally the results obtained with the presence of mutations in a selected sector CARD14 gene related.

We reviewed the medical histories of 17 patients who were those who had received etanercept as monosystemic therapy at a dose of 25 or 50 mg twice a week. The values of the PASI and the DLQI were contained in the medical records before and after the use of the treatment with Etanercept. The group selected was conformed by nine patients who had previously signed the informed consent. We took a sample of oral mucosa using a swab. DNA was isolated in samples and was amplified by PCR from a sector of CARD14 gene that included the final part of exon 3 and the beginning of the intron 3, which is considered highly sensitive to mutations related to psoriasis. Amplified sequences were sent to the Department of Molecular Biology of the General Hospital of Massachusetts for its sequencing, which served for the detection of mutations.

With regard to the determination of the PASI, a high rate of response to treatment was found with etanercept in patients with psoriasis, with values of PASI75 and PASI90 of 58% and 90% respectively. In regards to the DLQI, prior to the treatment averaged 25.77 (bad life quality) and decreased 3.6 after treatment (satisfactory life quality). Overall the drug was well tolerated by patients and were only detected some intercurrent infections that could have some relationship. We do NOT found in our patients mutations 349G >A and 354G >A described as associated with the disease, instead we found in a patient of the group studied a mutation not described previously. We called it 349-2 G>A located only two nucleotides before the first mutation in the gene CARD14 described in psoriasis and exactly of the same type (transition where the change is adenine to guanine). Other mutations detected are furthest away from the area considered as sensitive to

mutations associated with psoriasis and seem to be more related to ethnic factors rather than the disease itself. Also this mutations were detected in the same proportion in patients and controls.

We also describe the high efficiency found in the treatment with etanercept in the patients and also the well tolerated treatment. Similarly, the absence of the mutations described as associated with psoriasis by other authors and the detection of a new mutation, to only two nucleotides of a described and with the same characteristics, which opens up the possibility of future studies.

**KEY WORDS:**

Psoriasis, etanercept, CARD14 gene, PASI, DLQI



## INTRODUCCION

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria, crónica, hiperproliferativa, no contagiosa y recidivante de la piel. Su causa está poco definida, su patogenia es multifactorial, es mediada inmunológicamente y se caracteriza por la presencia de pápulas y placas eritematoescamosas. Se estima que entre 2 a 3% de la población mundial se encuentra afectada y en nuestro país se ha calculado que la padecen cerca de medio millón de personas.

Los avances logrados en la biología molecular y en el conocimiento de las bases inmunológicas de la enfermedad han permitido en los últimos años el diseño de un grupo de fármacos, denominados fármacos biológicos, que se suman al arsenal terapéutico que tiene la enfermedad y que parecen superar con ventaja a aquellos usados en el tratamiento tradicional. Estos nuevos fármacos antipsoriásicos corresponden mayormente a anticuerpos monoclonales o a proteínas recombinantes y requieren aún de mayores estudios para reforzar su eficacia terapéutica y dar la confianza necesaria a los especialistas y a los mismos pacientes de disponer de fármacos efectivos y bien tolerados.

Luego de la reciente descripción de la existencia de mutaciones en el gen CARD14 relacionadas con la psoriasis, resulta importante investigar su presencia en relación con la enfermedad en nuestro país y con la severidad de la misma. De otro lado, también resulta atractivo relacionar las mutaciones que se pudieran encontrar con la respuesta al tratamiento biológico, específicamente con el etanercept, que interacciona con el receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR1), el que es precisamente codificado por el gen CARD14.

En este trabajo reportamos los resultados obtenidos al estudiar la eficacia del tratamiento de la psoriasis moderada a severa con el etanercept en el Servicio de Dermatología del HNCASE haciendo la revisión retrospectiva de las historias clínicas desde el año 2009 al 2014. La eficacia

se valora a través de la medida del índice de área y severidad de la psoriasis (PASI) y del índice dermatológico de calidad de vida (DLQI). Junto a lo anterior se reporta los efectos adversos que el tratamiento podría determinar. Se complementa este estudio con la detección de mutaciones en un sector del gen CARD14, que incluye la parte final del exón 3 y la inicial del intrón 3, para asociarla con la enfermedad psoriásica y con la respuesta al etanercept. De esta forma, este estudio de nivel cuasi experimental, descriptivo y analítico, resulta ser novedoso pues a la actualidad, no se cuenta con estudios similares en nuestro medio



## MARCO TEÓRICO

### 1. LA PSORIASIS COMO ENFERMEDAD DERMATOLÓGICA

La psoriasis es una enfermedad crónica, inflamatoria, hiperproliferativa, recidivante, no contagiosa, de patogénesis multifactorial y mediada inmunológicamente.

La mayor parte de los tipos de psoriasis cursan con brotes recurrentes (de semanas o meses) y con períodos de remisión incluso completa (Bor Ter A, 1999)

Se caracteriza por la presencia de pápulas y placas eritematoescamosas bien definidas, localizadas preferentemente en codos, rodillas, región sacra y cuero cabelludo, aunque puede afectar cualquier otra zona o toda la superficie cutánea. Se ha descrito que un 5- 30% de individuos afectados presentan artritis crónica (artritis psoriásica) (Moll JM, 1973). El impacto de la psoriasis en la calidad de vida es remarcable y se compara al que producen varias enfermedades crónicas, comprometiendo aspectos físicos, mentales y produciendo así mismo, discapacidad física y social (Bol Ter A, 1999).

La severidad de la psoriasis se mide por el porcentaje del cuerpo afectado por las placas psoriaticas. Se considera leve cuando el área comprometida es menor al 2%, moderada cuando está entre 2 al 10% y severa cuando supera el 10% 54 (Lebwohl M, 2004). Existe otra clasificación que divide a la Psoriasis en leve (menos del 10%), moderada (10-25%) y severa (mayor 25%) (Ochaita L, 2010)

#### 1.1. Historia

Es posible que alguna de las descripciones bíblicas (Antiguo Testamento) de la lepra, hiciesen referencia en realidad a formas graves de psoriasis. Aparentemente fue Celso quien hizo la primera

descripción de esta enfermedad y Galeno (129-99 a.C.) acuñó el término de psoriasis por primera vez para aquellas enfermedades caracterizadas por descamación y picor de piel, además ya planteaba una descripción detallada de la misma. También ha sido denominada como impétigo, lopoí, alphas, usagro, etc. Anteriormente, Hipócrates(460-377 a.C), conocido como el padre de la medicina, erróneamente la enlazó con la lepra, a tal punto que varios psoriásicos fueron quemados vivos al creerlos leprosos.

Plenk en el siglo XVIII recuperó el término de psoriasis y fue William (1809) quien amplió los estudios correspondientes acerca de dicha enfermedad. Von Hebra (1841), separó completamente la psoriasis de la lepra. Koebner (1879) excéntrico dermatólogo alemán muy conocido por su trabajo en micología, designa como “fenómeno de Koebner” a la aparición de lesiones propias de determinadas dermatosis (psoriasis, liquen plano, pitiriasis rubra pilaris, enfermedad de Darier, molluscum, vitiligo, xantomas, vasculitis, síndrome de Sweet) en las zonas de presión o traumatismo.

Recién en el siglo XX, se propusieron los tratamientos actuales para la enfermedad. En la década de los 20, se comprobó la efectividad de la luz solar como terapia. En la década de los 50, se empezó a emplear corticoesteroides tanto de forma tópica como sistémica. En la década de los 60 se descubrió la hidroxiurea, en los 70 la terapia PUVA y en los 80 el metotrexato. Es recién en el presente siglo que se introduce la terapia biológica. Actualmente es la psoriasis la forma de dermatitis más estudiada y así a inicios del presente siglo ya se reportaban más de 10,000 publicaciones sobre la enfermedad. Si bien en la actualidad se ha avanzado bastante en el conocimiento de su etiopatogenia, de manera especial en base a los estudios de la inmunología y biología molecular de la enfermedad, aún queda mucho por esclarecer.

## 1.2. Prevalencia.

Afecta del 1 al 3% de la población mundial. Se estima una prevalencia en EEUU de 4.6%. En la población africana, afroamericana y asiática, se calcula un aproximado de 0.4%. En un Simposio sobre la psoriasis, realizado en Dallas, Texas en el 2009, el IPC (Comité Internacional de Psoriasis) se presentó por primera vez, la comunidad de expertos en psoriasis un estimado puntual sobre las tasas de prevalencia de la psoriasis para Sudamérica y México (Tabla 1). Aunque los datos no son estadísticamente significativos, demuestran no obstante, que las tasas de prevalencia específicas de cada país son comparables, tanto dentro de la misma región geográfica como con los estimados actuales de casos en los Estados Unidos y Europa. En el caso de nuestro país se muestra una incidencia promedio de 2.5%.

**TABLA 1. INCIDENCIA DE LA PSORIASIS EN LATINOAMÉRICA.**

<b>PAISES</b>	<b>NUMERO DE ESTUDIOS</b>	<b>PROMEDIO - (DESVIACION ESTANDAR)</b>
Argentina	2	1.13 (0.18)
Brasil	2	2.50 (0.71)
Chile	2	2.00
Colombia	7	2.00
Écuador	2	2.75 (3.18)
México	5	2.90 (1.24)
Paraguay	1	1.00
Perú	2	2.50 (0.71)
Venezuela	3	2.50 (1.32)
<b>PROMEDIO REGIONAL</b>	<b>26</b>	<b>2.14 (0.92)</b>

Tomada de Revisión del IPS (Consejo Internacional sobre psoriasis) Enfoque en América Latina 5(3), Dic 2009

Se calcula que en nuestro país hay cerca de medio millón de pacientes con psoriasis.

### 1.3. Clasificación

#### a) Psoriasis pustulosa

Provocada principalmente por acción de algunos fármacos. Presenta a su vez una variedad generalizada conocida como Psoriasis de von Zumbusch. Se caracteriza por la presencia de pústulas estériles monomorfas que coalescen.

Puede comprometer seriamente el estado general del paciente requiriendo en algunas oportunidades manejo hospitalario.

#### b) Psoriasis no pustulosa

- **La psoriasis vulgar**, constituye la variedad más frecuente de psoriasis..Afecta básicamente áreas como codos, rodillas, zona lumbosacra, periumbilical, cuero cabelludo, uñas y área palmo-plantar. Comienza como una mácula eritematosa que evoluciona a pápula y finalmente a placa con escama blanco nacarada. Dentro de esta variedad de psoriasis se encuentran a su vez distintas formas clínicas (numular, rupoides, ostrácea)
- **La psoriasis en gota (guttata)**, afecta básicamente a niños entre 5 y 12 años de edad. Por lo general, precedida de proceso respiratorio alto (por lo general estreptocócico) 10 o 20 días antes de su aparición. Afecta principalmente el tronco (centrípeto). Puede evolucionar a psoriasis en placa en el 30% de los casos.
- **La psoriasis invertida o flexural**, generalmente afecta a adultos entre la quinta y séptima década de la vida. Se ha encontrado mayor prevalencia en mujeres postmenopáusicas.

Compromete áreas tales como región axilar, región submamaria y anogenital.

- **La psoriasis eritrodérmica**, constituye un 2% de las psoriasis. Puede producirse por extensión de una psoriasis vulgar o ser inicialmente eritrodérmica. Puede ir acompañada de síntomas sistémicos (fiebre, hipotermia, falla cardíaca, hipoalbuminemia, anemia, entre otros). Se ha visto su asociación con drogas (suspensión brusca de corticoides o de tratamiento biológico, uso de Metotrexate, acitretin), rayos ultravioleta, estrés e infecciones.

#### 1.4. Etiología

Se ha descrito la asociación de la psoriasis con diversos factores

##### a) Factores relacionados y metabólicos:

Se ha visto asociación con Enfermedad de Crohn (2.9 más frecuente que en la población general). Los pacientes con esta enfermedad presentan 7 veces más psoriasis que los controles (Gisondi P, 2012).

La psoriasis puede asociarse a obesidad, hipertensión arterial, resistencia a la insulina, perfil lipídico aberrante, síndrome metabólico y un elevado riesgo cardiovascular (Ponce- Rodriguez M y Mendoza R, 2012)

Diversas investigaciones sugieren que estas enfermedades comparten un vínculo causal y sinérgico que favorece el desarrollo de aterosclerosis y enfermedades autoinmunes como facetas de un trastorno sistémico inflamatorio que se expresa mediante el incremento de marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva. (Gisondi P, 2007)

## b) Factores Genéticos

Se han encontrado antecedentes familiares de psoriasis en un 36 a un 91% de los pacientes con esta patología. Se le ha atribuido un 41% de riesgo de padecer de psoriasis cuando ambos padres son psoriásicos, mientras que de solo tener un progenitor con psoriasis, el riesgo disminuye a 14% (Gisondi P, 2007)

Existe una asociación entre los diversos tipos de HLA (Antígeno leucocitario humano) y las distintas variedades de psoriasis así como su forma de aparición. Cabe citar:

- HLA-B13, B17, B37, Bw6, Cw6: se asocia a aparición precoz de lesiones
- HLA-B27: se asocia con psoriasis pustulosa y acrodermatitis crónica
- HLA-Aw19 y HLA-Bw35: se asocia con psoriasis pustulosa palmoplantar:
- HLA-B13 y HLA-B17: se asocia con psoriasis Guttata en niños y eritrodérmica:

Se han identificado 20 loci de susceptibilidad para la psoriasis en el genoma siendo el más estudiado el ubicado en el locus 2 (PSORS2) en la región 17q25.

## c) Factores Endocrinos:

Se ha encontrado:

- Asociación con la hipocalcemia: desencadenante de la forma pustulosa generalizada.
- Asociación con el inicio de la pubertad y de la menopausia.
- Agravamiento postparto y una mejoría durante el embarazo.
- Asociación con la resistencia a la Insulina: La insulina juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis

cutánea, además de la reparación tisular y maduración de queratinocitos en personas sin patología. (Dubois S., 2013). Así mismo, se ha visto un rol importante en la aparición, mantenimiento y perpetuación de las lesiones psoriáticas. Incrementa la producción de IL1b (Interleukina 1b) la cual a su vez, al actuar sobre los queratinocitos, induce alteración en su proliferación, diferenciación y maduración en pacientes psoriáticos. El aumento de IL1b induce mayor síntesis de insulina y esta a su vez, resistencia a la misma. (Dubois S, 2013)

**d) Factores Infecciosos:**

Se ha encontrado que es desencadenante de psoriasis en el 44% de los pacientes, un proceso respiratorio alto (especialmente faringitis estreptocócica). Así mismo se ha encontrado relación con la presencia de abscesos dentales, abscesos en región perianal e impétigo.

**e) Factores irritativos y traumatismos:**

Conocidos bajo el nombre de Fenómeno de Koebner a algún traumatismo que induzca la aparición de entidades dermatológicas, dentro de ellas la psoriasis. Generalmente de aparición entre las 2 a 6 semanas después del mismo.

Se la encuentra presente en el 25% de los pacientes. Otros factores asociados son las quemaduras solares (luz UV) en el 5% de los casos.

**f) Por fármacos:**

Una lista enorme de fármacos guardan relación con la aparición o la exacerbación del cuadro. Entre estos, se cuentan:

- Antimaláricos (Cloroquina e hidroxicloroquina)

- Carbonato de Litio
- AINES (Indometacina, Aspirina)
- Antihipertensivos (IECA, calcioantagonistas, beta bloqueadores)
- Yoduro de potasio
- Interferón
- Supresión de corticoides (Lázaro Ochaita P, 2001)
- Corticoesteroides sistémicos y tópicos en grandes áreas
- Terbinafina.
- Progesterona.
- Sales de oro.
- Imiquimod tópico.
- Otros.

**g) Por drogas:**

Se ha visto que el consumo crónico de alcohol y tabaco, podrían provocar o exacerbar un brote de enfermedad. En estudios realizados en nuestro país, se ha visto que con relación al uso y/o consumo de sustancias al momento de la consulta, 4,5% consumían alcohol y 1,8%, tabaco(Ponce- Rodriguez M, 2012)

**h) Estrés laboral, estado anímico:**

Generalmente se le ha relacionado con la presencia de estrés emocional (principalmente de tipo laboral). Es importante recalcar que pese a tal detalle, se ha podido encontrar en nuestro país, una prevalencia importante de dicha enfermedad en pacientes desempleados (Ponce- Rodriguez M y Mendoza R, 2012)

Se la encuentra asociada a depresión severa, ansiedad y cuadros de obsesión.

Así mismo, se ha demostrado que existe una asociación entre stress emocional, sistema nervioso periférico y la activación de lesiones psoriáticas. Durante el stress, las fibras nerviosas liberan neuropéptidos en grandes cantidades. Se han encontrado incluso, en las lesiones psoriáticas, gran expresión del factor de crecimiento nervioso (NGF) el cual a su vez, es inductor de la proliferación de queratinocitos, angiogénesis, activación de células T, expresión de moléculas de adhesión y proliferación nerviosa cutánea (Dubois S, 2013).

**i) Sexo:**

Mujeres y hombres son afectados en igual proporción. Sin embargo, algunos estudios de investigación reportan una discreta prevalencia en varones (Valdivia – Blondet L, 2008)

**1.5. Métodos de valoración de la Psoriasis:**

**a) Índice de Severidad y área de Psoriasis (PASI):**

El índice de severidad del área de psoriasis (PASI) es un elemento importante para la evaluación de la psoriasis pues tiene buena correlación con la severidad de la enfermedad (Gutiérrez Z, 2003). Fue creado en el año 1978 por Fredriksson y Pettersson con la intención de evaluar la respuesta al tratamiento de la psoriasis y comparar la misma con relación al tiempo.

Su **puntuación** varía entre 0 y 72. Se clasifica en:

- Leve: entre 0 y 20
- Moderada: entre 21 y 50
- Severa: entre 51 y 72.

(Ver Anexo 3 y 4)

**PASI 75 Y PASI 90:**

La FDA (Administración de drogas y alimentos de EEUU), estableció el PASI 75 como una estimativa práctica para valorar la eficacia de los nuevos fármacos en el tratamiento de la psoriasis y corresponde al porcentaje de pacientes que alcanzó una mejoría superior o igual al 75% del PASI anterior al tratamiento. Usando el mismo criterio, algunos autores hablan del PASI 90.

**b) Calidad de vida en Dermatología (DLQI):**

El DLQI (Finlay y Khan, 1994) fue el primer instrumento específico de medición de la calidad de vida en dermatología (Basra MKA, 2008). Consta de un cuestionario autoadministrado, corto, simple y fácilmente desarrollable compuesto de 10 preguntas. Se lo ha usado en pacientes dermatológicos por encima de los 16 años. (Ver Anexo5)

La versión original fue publicada con el objeto de evaluar el impacto en las actividades diarias de enfermedades inflamatorias de la piel como el acné, el eczema, la psoriasis y la urticaria (Lewis V, 2004).

Su utilidad se deriva de los relevantes efectos que una enfermedad cutánea pudiera tener en la apariencia general, las relaciones sociales, el estado psicológico y las actividades de la vida diaria pues necesariamente conllevan a la afectación psicológica y funcional del paciente (Badia X, 2004). Se ha descrito una alteración psicosocial, en las actividades de la vida diaria, el desempeño laboral, lo que conduce a su exclusión de ciertas ocupaciones, baja autoestima y conflictos internos con su autoimagen (Finlay AY, 1996). En diversos estudios se ha descrito que la afectación de la calidad de vida causada por una

enfermedad dermatológica es similar a la encontrada en enfermedades sistémicas como la hipertensión, la diabetes, el asma, la fibrosis quística y la depresión (Morgan M, 1997).

Se ha usado el DLQI para fines clínicos e investigativos en la evaluación de nuevas terapias dermatológicas, en la comparación de diferentes enfermedades cutáneas y en la medición del impacto en la actividad diaria de las enfermedades de la piel. La consistencia interna de esta escala es bastante buena, y ha tenido altos coeficientes de correlación de Spearman en su evaluación de fiabilidad prueba-reprueba (Lewis V, 2004).

Sin embargo, pese a su gran utilidad, se ha encontrado una falta de sensibilidad al cambio que se traducen en su dificultad para detectar mejoría en los pacientes y en la incapacidad para detectar cambios en la calidad de vida cuando varía la gravedad del cuadro clínico (Restrepo C, 2003)

Cada ítem tiene cuatro posibilidades de respuesta según la escala de Likert a saber: 0: no en absoluto/no relevante; 1: un poco; 2: mucho; 3: muchísimo.

El DLQI se calcula sumando los puntajes de cada pregunta, resultando en un mínimo de 0 y un máximo de 30. Los puntajes altos se corresponden con empeoramiento de la calidad de vida.

#### **Interpretación de los puntajes del DLQI:**

- Buena calidad de vida: DLQI 0-1
- Calidad de vida Satisfactoria: DLQI 2 – 5
- Calidad de vida insatisfactoria: DLQI 6 a 10
- Mala calidad de vida: DLQI: 11 – 30

## 2. AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LAS BASES INMUNOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE LA ENFERMEDAD

### 2.1. Factores bioquímicos:

Se ha demostrado la presencia de:

- Niveles elevados de ácido araquidónico y algunos de sus metabolitos.
- Niveles elevados de leucotrieno B4 (LT B4) por la vía de la lipoxigenasa y niveles elevados de prostaglandinas D2 (PG D2) por la vía de la ciclooxigenasa en las placas de psoriasis (Dubois S, 2013). Ambas vías funcionan en las células efectoras inmunes, en la presentación de antígenos y la activación de inmunocitos.
- La vía de la de óxido nítrico sinteasa (iNOS) está sobreactiva en la psoriasis, causando a su vez un aumento importante del óxido nítrico intracelular.
- Sistema de AMP cíclico defectuoso asociado a niveles elevados de GMP cíclico (GMPc) El AMPc intracelular inhibe la degranulación de los mastocitos y por tanto, la liberación por estos de varios mediadores inflamatorios como: histamina, bradiquinina, PGD2, LT B4 y PAF (factor de activación plaquetaria) (Dubois S, 2013). Varios fármacos pueden exacerbar o atenuar la psoriasis al actuar sobre los niveles de AMPc mediante la inhibición o activación de las enzimas que promueven su origen o su degradación. El PAF estimularía a basófilos, eosinófilos y neutrófilos quienes liberan importantes cantidades de radicales libres y tiene papel principal en la fase inflamatoria de la quimiotaxis. (Valdivia – Blondet L, 2008)
- Sustancia P (SP) que es un neuropéptido sensitivo. Se ha encontrado que como consecuencia de traumatismos físicos o emocionales (estrés psíquico), se libera extraneuralmente en la piel este neuropéptido (Farber y col, 1975). Éste a su vez, actúa

sobre los mastocitos, neutrófilos, linfocitos y macrófagos. Al fijarse a los mastocitos induce su degranulación, con la liberación de mediadores inflamatorios. Induce la expresión de la selectina P y E, la proliferación de linfocitos T, la producción de IL-1, GM-CSF (factor estimulante de colonias granulocito- macrófago) y síntesis de ADN por los queratinocitos (Valdivia – Blondet L, 2008). La hiperproliferación de los queratinocitos pudiera producirse por el VIP (péptido vasoactivo intestinal).

- Aumento importante de NGF (factor de crecimiento nervioso), producido por los queratinocitos, y así mismo un rol regulador de la inervación y de la producción de neuromediadores. El NGF es un inhibidor de la apoptosis, así mismo, mitogénico para los queratinocitos, por estimulación del oncogén BCL-2. También produce atracción de mastocitos promoviendo su degranulación en una lesión en desarrollo. Induce la expresión en los queratinocitos de una potente c-c quimoquina, el RANTES (regulated upon activated normal T cell expressed and secreted) (Valdivia – Blondet L, 2008)
- Gran producción de factores de crecimiento vasculo- endotelial (VEGF) los que a su vez perpetúan el proceso de angiogénesis.

## 2.2. Factores Inmunológicos:

### ***Sobreproducción celular***

Se considera que el inicio de las lesiones está constituido por la sobreproducción de células dendríticas, linfocitos T, macrófagos, neutrófilos y queratinocitos. En la epidermis predominan los linfocitos T CD8+y en la dermis los linfocitos T CD4+. La presentación antigénica y la formación de sinapsis inmunológicas causaría la secreción de varias citoquinas, permitiendo a su vez, la diferenciación de células T nativas en células T efectoras como las

células Th1, Th2, Th17. Así mismo, la activación de estas células, causaría la síntesis de nuevas quimioquinas (Martin G., 2012)

Los queratinocitos activos producen citoquinas que atraen nuevos linfocitos al sitio de inflamación, así mismo, esto produce una alteración en el control de su proliferación.

Poblaciones de Th1 y Th17 se han encontrado en lesiones psoriáticas. Por recientes investigaciones, (Valdivia – Blondet L, 2008) se sabe que IL23 (citoquina base en la iniciación de las lesiones psoriáticas) y células Th17 (productoras de IL17 e IL22) serían los iniciadores de la hiperplasia epidermal y los modificadores de la diferenciación epidérmica en la psoriasis. Se han encontrado neutrófilos incrementados en lesiones psoriáticas infiltrantes en la epidermis, posiblemente debidos a sobreproducción de IL8 (Dubois S., 2013).

#### ***Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF-a):***

TNFa activa el desarrollo de lesiones mediante el incremento de moléculas proinflamatorias y moléculas de adhesión. Se conocen distintos tipos de receptores:

##### **• Receptores de membrana para el TNF:**

- TNF-R1 (p55) que existe unido a la membrana celular (mem-TNF-R1) o libre en solución (s-TNF-R1)
- TNF-R2 (p75).preferentemente unido a la membrana celular.

##### **• Receptores solubles (TBP):**

- Tipo I (TBP-1)
- Tipo II (TBP-2)

#### ***Citoquinas:***

- Interleukina 12 (IL12): potente estimulador de la diferenciación de células T nativas en células Th1 y células T citotóxicas.

Aumenta la producción de queratinocitos.

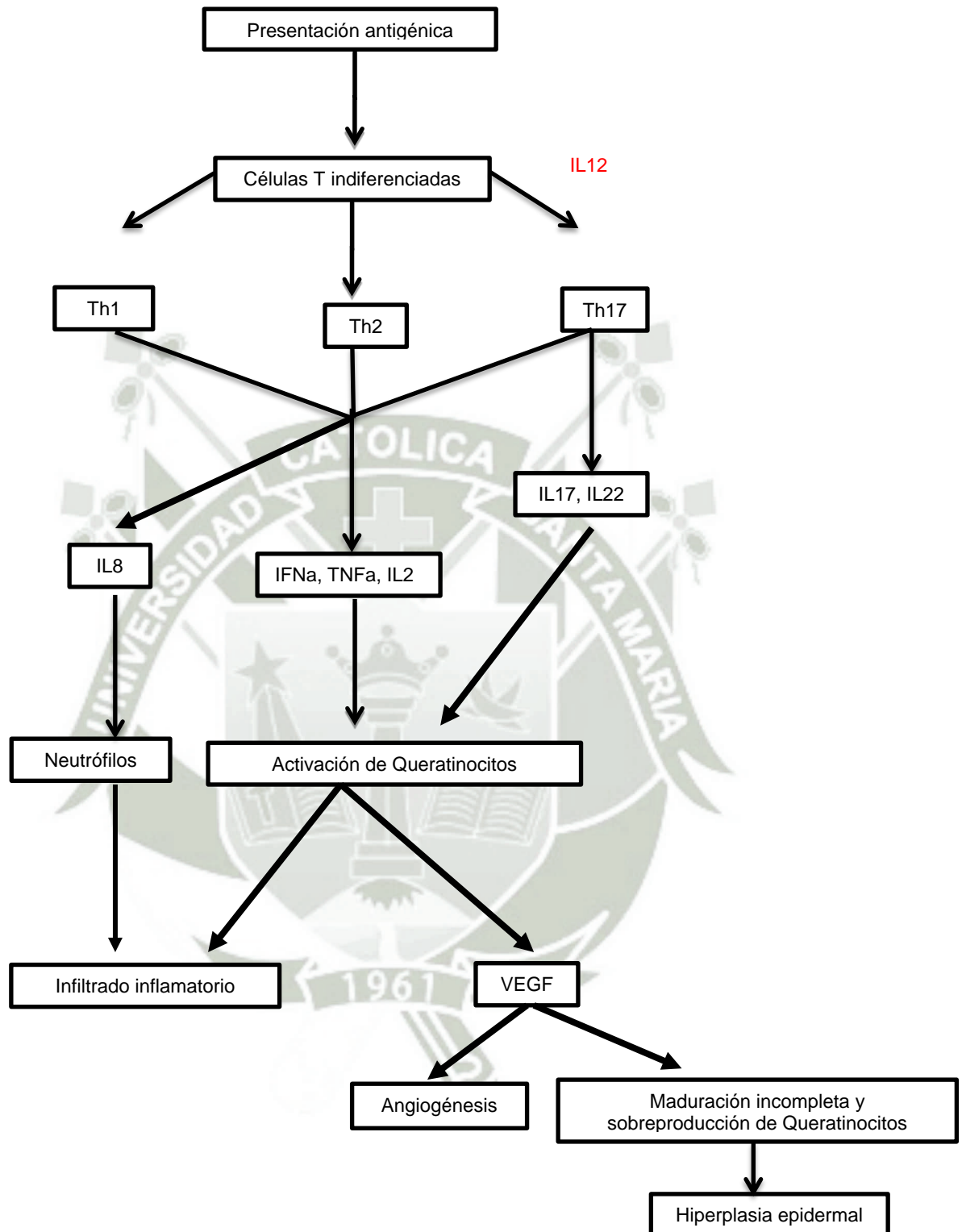
- IL8: estimulación de neutrófilos
- IL23: diferenciación de células T nativas en células Th17. Inciadora de las lesiones psoriáticas
- IL17: reclutamiento de neutrófilos en las lesiones psoriáticas
- Se ha visto que factores como IFN $\alpha$ , aumentan la producción de queratinocitos.

***Otros mediadores inmunológicos:***

Los receptores Toll- Like (TLR) son una familia de receptores expresados en la superficie de varios tipos de células, sobretodo en células implicadas en la inmunidad innata. Estos receptores son capaces de reconocer a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) como las lipoproteínas (LPS) ó ADN viral o bacteriano. La unión de un agonista del TLR a su receptor, se encuentra comprometido en numerosas enfermedades como las autoinmunes y el cáncer, así mismo, desencadena la producción de TNF- $\alpha$  E IL6.

Existen factores que la inducen tales como el IFN gamma (producido por macrófagos y células dendríticas).

En la Figura siguiente, se explica el mecanismo celular inmunológico activador de la psoriasis, así como las citoquinas que participan en este proceso.



**FIGURA 1.** BASES INMUNOLÓGICAS DEL DESARROLLO DE LA PSORIASIS

### 3. APLICACIÓN DE LOS AVANCES CIENTÍFICOS EN EL TRATAMIENTO DE LA PSORIASIS

Actualmente, no se dispone de ningún tratamiento curativo por lo que el objetivo del mismo es mejorar los síntomas y disminuir tanto la gravedad como la extensión de las lesiones (Bol Ter Andal,1999) Habitualmente, la psoriasis leve a moderada o de extensión limitada se maneja con tratamiento tópico, mientras que la moderada a severa puede requerir tratamiento sistémico. La presencia de artritis psoriásica o la afectación de manos, pies y cara pueden requerir también un tratamiento más agresivo.

#### 3.1 Tratamiento Tópico:

Indicados en las formas leves de la enfermedad. Una limitación del tratamiento tópico es el bajo cumplimiento, la aplicación en zonas con dificultad en la adherencia al tratamiento y la dedicación que supone.

Se citan los siguientes:

- **Emolientes:** coadyuvantes de gran utilidad ya que evitan la sequedad y la descamación de la piel. Son seguros, de bajo costo y útiles para prevenir irritaciones.
- **Corticoides tópicos:** actúan aclarando las placas y reduciendo la inflamación. Difícilmente curan las lesiones de forma completa y duradera. Se utilizan los de baja potencia para zonas delicadas (cara, pliegues y zonas intertriginosas) y los de potencia más alta para el cuero cabelludo, manos y pies. Los efectos adversos pueden ser locales y sistémicos.
- **Análogos de la vitamina D:** son el calcitriol (metabolito activo de la vitamina D), y sus análogos sintéticos (calcipotriol y tacalcitol). El calcipotriol es el más eficaz. Uno de los mayores

inconvenientes es que son bastante irritantes de la piel lesional y perilesional.

- **Retinoides tópicos:** el tazaroteno es el único retinoide tópico disponible para el tratamiento de la psoriasis. Se utiliza en asociación con otros fármacos. Es fotosensibilizante y teratógeno, por lo que debe obtenerse un resultado negativo en el test de embarazo para poder iniciar el tratamiento.
- **Queratolíticos (ácido salicílico):** actúan suavizando y eliminando las placas escamosas.
- **Preparados a base de brea de hulla (Coaltar):** son una mezcla de distintos componentes.
- **Inmunomoduladores tópicos:** cabe citar al Tacrolimus y al Pimecrolimus. No tienen la indicación aprobada en psoriasis y presentan una eficacia limitada.

### 3.2 Fototerapia y Fotoquimioterapia:

Son tratamientos que se emplean en centros especializados bajo la supervisión de un dermatólogo. Se utilizan cuando los tratamientos tópicos no funcionan o las placas son muy extensas (más del 40% de la superficie corporal).

- **Fototerapia:** los regímenes más utilizados incluyen radiación UVB (de banda ancha o estrecha) en combinación con tazaroteno, análogos de la vitamina D o tratamientos sistémico (Menter A, 2007)
- **Fotoquimioterapia o PUVA:** consiste en la exposición a la radiación UVA dos horas después de la administración oral, o tópica (baño) de un psoraleno que actúa como fotosensibilizante. Presenta una mayor eficacia y un efecto más prolongado que la fototerapia, siendo necesario un menor número de sesiones.

La PUVA se considera un factor de riesgo para el carcinoma de células escamosas, carcinoma basocelular y melanoma (Bol Ter Andal, 1999)

### 3.3 Tratamiento Sistémico

El tratamiento sistémico está indicado en psoriasis extensas que no responden a otros tratamientos (Lodeiro C, 2011)

- **Inmunosupresores:**

- **Metotrexate:** es el tratamiento sistémico oral más utilizado y de administración semanal por períodos largos de tiempo. También se prefiere en la artritis psoriásica. Se recomienda la realización de ciertas determinaciones analíticas como hematocrito y pruebas de función hepática y renal. Debe evitarse el embarazo hasta 3 meses después de terminar el tratamiento.

- **Ciclosporina oral:** tiene una eficacia parecida o algo superior al Metotrexate. Se recomienda para tratamientos intermitentes y de corta duración. Sus efectos adversos principales son la nefrotoxicidad e hipertensión.

- **Hidroxiúrea:** se utiliza en psoriasis resistentes o intolerantes a metotrexate, aunque no tiene la indicación aprobada. Su eficacia es menor que metotrexate y ciclosporina.

- **Retinoides:**

- **Acitretina:** retinoide análogo de la vitamina A. Es teratógena hasta 2 años después de la suspensión del fármaco. (Ochaita L, 2001)

En la tabla siguiente se cita un resumen de los principales inmunosupresores y retinoides, así como su vía de administración y sus principales efectos adversos.

**TABLA 2. PRINCIPALES INMUNOSUPRESORES Y RETINOIDES USADOS  
EN EL TRATAMIENTO DE LA PSORIASIS**

<b>Fármaco</b>	<b>Vía de Administración</b>	<b>Efectos Adversos</b>
<b><i>Ciclosporina</i></b>	Oral	Nefrotoxicidad e Hipertensión
<b><i>Metotrexate</i></b>	Oral, SC, IM, IV	Hepatotoxicidad, fibrosis pulmonar, nefrotoxicidad y teratogenia
<b><i>Hidroxiúrea</i></b>	Indicación no aprobada	Depresión medular, enfermedades mieloproliferativas (leucemia), teratogenia, hepatotoxicidad (menos que Metotrexate)
<b><i>Acitretina</i></b>	Oral	Teratogenia, alteración de los niveles de colesterol y triglicéridos.

### **3.4 Tratamientos Biológicos:**

Los agentes inmunomoduladores (biológicos) están teniendo cada vez más importancia como alternativa para el tratamiento de la psoriasis moderada a grave. Son fármacos que también se utilizan en otras enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide, artritis psoriásica o enfermedad de Crohn. Ustekinumab, tiene como única indicación, el tratamiento de la psoriasis. Normalmente se reservan para psoriasis en placas grave que no responde, o en pacientes con contraindicación o intolerantes a PUVA y tratamientos sistémicos incluidos ciclosporina y metotrexato. Son fármacos relativamente caros y requieren monitorización de efectos adversos, ya que no se conoce su seguridad a largo plazo. Tienen la siguiente clasificación:

**a) Anti TNF-a:**

Los pacientes con psoriasis tienen incremento en la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-a) (K. E. Nograls, 2011). La función de estos fármacos es bloquear la interacción del TNF-a con su receptor TNFR1 e impedir a su mismo la activación del NF-KB1.

En la Tabla siguiente se citan los principales fármacos antagonistas del TNF-a

**TABLA 3. FARMACOS QUE ACTÚAN POR ANTAGONIZAR AL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL**

Fármaco	Mecanismo de Acción	Tipo de Anticuerpo Monoclonal	Efecto Adverso	Vía de Administración
Infliximab	Bloqueo temporal del TNFR1	A.monoclonal quimérico	Infecciones, neoplasias.	Perfusión endovenosa (EV) (2 h)
Etanercept	Mayor afinidad por el TNFR1	A.monoclonal recombinante humano	Infecciones, neoplasias, afectación neurológica, riesgo insuficiencia cardiaca.	Subcutánea (SC)
Adalimumab		A.monoclonal completamente humanizado IgG1	Infecciones, neoplasias	SC
Certolizumab	En estudio para tratamiento de psoriasis.	A.Monoclonal recombinante humanizado	En estudio	

**b) Fármacos anti citoquinas:**

Existen citoquinas ampliamente estudiadas como desencadenantes del proceso inflamatorio en la Psoriasis. Se la visto que la IL23 es la más comprometida en la psoriasis (R. K. Sivamani, 2013).

En la siguiente tabla se cita el mecanismo de acción de los principales fármacos anti citoquinas.

**TABLA 4. FÁRMACOS ANTICITOQUINAS**

<b>FÁRMACO</b>	<b>MECANISMO DE ACCIÓN</b>	<b>TIPO DE AMC</b>
<b>Ustekinumab</b>	Antagonista de la p40 (subunidad componente de la IL23 e IL12)	Anticuerpo monoclonal humanizado
<b>Apilimod</b>	Inhibidor de IL12 e IL23. Inhibidor de Th1. Aumenta la producción de IL 10 (antiinflamatorio)	Derivado de la triazina
<b>Brodalimumab</b>	Inhibidor del receptor de IL17A e IL17F	A. monoclonal IgG2
<b>Ixekizumab</b>	Inhibidor de IL17. Bloquea la producción de citoquinas, b- adhesinas, péptidos antimicrobianos y quimioquinas a cargo de los queratinocitos	A. Monoclonal IgG4 (en estudio)

**c) Fármacos Anti Células T:**

En la tabla siguiente se cita el principal mecanismo de acción de Alefacept, anticuerpo monoclonal antagonista de las células T.

**TABLA 5. FÁRMACOS ANTI CÉLULAS T**

FÁRMACO	MECANISMO DE ACCIÓN	TIPO DE AMC
Alefacept	Inhibidor de la proliferación de células T, inductor de apoptosis. Reduce la expresión de células CD4 y CD8, además de IL8, IL23, IFN-a.	Anticuerpo Monoclonal recombinante (fracción Fc de la Ig1 y LFA3)

**d) Inhibidores de pequeñas moléculas:**

Se citan algunos como:

- Inhibidores de la fosfodiesterasa 4
- Inhibidores de la proteín kinasa
- Inhibidores de la proteín kinasa mitógeno activado
- Inhibidores de la Janus Kinasa
- Lípidos

**e) Inhibidores del Factor de crecimiento Nervioso (NEG):** Aún en estudio.

**4. ETANERCEPT EN EL TRATAMIENTO DE LA PSORIASIS**

El etanercept es una proteína dimérica de fusión que consta de una parte extracelular de 75 kdaltons constituida por la porción de reconocimiento de ligandos del receptor al factor de necrosis tumoral (TNFr) y de otra parte constituida por la porción Fc de la inmunoglobulina humana IgG1. La proteína tiene 934 aminoácidos y un peso molecular de 150 kdaltons.

**4.1 Mecanismo de acción:**

Etanercept actúa mediante la unión reversible, competitiva, tanto al TNF-a como al TNF-b libre circulante y unido a membrana, evitando

de esta manera su unión a los receptores específicos en la superficie celular de las células diana, lo cual conlleva una inhibición de la activación celular y, consecuentemente, una inhibición de la acción proinflamatoria del TNF

#### 4.2 Administración:

Las dosis iniciales recomendadas son de 50 mg dos veces por semana (administradas a intervalos de 3 o 4 días) durante 3 meses. Las dosis de mantenimiento a partir de los 3 meses de comenzar el tratamiento son de 50 mg una vez a la semana. No se ha visto diferencia entre la administración del fármaco a dosis de 50 mg dos veces por semana o la administración del mismo a dosis de 100 mg una vez por semana.

#### 4.3 Farmacocinética:

- **Absorción:** el Etanercept se absorbe lentamente desde el lugar de inyección subcutánea, alcanzando la máxima concentración sérica a las 48 horas después de la administración de una dosis única
- **Biodisponibilidad:** se calcula en un 60-76 %
- **Tiempo medio hasta el pico de concentración:** se calcula en 51 horas.
- **Distribución:** se distribuye ampliamente por los tejidos y se ha detectado su presencia en el hueso, el hígado, el bazo y el riñón, entre otros. En líquido sinovial alcanza concentraciones similares a las séricas.
- **Eliminación:** los complejos son metabolizados por proteólisis. Los péptidos resultantes son eliminados sobre todo por la orina y, en menor medida, por la vía biliar. Un mínimo porcentaje se excreta a través de la leche materna.

Se elimina lentamente del organismo, lo cual supone una vida media larga de aproximadamente 68-70 horas.

No existen diferencias farmacocinéticas en función del sexo, y los perfiles de concentraciones séricas en pacientes niños, adolescentes, adultos y ancianos, son similares. Así mismo, no se ha detectado variación de las concentraciones en pacientes con insuficiencia renal o hepática por lo que no es necesario realizar cambios de dosificación.

#### **4.4 Contraindicaciones:**

- No se debe administrar a pacientes con sepsis o con hipersensibilidad conocida el etanercept o a alguno de sus componentes.
- El etanercept se clasifica dentro de la categoría B de riesgo en el embarazo (Fisher CJ Jr, 1996). No se han realizado estudios en humanos, por lo que se recomienda no administrar el etanercept durante el embarazo a menos que sea claramente necesario.

#### **4.5 Efectos Adversos:**

- Reacciones en el lugar de la inyección. De tipo leve o moderada (Fisher CJ Jr, 1996)
- Infecciones. En los estudios clínicos controlados no se observaron diferencias significativas en la incidencia de infecciones en los pacientes tratados con etanercept y los tratados con placebo. ). Las infecciones más frecuentes fueron las respiratorias y del tracto urinario. Datos aislados reportan casos de sepsis en pacientes con enfermedades subyacentes o en tratamiento con otros inmunosupresores.
- Enfermedades malignas. Asociación no clara aún. Se describen algunos casos aislados de linfomas, cáncer de colon y mama.

- Podría empeorar el estado de los pacientes con insuficiencia cardíaca
- Los tratamientos con etanercept y otros agentes que inhiben el TNF han estado asociados con la aparición o la exacerbación de desórdenes desmielinizantes del sistema nervioso central. Se han descrito casos de mielitis transversa, neuritis óptica, esclerosis múltiple y un empeoramiento de las enfermedades convulsivas. La relación causa-efecto no está muy clara (Van Oosten BW, 1996).
- Ocasionalmente se han descrito casos de pancitopenia incluyendo anemia aplásica, algunos fatales, en pacientes tratados con etanercept (Anderson JJ, 2001).
- Otros efectos adversos: se describen cefalea, náuseas, rinitis, tos, dolor abdominal, edema periférico, rash y dispepsia

## **5. ESTUDIOS SOBRE LA BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA ENFERMEDAD**

Hace 20 años se ubicó en el cromosoma humano 17, una región (17q25-qter) que mostraba susceptibilidad a la psoriasis. El estudio fue realizado en una familia de ancestro europeo (Jordan C. y col, 2014). Los miembros afectados tenían psoriasis en placas y el 30% de ellos desarrollaron artritis psoriásica. Posteriormente, haciendo amplias secuenciaciones del genoma de pacientes con psoriasis, se logró identificar en el dominio de los genes de reclutamiento de las caspasas, (el miembro 14 -CARD14: "Caspase recruitment domain, member 14"), una mutación relacionada a la psoriasis (Luis Valdivia – Blondet, 2008)

También se pudo identificar una segunda mutación en el gen CAR14 en una familia taiwanesa y en una niña con una severa psoriasis pustular generalizada. Es interesante que ninguno de los dos padres de la niña presentaba la mutación, indicando que no había sido heredada sino que

surgió espontáneamente. Sugiura y col (2014), detectaron también una mutación en el gen CARD14 (c.526G>C) ( pAsp176His) relacionada con el riesgo de psoriasis pustular precedida de psoriasis vulgar, en una población japonesa.

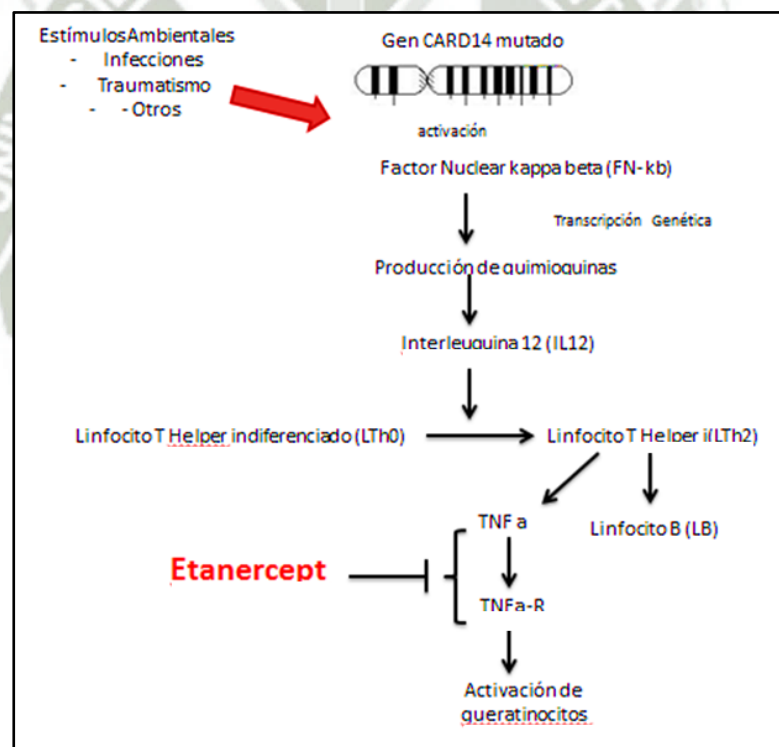
***CARD14 (Proteína 14 conteniendo un dominio para el reclutamiento de las caspas)***

Las proteínas CARD son proteínas asociadas a la regulación de la guanilato kinasa (MAGUK), una clase de proteínas que funcionan como andamios moleculares para el ensamblaje de complejos multiproteicos en regiones especializadas de la membrana plasmática. Esta proteína es también un miembro de la familia de proteínas TARJETA, que se encargan del reclutamiento de las caspasas. Los dominios CARD, interactúan específicamente con Bcl10, una proteína conocida por ser un regulador positivo de la apoptosis de las células B.

Normalmente el gen CARD14 activa al factor nuclear de transcripción kappa B (NF- $\kappa$ B) y la mutación detectada en este gen en los pacientes con psoriasis aumenta la actividad de este factor. Cuando se compara los queratinocitos normales con los queratinocitos cultivados de pacientes con psoriasis que presentan las mutaciones en el gen CARD14, se encuentra en estos últimos, un aumento en la transcripción de genes que codifican para quimoquinas y citoquinas asociadas a la psoriasis, como la interleuquina 8 (IL8) e interleuquina 36 (IL36G). La caspase recruitment domain-containing protein 14, se localiza habitualmente en las capas basal y suprabasal de la epidermis, mientras que su expresión en las lesiones de psoriasis se encuentra aumentada de forma difusa y localizada en las capas suprabasales. La propuesta que hacen algunos investigadores del tema (Jordan C. y col, 2014) es que en el contexto de un estímulo inflamatorio que actúa sobre la base de un gen CARD14 mutado (en los queratinocitos), se desencadena una respuesta inflamatoria excesiva

iniciando así, el reclutamiento del infiltrado inflamatorio propio de esta enfermedad. La psoriasis afecta el ciclo de vida de las células de la piel determinando que los queratinocitos maduren más rápidamente en muy pocos días y se acumulen en las lesiones como parches gruesos y escamosos.

En la Figura 2, se muestra un esquema representativo de la cascada estimulada por la acción de un factor desencadenante inflamatorio (estrés, infección, traumatismo) que al actuar sobre un gen CARD14 mutado, induce la activación del factor de transcripción kappa beta (NF-Kb) con la consecuente producción de citoquinas (dentro de ellas, IL8, IL36) que conlleva a una estimulación de neutrófilos, Linfocitos B y queratinocitos, determinando la perpetuación de la reacción inflamatoria, propia de la psoriasis.



**FIGURA 2.** MODELO QUE EXPLICA LA ACCIÓN DIRECTA DEL GEN CARD14 EN LA ETIOPATOGENIA DE LA PSORIASIS Y RELACIÓN CON EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL ETANERCEPT

## CAPÍTULO I

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### 1. PACIENTES

Se revisaron los registros de tratamiento de la psoriasis con etanercept en el Servicio de Dermatología del HNCASE a partir del año 2009 (en que comenzó a utilizarse el fármaco para el tratamiento de la psoriasis) hasta el año 2014. De los 27 pacientes que figuraban se seleccionaron 17 para el presente estudio, descartándose los otros por no haber completado el esquema de tratamiento y en dos casos por la imposibilidad de localizar la historia clínica. En este grupo sólo estaba incluidos los pacientes que recibieron el etanercept como monoterapia sistémica y en el momento de hacer el estudio.

Del total de historias clínicas seleccionadas, 14 correspondían a varones y 3 a mujeres y las edades, corregidas a la fecha, oscilaban entre 31 y 82 años. Los datos seleccionados de las historias clínicas fueron consignados en fichas de recolección (Anexo 2) en donde se incluía además, el tiempo de evolución de la enfermedad, las manifestaciones clínicas, el esquema de tratamiento utilizado, las complicaciones de mismo, la respuesta al tratamiento a través del índice de área y severidad de la psoriasis (PASI) y del índice dermatológico de calidad de vida (DLQI). En algunos casos el PASI y el DLQI fue completado con el examen del paciente al momento de hacer este estudio, en vista que en la historia clínica no estaba informado adecuadamente.

De los 17 pacientes seleccionados, 9 fueron sometidos al estudio de las mutaciones en el gen CARD14, que han sido descritas como asociadas a la enfermedad psoriásica. Estos pacientes cumplían con los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes con psoriasis moderada o severa (área de superficie corporal comprometida mayor al 10%).
- Pacientes que hayan completado por lo menos un ciclo de tratamiento (10 dosis de 50 mg por semana de Etanercept o 15 dosis de 25 mg dos veces por semana de Etanercept).
- Pacientes que tienen consignada en su historia clínica toda la información necesaria para determinar el PASI y el DLQI.
- Pacientes que podrán ser localizados en el momento de obtener las muestras para hacer los estudios de biología molecular del gen CARD14.
- Pacientes que den su consentimiento para realizar el estudio

También se incluyeron en el estudio las muestras de 4 personas clínicamente normales y de edades comprendidas en el rango de los 9 pacientes seleccionados.

## **2. USO DEL PASI Y DEL DLQI COMO PARAMETROS PARA EVALUAR LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON ETANERCEPT**

Para evaluar la eficacia que tuvo el etanercept en el tratamiento de la psoriasis que presentaban los pacientes de la muestra, se utilizó el PASI (Psoriasis área and severity index) o también conocido como el índice de severidad y actividad de la psoriasis y el DLQI (Dermatology life quality index), el índice dermatológico de calidad de vida.

El PASI resulta actualmente la herramienta más usada internacionalmente para evaluar la severidad de la psoriasis. El PASI combina la determinación de la severidad de la lesión dermatológica propia de la psoriasis con el área de la piel afectada y lo hace con un simple score que oscila entre 0 (ausencia total de la enfermedad) hasta 72 (enfermedad máxima)

Para las pruebas de inferencia estadística de los resultados obtenidos con el PASI y el DLQI antes y después del tratamiento se determinó “t” para datos apareados utilizando el paquete estadístico SPSS

### 3. ESTUDIO DE LAS MUTACIONES EN EL GEN CARD 14

#### 3.1. Aislamiento del ADN

Las muestras de los pacientes para obtener el ADN correspondieron a un hisopado de la mucosa oral, el que se practicó a cada paciente previa firma de su consentimiento informado. (Figura 3)



**FIGURA 3.** TOMA DE MUESTRA DE MUCOSA ORAL  
MEDIANTE LA TÉCNICA DEL HISOPADO

El aislamiento del ADN se realizó en el Instituto de Biotecnología del ADN en Uchumayo- Arequipa, utilizando el siguiente procedimiento:

- El hisopo fue depositado en un tubo Eppendorf conteniendo 20 uL de EDTA 0.5 M, cerrado y guardado en la refrigeradora para ser usado en los siguientes días.
- A los tubos conteniendo el hisopo se añadieron 300 ul de buffer de lisis 1X y luego 1 ul de solución de proteinasa K y se incubaron por 10 minutos a 65° C.
- Se escurrieron los hisopos en los bordes del tubo eppendorf y se les descartó.

- Se añadió a los tubos 2ul de solución de RNA asa y se centrifugó por 30 segundos.
- Se incubó por 30 minutos a 37°C y luego se añadió a cada tubo 180 ul de MPC y se agitaron en el vortex.
- Se centrifugaron los tubos a máxima velocidad durante 5 minutos y los sobrenadantes se pasaron a nuevos tubos eppendorf.
- A cada tubo conteniendo el sobrenadante se añadió 600 ul de isopropanol para precipitar selectivamente el ADN.
- Se centrifugaron los tubos a máxima velocidad durante 10 minutos y se descartaron los sobrenadantes
- El precipitado de cada tubo (pellet) y que corresponde al ADN, fue lavado con etanol al 75% y centrifugado.
- El precipitado fue solubilizado en 100 uL de suero fisiológico y corresponde al ADN purificado
- La pureza del material obtenido fue verificada con la medida de las absorbancias a 260 nm, 230 nm y 280 nm.
- La estimativa aproximada de la cantidad de ADN obtenida en cada tubo se hizo mediante electroforesis en gel de agarosa a 1.5% en buffer TAE (Figura 4)



**FIGURA 4.** ELECTROFORESIS EN AGAROSA DEL ADN PURIFICADO.

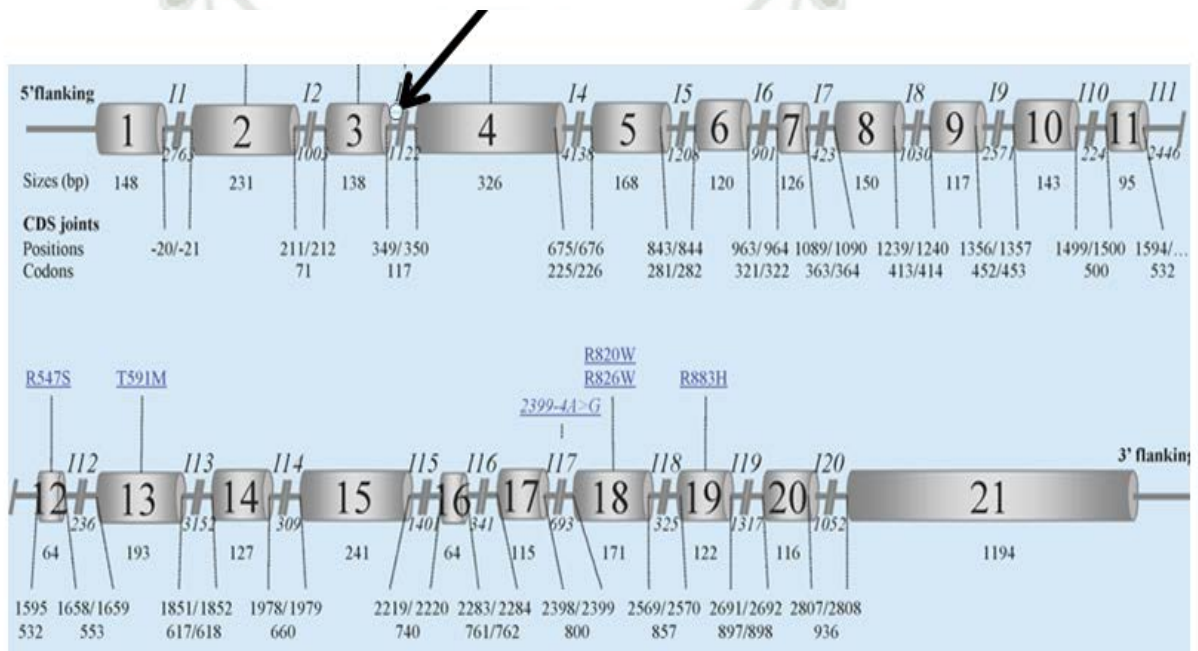
1-9 DE LOS PACIENTES Y 10-13 DE LOS CONTROLES.

M: MARCADORES DE PESO MOLECULAR

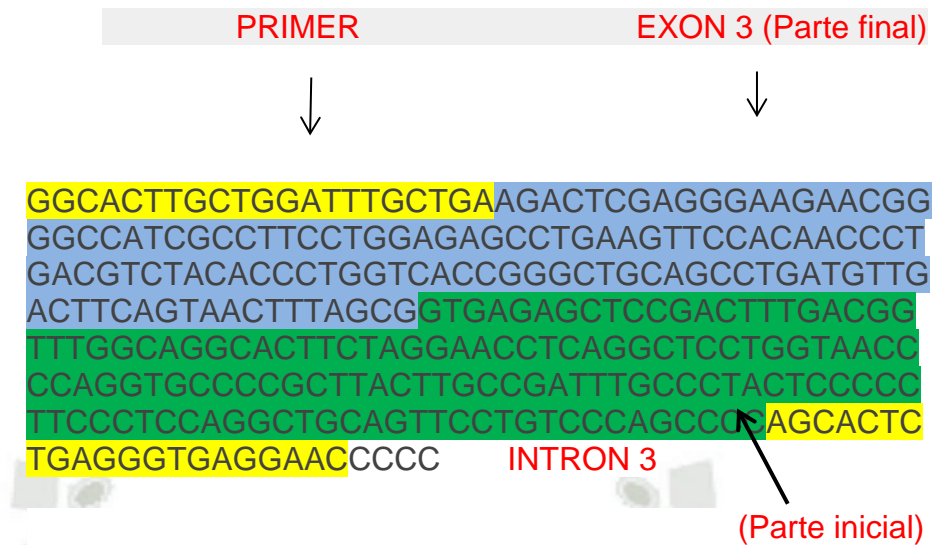
### 3.2. PCR del segmento del gen CARD 14 que incluye la zona de las mutaciones estudiadas.

#### a) Reacción de amplificación

Después del aislamiento del ADN, se realizó la amplificación del segmento del gen CARD14 de 394 bp, que incluye la zona de las mutaciones y que corresponde al final del exón 3 y el inicio del intrón 3 (Figuras 5 y 6) mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa).



**FIGURA 5.** EL GEN CARD14 CON SUS 21 EXONES. LA FLECHA INDICA LA ZONA QUE SE AMPLIFICÓ PARA ESTUDIAR LAS MUTACIONES



**FIGURA 6.** SECUENCIA GENÓMICA DEL FRAGMENTO AMPLIFICADO INCLUYENDO LA SECUENCIA DEL PRIMER SELECCIONADO

Para realizar la PCR a cada tubo de PCR se añadió 2 µl de ADN de cada muestra, 2 µl de la solución de primers para la amplificación del segmento del gen CARD14 a estudiar (cada uno con una concentración final de 200 µM), y 30 µl de Platinum PCR Supermix High Fidelity. Los primers tenían la siguiente secuencia:

**Forward primer**

5` GGC ACTT GCT GG ATTT GCT G 3` Tm = **Tm** 54.4°C

**Reverse primer**

5` GTT CCT CAC CCT CAG AGT GCT 3` Tm = **Tm** 56.3°C

Los tubos, se colocaron en un termociclador Techne Cyclogene (Techne Inc., New Jersey, Estados Unidos) y se programó de la siguiente manera:

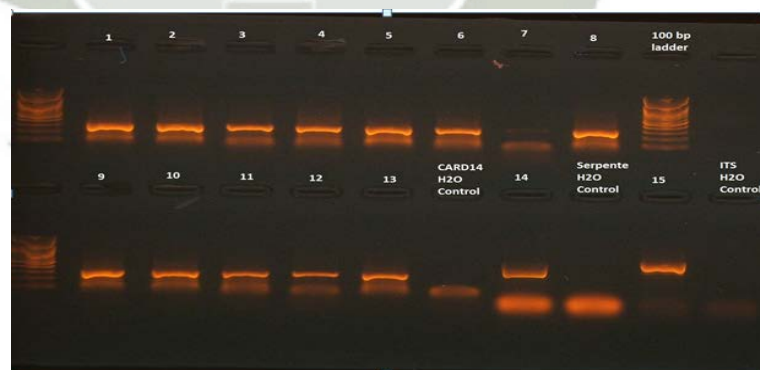
- Primero a una temperatura de 95°C por 60 segundos para desnaturalizar completamente el ADN molde y activar la enzima.

- Luego se programó 25 ciclos a 90°C por 70 segundos (desnaturalización), 50° C por 70 segundos (hibridación) y 70° C por 70 segundos (extensión). Finalmente 1 ciclo a 72° C por 7 minutos.
- Luego de la amplificación las muestras fueron mantenidas en el termociclador a 4° C (post incubación)

## b) Electroforesis del producto de PCR

Los productos de PCR se separaron en geles de poliacrilamida (Elchrom Scientific) para esto se cargó 5 µl de producto de PCR en el gel y se corrió en Buffer TAE 1X a 150V a 150 mA por 3 horas. Para determinar el tamaño de los alelos se utilizó como referencia un marcador de peso molecular de 25pb (invitrogen).

Se realizó la tinción del gel de poliacrilamida con *SYBR Green* (invitrogen) por 15 minutos en movimiento en el shaker. Se observó las bandas de la amplificación de PCR con el trans iluminador Safelmager (invitrogen) y se tomó una foto (cámara Canon Power Shot G9) para su respectivo análisis con el software Total Lab TL100. (Figura 7)



**FIGURA 7.** Electroforesis en gel de poliacrilamida de los productos de la amplificación por PCR. (1- 9 muestras de los pacientes) (10-13 muestras de los controles. Se incluye un control positivo y negativo. A ambos lados del gel se pusieron marcadores de peso molecular)

### c) Purificación de los productos de PCR

Como los productos de PCR suelen contener restos de la reacción de amplificación que interfieren en la secuenciación, es necesario llevar a cabo un paso de purificación previo a la secuenciación. La purificación permite remover de la muestra de ADN, la Taq polimerasa, el buffer de reacción, sales, aceite mineral, agarosa, bromuro de etidio, el exceso de primers y nucleótidos.

Para esta etapa se usó un kit comerciales que simplifica el proceso de purificación (QIAquick PCR Purification Kit, 2002). Este kit utiliza membranas de sílica y buffers de unión especializados que promueven la adsorción selectiva de moléculas de ADN dentro de variedades de tamaño particulares, utilizando un procedimiento sencillo de unión, lavado y elusión. La adsorción de los ácidos nucleicos a la superficie de la membrana ocurre a un pH determinado ( $< 7.5$ ) y en presencia en altas concentraciones de sales caotrópicas provistas por el buffer. Las impurezas son eliminadas mediante lavados y el ADN puro es eluído con un pequeño volumen de un buffer de bajas concentraciones de sal o agua. En estas condiciones los fragmentos de ADN están listos para su secuenciación.

### 3.3. Secuenciación de los fragmentos amplificados

Los tubos fueron etiquetados y enviados al Departamento de Biología Molecular en el Massachusetts General Hospital, Boston, Estados Unidos (MGH DNA Sequencing Core Facility), para su secuenciación.

En MGH DNA Sequencing Core Facility, las muestras fueron secuenciadas usando el TAQ DyeDeoxy Terminator Cycle Sequencing Kit de Applied Biosystems que utiliza

didesoxinucleótidos fluorescentes (método de secuenciación automática).

Después de la secuenciación y limpieza, las muestras de ADN fueron analizadas por electroforesis capilar en un secuenciador automático (ABI 3739XL DNA Analyzer) que traduce las señales fluorescentes en la secuencia de bases correspondientes.

Las secuencias fueron analizadas individualmente, primero se editó sus secuencias eliminando posibles errores en el programa Bioedit versión 7.0.5.2, luego las secuencias fueron comparadas con las secuencias depositadas en la base de datos GenBank para *homo sapiens* seleccionando el segmento del gen CARD14 que amplificamos utilizando el algoritmo BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)),

El alineamiento múltiple fue ingresado al programa Mega 4.1 donde se eligió la herramienta para la construcción de árboles filogenéticos y se utilizó el método de máximo parsimonia el cual nos devolvió un árbol filogenético donde se pudo determinar las distancias genéticas y los porcentaje de similitud secuencial entre los fragmentos amplificados de los pacientes y controles.

### **Bases de datos**

Los proyectos de secuenciación de genomas de organismos biológicos como el del Genoma Humano, han generando una inmensa cantidad de información de secuencias de ácidos nucleicos y aminoácidos. Esta información es almacenada en Bases de Datos internacionales, a las cuales los investigadores envían las secuencias una vez que son determinadas.

El explosivo crecimiento de la información genómica y las complejas relaciones a través de las cuales deben ser relacionada, está exigiendo a las ciencias de la computación el desarrollo de cada vez

más sofisticados esquemas de diseño y administración de bases de datos y se puede decir que en los últimos años la información biomédica está “empujando” el desarrollo de las bases de datos, las cuales constituyen esfuerzos coordinados, que intentan en lo posible, almacenar la información de una manera no redundante. Existen principalmente dos bases de datos de este tipo en el mundo para secuencias de ADN. El Genbank en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) de los Estados Unidos y el EMBL (European Molecular Biology Laboratory) en el European Bioinformatics Institute (Aguilar, 2002).

Además existen otras bases de datos de acceso libre a través de Internet como el Ribosomal Differentiation of Medical Microorganisms (RIDOM), y otras privadas como MicroSeq (Applied Biosystems) y SmartGene IDNS (Integrated Database Network System) (Macrae, 2000). Estas bases de datos contienen miles de secuencias de ARNr pertenecientes a una gran cantidad de microorganismos. Pueden consultarse para realizar una comparación estadística de las secuencias obtenidas de un aislamiento, contra las que ya están publicadas y así poder elaborar dendrogramas, en los que se indique la posición del nuevo microorganismo recién identificado (Herrera, 2002).

### **Herramientas bioinformáticas**

La bioinformática posee muchas herramientas que son útiles para encontrar, organizar y analizar datos bioinformáticos, cada una tiene un propósito específico. Las principales herramientas que se utilizan para analizar las secuencias de ADNr 16S son las siguientes:

- a) **Basic Local Alignment Search Tool (BLAST):** Es un algoritmo para comparar secuencias biológicas, como las secuencias de aminoácidos de diferentes proteínas o las secuencias de ADN. Una búsqueda de BLAST permite comparar una secuencia no

conocida con una base de datos de secuencias e identificar las secuencias en la base de datos que se parecen a la secuencia no conocida empleando un alineamiento local, el cual busca conseguir pequeñas regiones de secuencias consenso. Este alineamiento es más efectivo que el alineamiento global (hace coincidir las secuencias en el mayor número de caracteres) desde el punto de vista computacional, además tiene mayor sentido biológico (Aguilar, 2002).

Es uno de los programas bioinformáticos más usados, probablemente porque se dirige a un problema fundamental y el algoritmo enfatiza la velocidad sobre la sensibilidad. Este énfasis en la velocidad es vital para hacer que el algoritmo sea práctico en las numerosas bases de datos del genoma actualmente disponibles (Altschul y col., 1999).

- b) **ClustalW:** Es un programa de alineación múltiple de secuencias para ADN o proteínas. El alineamiento múltiple es función geométrica del número de secuencias sumadas al proceso. Este produce alineaciones de secuencia múltiples biológicamente significativas de diferentes secuencias, además brinda la secuencia más parecida a las secuencias seleccionadas, y los alinea de modo que las identidades, las semejanzas y las diferencias puedan ser visualizadas. Las relaciones evolutivas pueden ser vistas mediante la presentación de Cladogramas o Filogramas.

Las secuencias pueden ser alineadas a través de su longitud total (alineación global) o sólo en ciertas regiones (alineación local). Este es exacto para alineaciones en parejas y múltiples. Las alineaciones globales deben tener espacios vacíos (representando inserciones/ deleciones) mientras las alineaciones locales pueden evitarlos, alineando regiones entre los espacios vacíos. La alineación es progresiva y descarta

secuencias durante el alineamiento. Los árboles filogenéticos también pueden ser calculados a partir de alineaciones múltiples. El programa tiene algunos parámetros ajustables con rangos de error mínimos (Thompson y col., 1994).



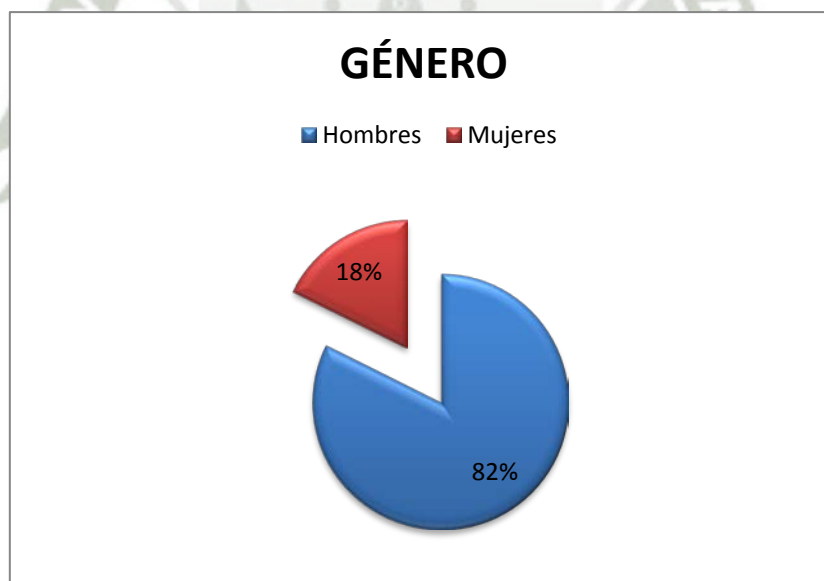
## CAPÍTULO II

### RESULTADOS

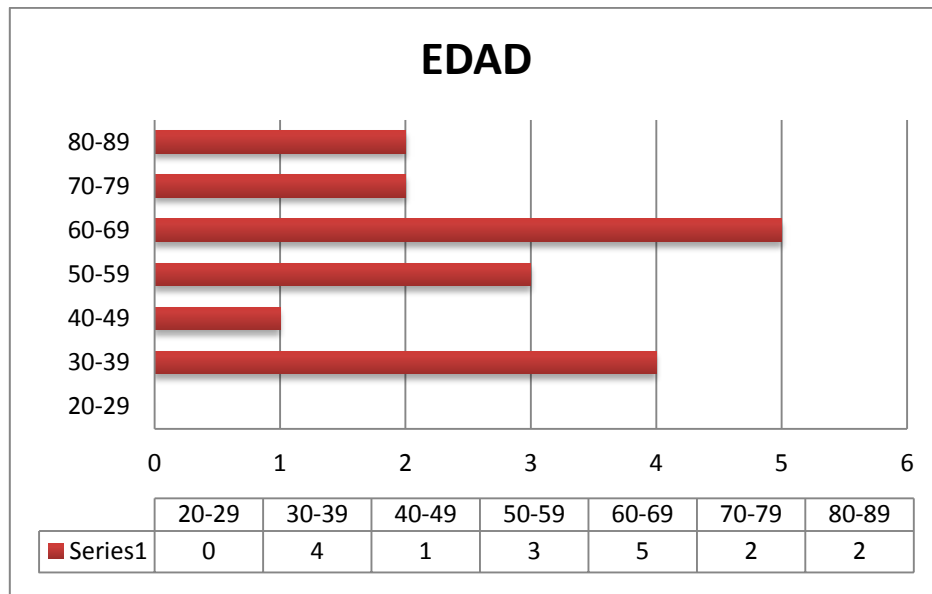
#### 1. De la totalidad de pacientes

##### 1.1 Género y Edad:

De los 17 pacientes estudiados, 14 fueron varones (82.3%) y 3 mujeres (17.7%) (Figura 8). Las edades estuvieron comprendidas entre los 31 y 82 años, con un promedio de 57.2 años. El rango de edades con más pacientes fue el de 60 a 69 y el de 30 a 39, con 5 y 4 pacientes, respectivamente (Figura 9)



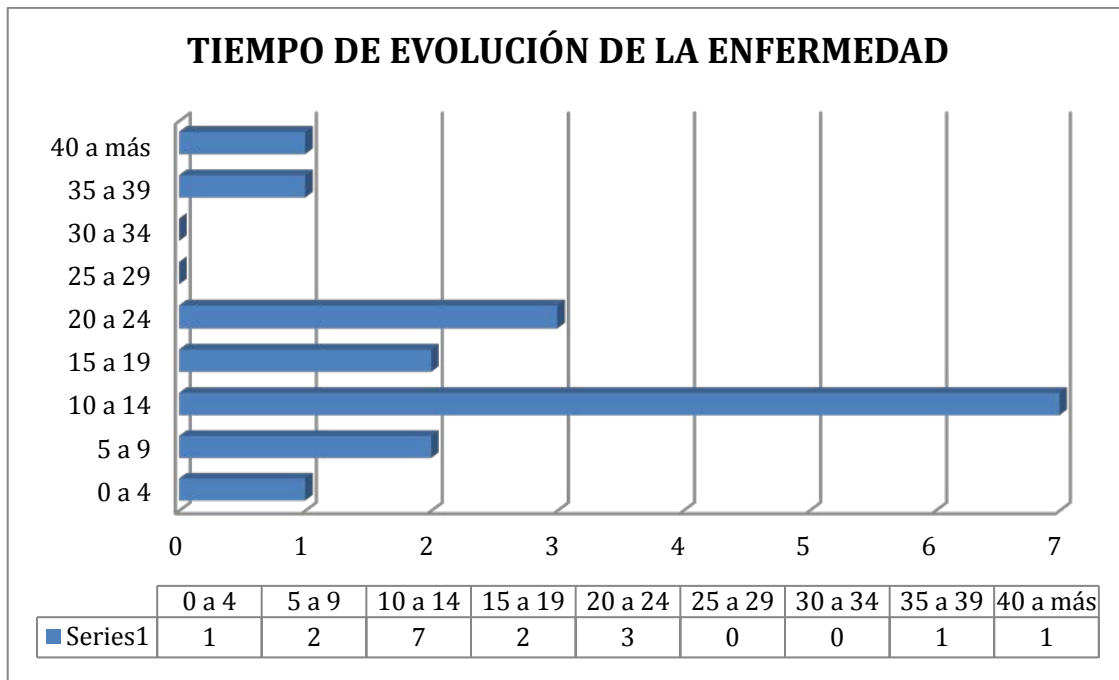
**FIGURA 8.** DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR GÉNERO



**FIGURA 9. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR GRUPO ETÁREO**

### 1.2 Tiempo de evolución de la enfermedad:

De la totalidad de pacientes estudiados, se evaluó que el tiempo de evolución de la enfermedad variaba entre los 3 y los 40 años; con una media de 15.05 años. Así mismo, se encontró que la mayor parte de pacientes (41.7%, 7 pacientes) tenía un tiempo de evolución de la psoriasis entre los 10 a 14 años y en segundo lugar, un (17.6%, 3 pacientes), tenía un tiempo de enfermedad que variaba entre los 20 y 24 años. (Figura 10)



**FIGURA 10.** DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD (EN AÑOS)

### 1.3 Características clínicas de la enfermedad:

De las características clínicas evaluadas en los pacientes con psoriasis estudiados previo al tratamiento con Etanercept, se encontró que la mayor parte de ellos (88.2%, 15 pacientes), refería en sus controles mensuales, prurito como principal síntoma. Así mismo, como dato consignado en la historia, se encontró que la piel seca y descamativa constituía la expresión clínica más frecuente de la enfermedad, hallazgo encontrado en el 70.5% de pacientes. Es importante señalar que clínicamente los pacientes tenían características clínicas en común (eritema, escama, entre otras), sin poder decir que su enfermedad era monosintomática. (Tabla 6).

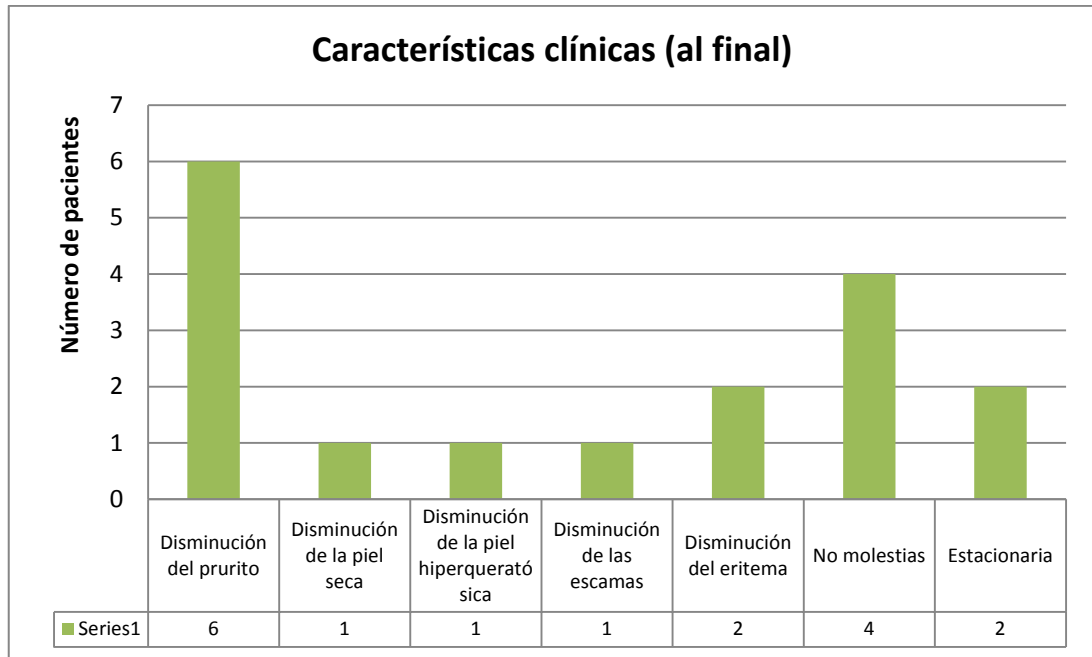
**TABLA 6. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PREVALENCIA (PREVIAS  
AL TRATAMIENTO CON ETANERCEPT)**

<b>Característica clínica al inicio</b>	<b>Prevalencia de la característica clínica</b>
<b>Prurito</b>	88.23%
<b>Piel seca</b>	70.58%
<b>Piel hiperqueratósica</b>	23.50%
<b>Escama</b>	70.58%
<b>Eritema</b>	58.82%

#### **1.4 Características clínicas al final del tratamiento**

Con relación a las características clínicas mencionadas, se observó que la que refirieron disminuyó de forma sustancial, fue la presencia de prurito (6 pacientes, 35.2%). En segundo lugar, 4 pacientes refirieron encontrarse asintomáticos al momento del interrogatorio (23.5%).

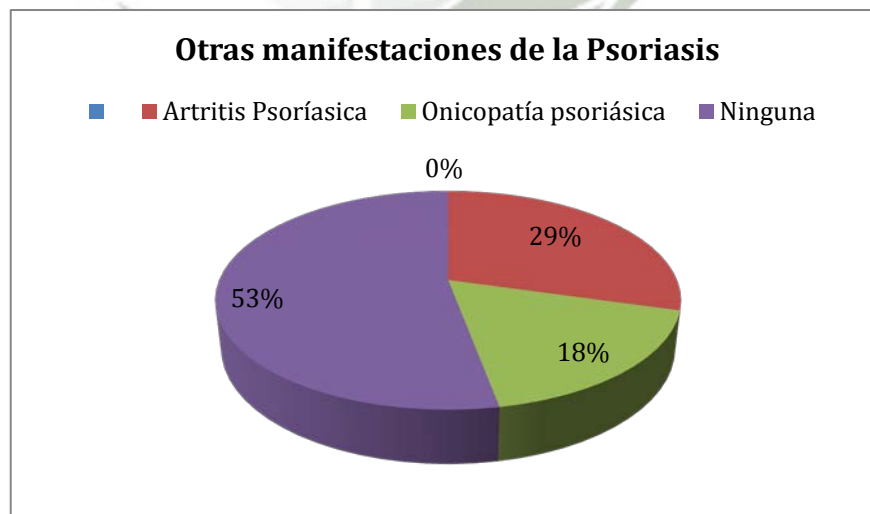
Dos de los pacientes, refirieron una evolución estacionaria del cuadro (11.7%). (Figura 11)



**FIGURA 11. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS AL FINAL DEL TRATAMIENTO**

**1.5 Otras manifestaciones clínicas de la Psoriasis:**

Se registraron otras manifestaciones de psoriasis en los pacientes evaluados. De un total de 17 pacientes consignados, 5 padecían concomitantemente de artritis psoriásica (29%) y 3 de ellos (18%) de compromiso ungueal secundario a la enfermedad. (Figura 12)

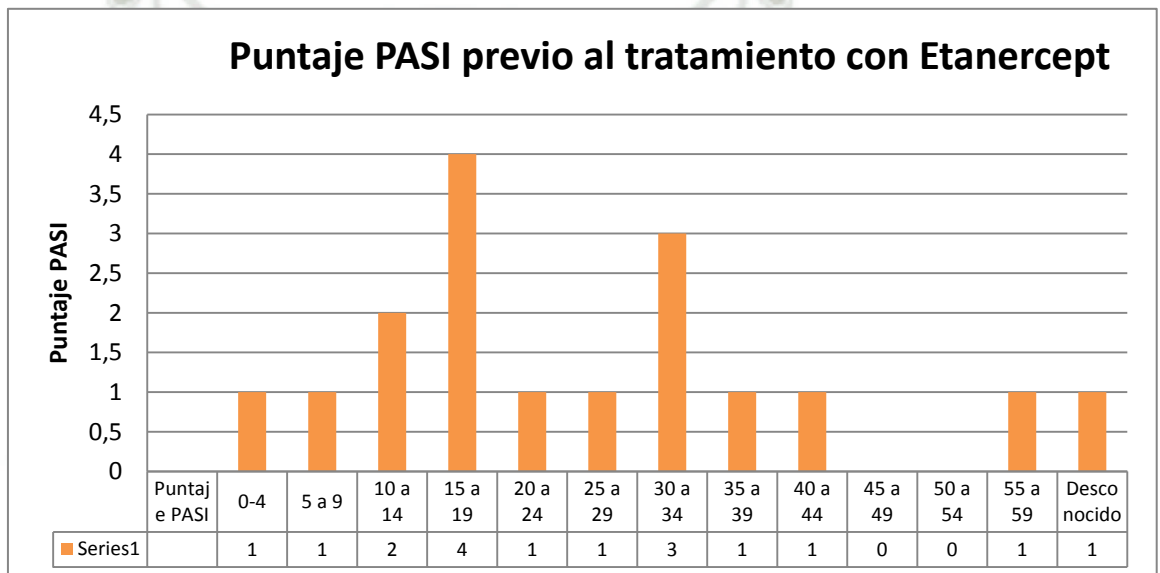


**FIGURA 12. OTRAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA PSORIASIS**

### 1.6 PASI Basal (Psoriasis Severity Index Basal):

Se analizó el PASI Basal en los 17 pacientes que fueron incluidos en el estudio. Se obtuvieron valores de PASI que van desde 3.3 hasta 57.5 con una media de 23.4. No se conocía el PASI Basal de un paciente en este estudio.

La mayor cantidad de pacientes contaba con un PASI entre 15 y 19 (4 pacientes, 25%) un segundo grupo, con un PASI entre 30 y 34 (3 pacientes, 18.7%) (Figura 13)



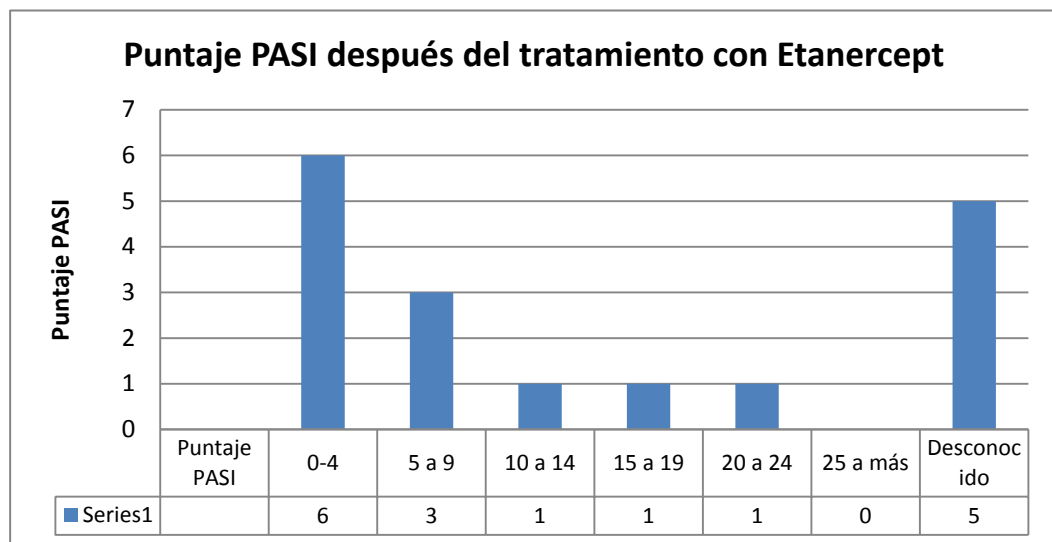
**FIGURA 13. PASI BASAL**

### 1.7 PASI Final (Psoriasis Severity Index Final):

Con relación al valor de PASI Final (post tratamiento con Etanercept), se evidenció una notable reducción del mismo en los pacientes estudiados. Los valores obtenidos oscilaban en los rangos entre 0 y 21.2. Seis de un total de 17 pacientes (37.2%), obtuvo un valor de PASI entre 0 y 4. Un total de 3 pacientes obtuvo un PASI final comprendido entre 5 y 9. Como parte de las

dificultades a las que tuvimos que enfrentarnos, fue a la falta de consignación de datos de PASI final en 5 pacientes (29.4%). (Figura 14).

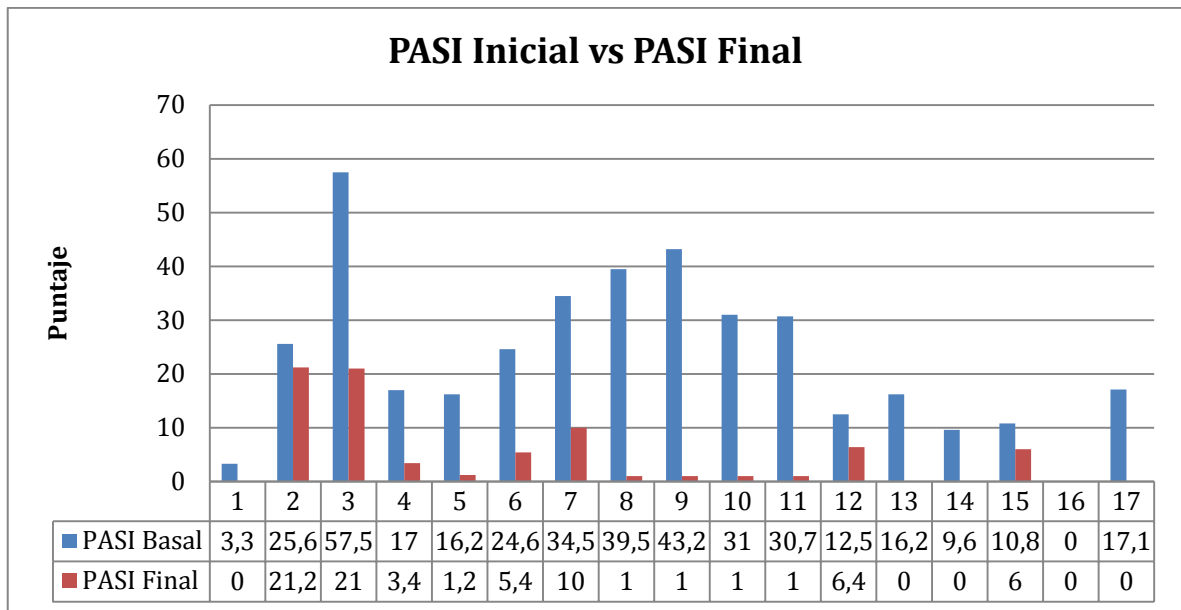
En términos de porcentaje, el 75% de pacientes mostró una disminución del PASI mayor al 60%.



**FIGURA 14. PASI FINAL**

### 1.8 PASI Basal vs PASI Final (Psoriasis Severity Index Basal vs Final)

Se hizo un análisis comparativo entre el PASI Basal y el PASI Final en los 17 pacientes estudiados evidenciándose una reducción notable del mismo (Figura 15). Es importante destacar que así mismo, se mencionan aquellos pacientes que cuentan con valores de PASI no consignados como es el caso del PASI Final del paciente 1, 13, 14, 16 y 17. Así mismo, la ausencia del valor de PASI Basal en el paciente 16.



**FIGURA 15. PASI BASAL VS PASI FINAL**

Se realizó la prueba de t para media de dos muestras emparejadas utilizando los datos del PASI basal y final, pero sólo se incluyeron los casos en donde ambos datos estaban consignados. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente Tabla.

**TABLA 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS DIFERENCIAS ENTRE EL PASI BASAL Y FINAL A TRAVÉS DE LA PRUEBA DE T PARA MEDIA DE DOS MUESTRAS EMPAREJADAS**

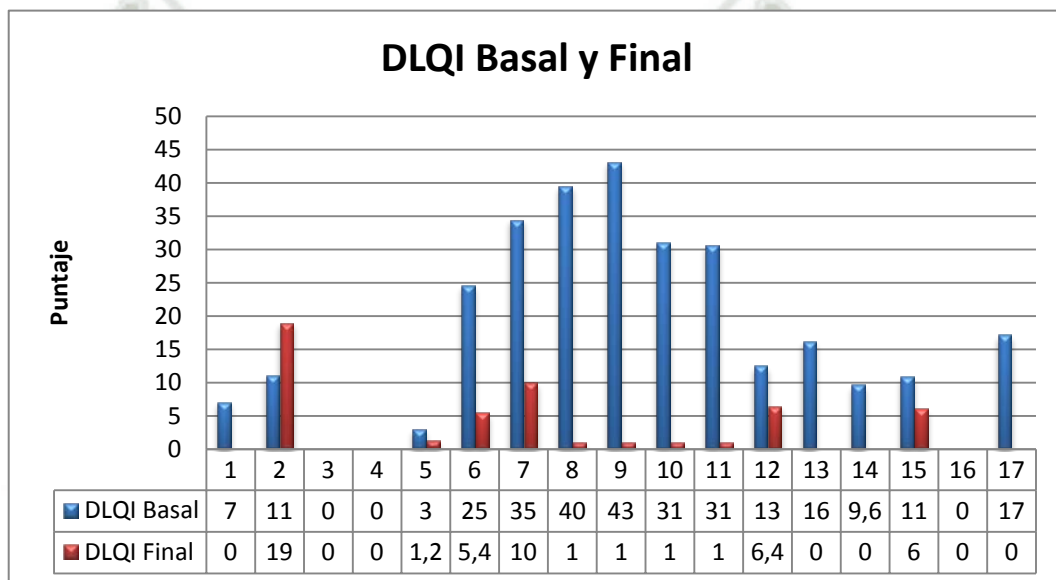
	<b>BASAL ( Antes)</b>	<b>FINAL ( Después)</b>
<b>MEDIA ARITMETICA</b>	28.86	5.21
<b>VARIANZA</b>	209.17	36.46
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	14.46	6.04
<b>Valor máximo</b>	57.5	21.2
<b>Valor mínimo</b>	10.8	1.0
<b>n</b>	12	12

$t = 6.075 \quad P = 0.000119$

La tabla anterior muestra que las diferencias entre los valores de PASI antes y después del tratamiento con etanercept son altamente significativos ( $P=0.00012$ )

### 1.9 DLQI Basal vs Final:

Se encontró una reducción considerable del DLQI Inicial en comparación al final en 8 de los pacientes estudiados (47.05%). Sin embargo, en algunas de las historias clínicas, dicho dato no estuvo consignado (6 pacientes, 35.2%) (Figura 16)



**FIGURA 16. DLQI BASAL VS DLQI FINAL**

En términos de porcentaje el DLQI disminuyó en más del 80% en el 44% de pacientes y en más del 60% en el 80% de pacientes.

Se realizó la prueba de t para media de dos muestras emparejadas utilizando los datos del DLQI basal y final, pero sólo se incluyeron los casos en donde ambos datos estaban consignados. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente Tabla.

**TABLA 8.** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS DIFERENCIAS ENTRE EL DLQI BASAL Y FINAL A TRAVÉS DE LA PRUEBA DE T PARA MEDIA DE DOS MUESTRAS EMPAREJADAS

	<b>BASAL ( Antes)</b>	<b>FINAL ( Después)</b>
<b>MEDIA ARITMETICA</b>	25.77	3.66
<b>VARIANZA</b>	192.44	11.32
<b>DESVIACION ESTANDAR</b>	13.87	3.36
<b>Valor máximo</b>	43	6.4
<b>Valor mínimo</b>	3.0	1.0
<b>n</b>	12	12

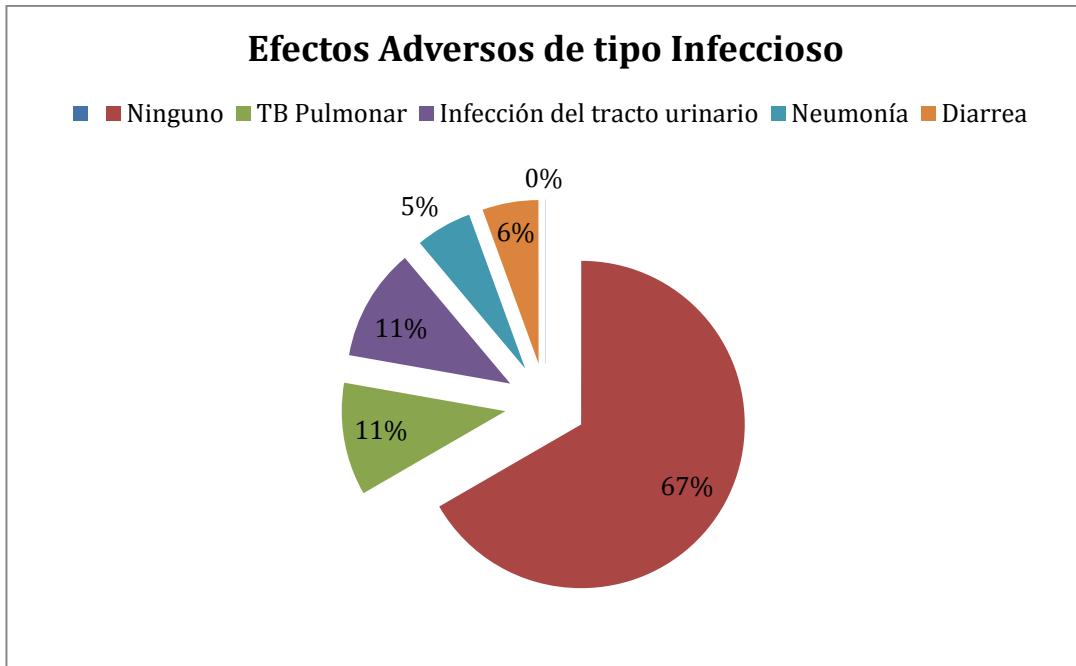
$$t = 4.46 \quad P = 0.00209$$

Los datos mostrados en la Tabla 8 indican que las diferencias encontradas entre el DLQI antes y después del tratamiento con etanercept son altamente significativas (  $P = 0.00209$  )

#### **1.10 Efectos Adversos de tipo infeccioso tras el uso de Etanercept:**

No se registraron acontecimientos adversos relacionados con la administración del fármaco en el sitio de punción durante el tratamiento.

Los efectos indeseados registrados (de tipo infeccioso) fueron 2 casos de infección del tracto urinario (11%), 1 episodio de neumonía (5%), 1 episodio de enfermedad diarreica aguda (5%) y la detección de 2 casos de TB Pulmonar (11%). Pese al diagnóstico de TB en dos de estos pacientes, no hubo necesidad de retirar el fármaco. Dichos pacientes iniciaron tratamiento antituberculoso según esquema protocolizado. (Figura 17)



**FIGURA 17. EFECTOS ADVERSOS DE TIPO INFECCIOSO RELACIONADOS AL USO DE ETANERCEPT**

#### 1.11 Otros efectos adversos:

En cuanto a alteraciones laboratoriales detectadas en los pacientes evaluados, se vio que de un total de 17 pacientes, en 9 de ellos (52.9%) se detectó elevación sustancial de perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, LDL Colesterol), así mismo en 9 de ellos (52.9%) se evidenció elevación en la actividad de enzimas hepáticas en el suero (TGO, TGP). Dentro de otros efectos adversos encontrados, se detectó que 2 pacientes (17.9%) presentaron leucopenia leve. No se reportaron alteraciones en las otras series hematológicas como son eritrocitos ni plaquetas (Tabla 9).

**TABLA 9. OTROS EFECTOS ADVERSOS RELACIONADOS AL USO DE ETANERCEPT**

<b>Alteración Laboratorial</b>	<b>Porcentaje detectado</b>	<b>Número de pacientes</b>
<b>Elevación del perfil lipídico</b>	52.9%	9
<b>Elevación de las enzimas hepáticas séricas</b>	52.9%	9
<b>Leucopenia leve</b>	17.9%	2
<b>Anemia</b>	0%	0
<b>Plaquetopenia</b>	0%	0
<b>Ninguna</b>	35.29%	6

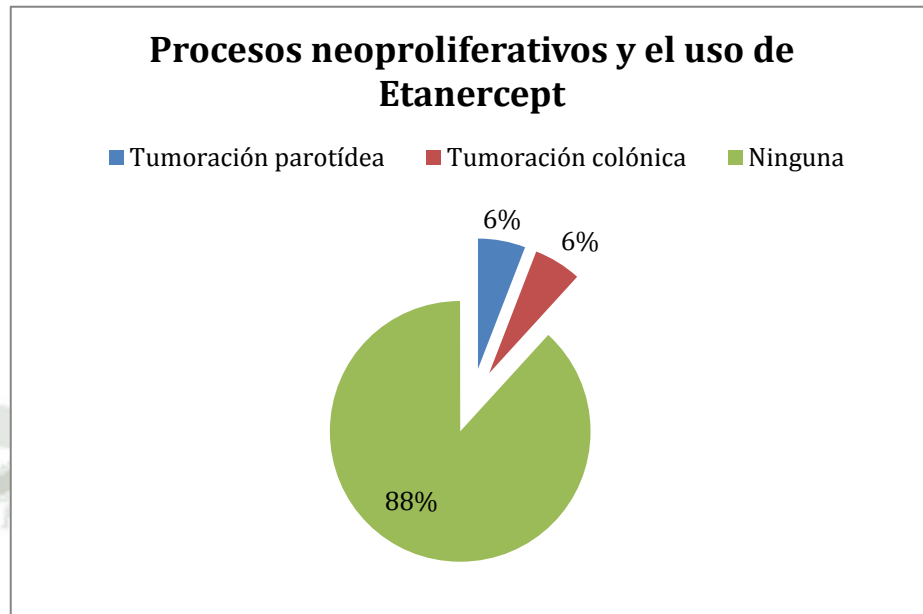
#### **1.12 Lectura PPD tras el uso de Etanercept:**

Dentro de parámetros consignados en la revisión de las historias clínicas, se consideró la valoración del PPD (Reacción de Mantoux) ante la presencia del M. Tuberculosis y la posible activación del mismo tras el uso del Etanercept. De la totalidad de pacientes estudiados, en 6 de ellos se encontró una lectura del PPD en 0 mm, en 1 de ellos; una lectura comprendida entre 1 y 5mm, en 2 de ellos; una lectura entre 6 y 10mm. En 2 pacientes se encontró un PPD (+) (mayor a 20 mm) incluso en ellos se inició tratamiento específico, no siendo esta contraindicación para el uso de Etanercept según sugerencias de Infectología. Seis de ellos no contaban con una lectura de PPD al momento de la revisión de las historias clínicas

#### **1.13 Procesos Neoproliferativos:**

Se encontró en 2 (16%) de los pacientes la presencia de diagnósticos de alta sospecha para neoplasias malignas. No se contaba, hasta el momento en que las historias fueron revisadas, con resultados de anatomía patológica concluyentes con tales

hallazgos. En uno de ellos, se evidenció la presencia de una tumoración dependiente de la glándula parótida y en otro paciente, se tenía la sospecha de una neoplasia maligna de origen gastrointestinal (colon) (Figura 18)



**FIGURA 18.** RELACIÓN DE PROCESOS NEOPROLIFERATIVOS Y EL USO DE ETANERCEPT

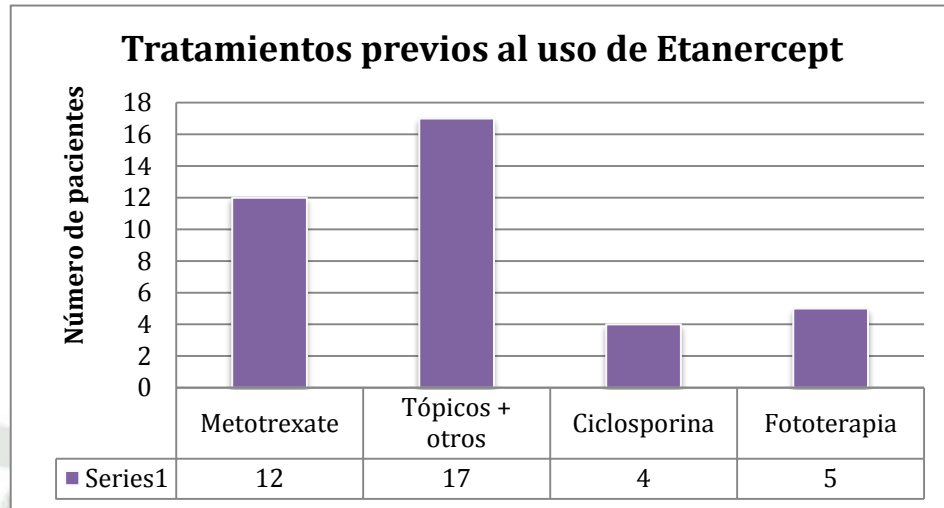
#### 1.14 Tratamientos previos recibidos:

De la totalidad de pacientes estudiados, se ha podido concluir que 12 de ellos (70.58%), recibieron tratamiento previamente con Metotrexate y que tuvieron posteriormente que abandonar dicho esquema terapéutico.

Cuatro de los pacientes (23%) recibió también tratamiento con Ciclosporina, tratamiento que según lo reportado, no modificó sustancialmente el PASI inicial, siendo necesario el cambio en el tratamiento.

Así mismo 5 de estos pacientes (29.4%) recibieron tratamiento en base a Fototerapia. Según señala la revisión de historias clínicas, los

resultados no modificaron considerablemente el PASI ni mucho menos el DLQI de nuestros pacientes. (Figura 19)

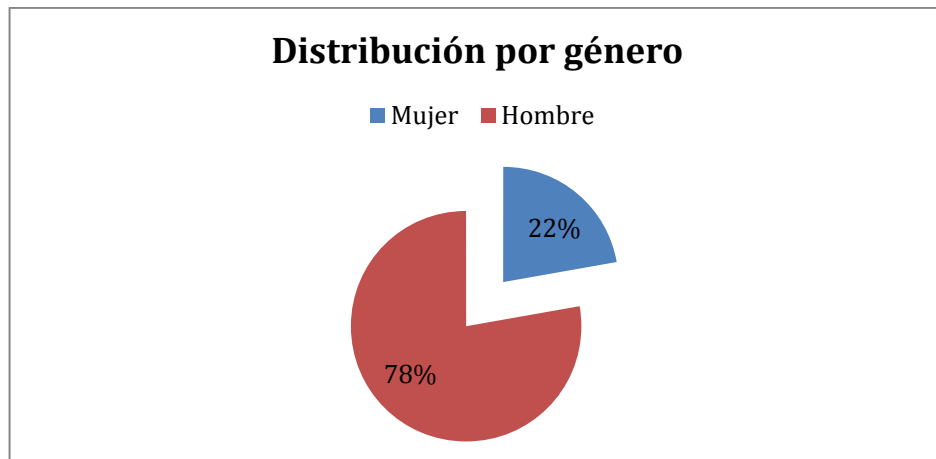


**FIGURA 19. TRATAMIENTOS PREVIOS RECIBIDOS**

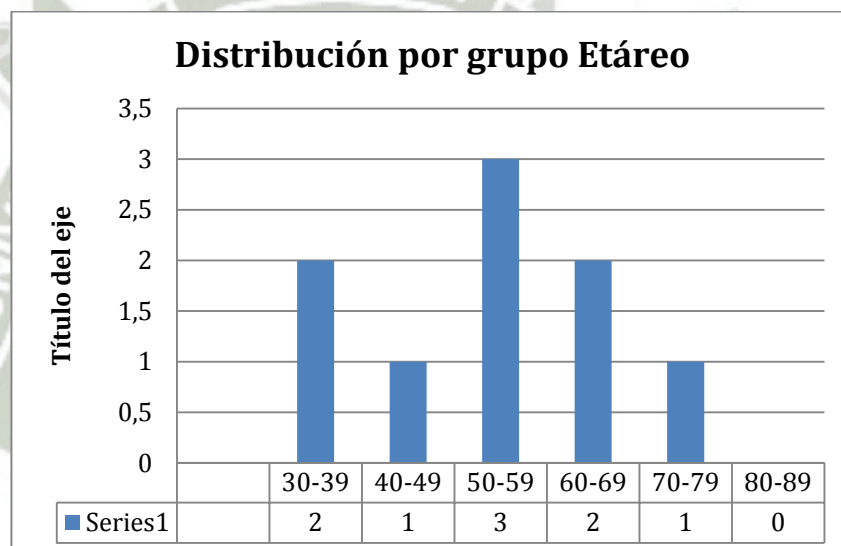
## 2. De los pacientes seleccionados:

### 2.1 Género y Edad:

De los 9 pacientes estudiados, 7 fueron varones (77.7%) y 2 mujeres (22.2%) (Figura 20). Las edades estuvieron comprendidas entre los 31 y 76 años, con un promedio de 52.6 años. El rango de edades con más pacientes fue el de 50 a 59 y el de 60 a 69, con 3 y 2 pacientes, respectivamente (Figura 21)



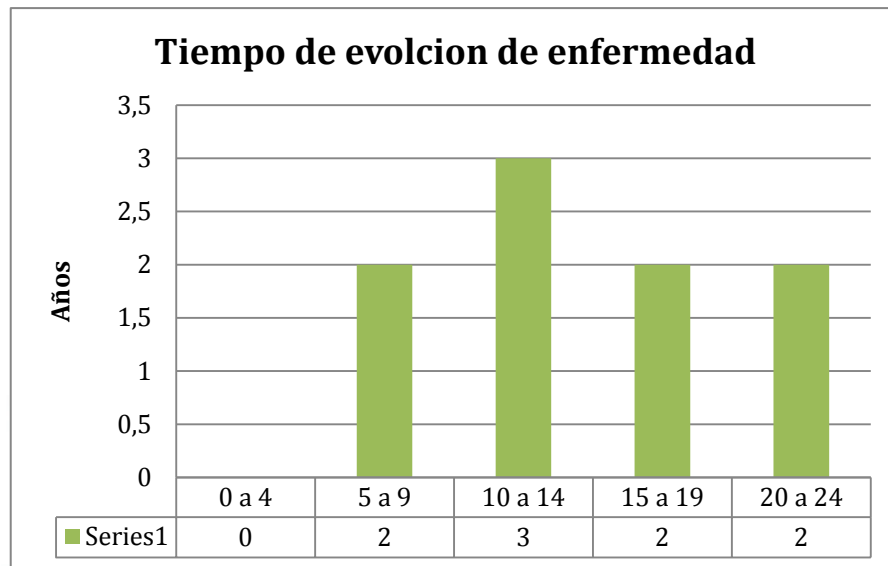
**FIGURA 20.** DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR GÉNERO



**FIGURA 21.** DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR GRUPO ETÁREO

## 2.2 Tiempo de evolución de la enfermedad:

De los 9 pacientes estudiados, se evaluó que el tiempo de evolución de la enfermedad, variaba entre los 6 y los 22 años; con una media de 13.1 años. Así mismo, se encontró que la mayor parte de pacientes (30%, 3 pacientes) tenía un tiempo de evolución de la psoriasis entre los 10 a 14 años (Figura 22)



**FIGURA 22. DISTRIBUCIÓN POR TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD (EN AÑOS)**

### 2.3 Características clínicas de la enfermedad:

De las características clínicas evaluadas en los 9 pacientes con psoriasis estudiados previo al tratamiento con Etanercept, se encontró que la mayor parte de ellos, refería en sus controles mensuales, prurito y piel seca como principal síntoma en su enfermedad (7 pacientes, 77.7%). Así mismo, como dato consignado en la historia por parte del médico especialista tratante, se encontró que la piel descamativa constituía la segunda expresión clínica más frecuente de la enfermedad (6 pacientes, 66.6%) (Tabla 10).

**TABLA 10. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS (PREVIAS AL  
TRATAMIENTO CON ETANERCEPT)**

<b>Característica clínica al inicio</b>	<b>Prevalencia de la característica clínica</b>
<b>Prurito</b>	77.7%
<b>Piel seca</b>	77.7%
<b>Piel hiperqueratósica</b>	44.4%
<b>Escama</b>	66.6%
<b>Eritema</b>	44.4%

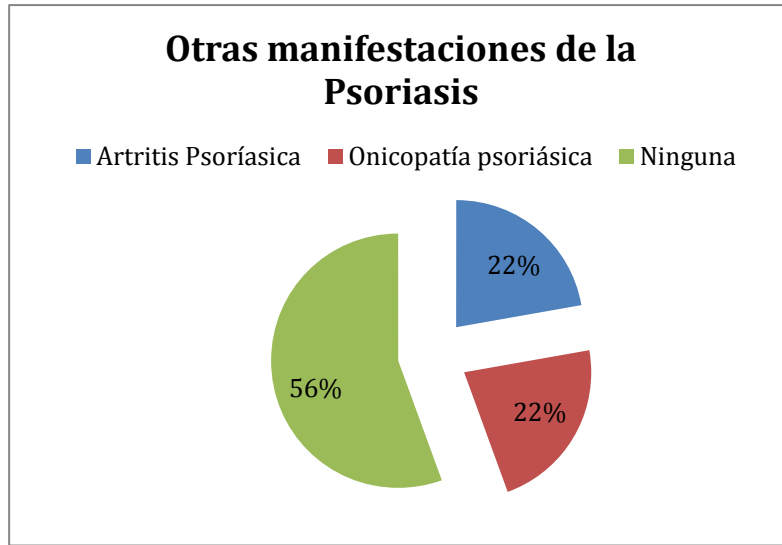
#### **2.4 Características clínicas al final del tratamiento:**

Con relación a las características clínicas mencionadas, se observó que la que refirieron disminuyó de forma sustancial, fue la presencia de prurito (4 pacientes, 44.4%). Cuatro pacientes refirieron encontrarse asintomáticos al momento del interrogatorio (44.4%).

Uno de los pacientes, refirieron una evolución estacionaria del cuadro (11.1%).

#### **2.5 Otras manifestaciones clínicas de la Psoriasis:**

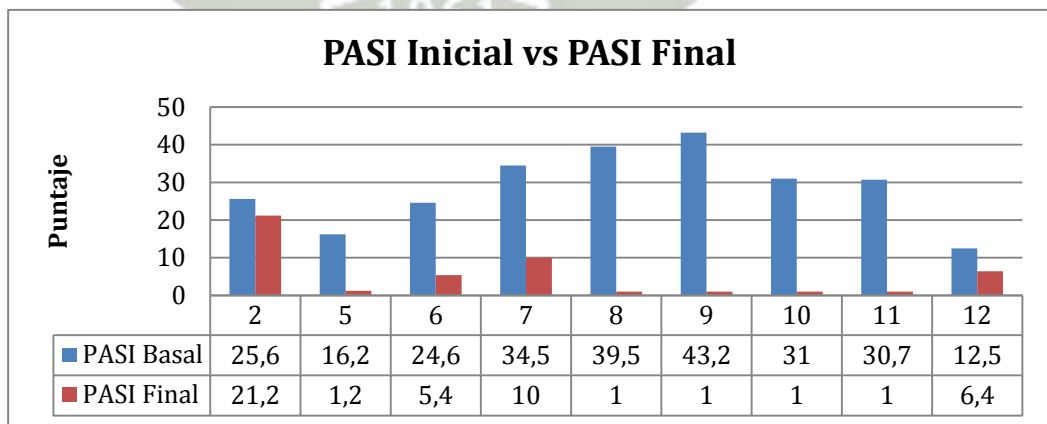
Se registraron otras manifestaciones clínicas de psoriasis en los pacientes evaluados. De un total de 9 pacientes consignados, 2 padecían concomitantemente de artritis psorásica (22.2%) y 2 de ellos (22.2%) de compromiso ungueal secundario a la enfermedad de fondo. (Figura 23)



**FIGURA 23. OTRAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA PSORIASIS**

### 2.6 PASI Basal vs PASI Final (Psoriasis Severity Index Basal vs Final):

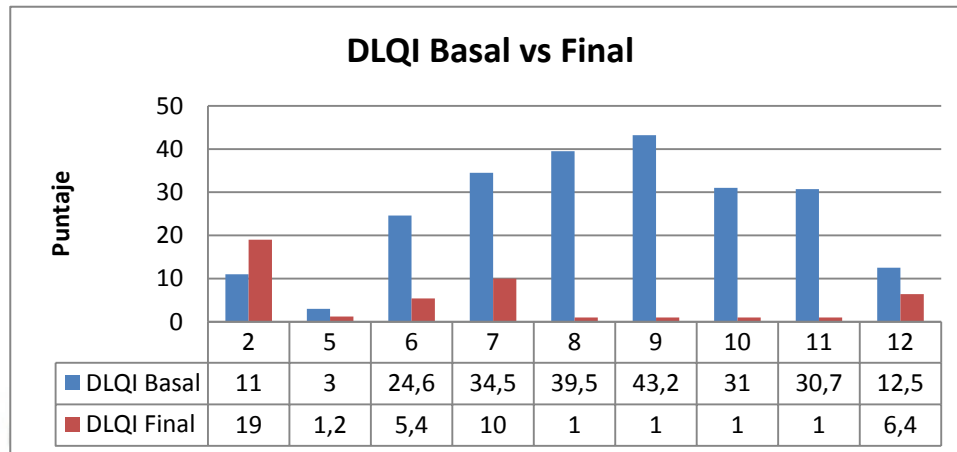
Se hizo un análisis comparativo entre el PASI Basal y el PASI Final en los 9 pacientes estudiados evidenciándose una reducción notable del mismo. Es importante destacar que para que los pacientes pudieran ser consignados dentro de los 9 estudiados, era criterio de inclusión el dato del PASI Inicial y Final. (Figura 24).



**FIGURA 24. PASI BASAL VS PASI FINAL**

### 2.7 DLQI Basal vs Final:

Se encontró reducción del DLQI Inicial en comparación al final en 8 de los pacientes estudiados (88.8%). Se encontró en 1 paciente, un ascenso del DLQI final en comparación al basal. (Figura 25)

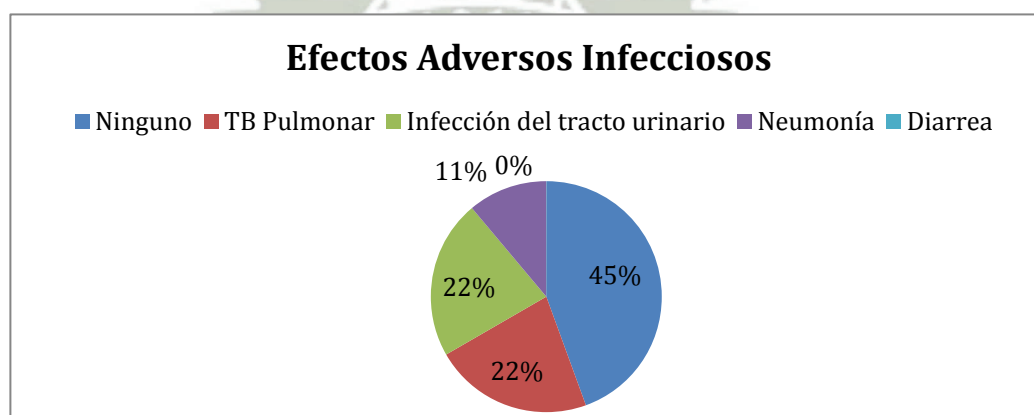


**FIGURA 25. DLQI BASAL VS PASI FINAL**

### 2.8 Efectos Adversos de tipo infeccioso:

No se registraron acontecimientos adversos asociados a la administración del fármaco en el sitio de punción durante el tratamiento en ninguno de los 9 pacientes seleccionados.

Los efectos indeseados registrados (de tipo infeccioso) fueron 2 casos de infección del tracto urinario (11%), 1 episodio de neumonía (5%) y la detección de 2 casos de TB Pulmonar (11%). (Figura 26)



**FIGURA 26. EFECTOS ADVERSOS DE TIPO INFECCIOSO RELACIONADOS AL USO DE ETANERCEPT**

## 2.9 Otros efectos adversos:

En cuanto a alteraciones laboratoriales detectadas en los pacientes evaluados, se vio que de un total de 9 pacientes, en 5 de ellos (55.5%) se detectó elevación sustancial de perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, LDL Colesterol), concomitantemente se evidenció elevación en la actividad de enzimas hepáticas en el suero (TGO, TGP).

Dentro de otros efectos adversos encontrados, se detectó que 1 paciente (11.1%) presentó leucopenia leve. Tres pacientes (33.3%) no tuvieron alteración alguna en las pruebas de laboratorio. (Gráfica 32).

**TABLA 11. OTROS EFECTOS ADVERSOS RELACIONADOS AL USO DE ETANERCEPT**

<b>Alteración Laboratorial</b>	<b>Porcentaje detectado</b>	<b>Número de pacientes</b>
<b>Elevación del perfil lipídico</b>	55.5%	5
<b>Elevación de las enzimas hepáticas</b>	55.5%	5
<b>Leucopenia leve</b>	11.1%	1
<b>Anemia</b>	0%	0
<b>Plaquetopenia</b>	0%	0
<b>Ninguna</b>	33.3%	3

## 2.10 Lectura del PPD:

Dentro de parámetros consignados en la revisión de las historias clínicas, se consideró la valoración del PPD (Reacción de Mantoux) ante la presencia del M. Tuberculosis y la posible activación del mismo tras el uso del Etanercept. De los 9 pacientes estudiados, en 3 de ellos se encontró una lectura del PPD en 0 mm, en 1 de ellos;

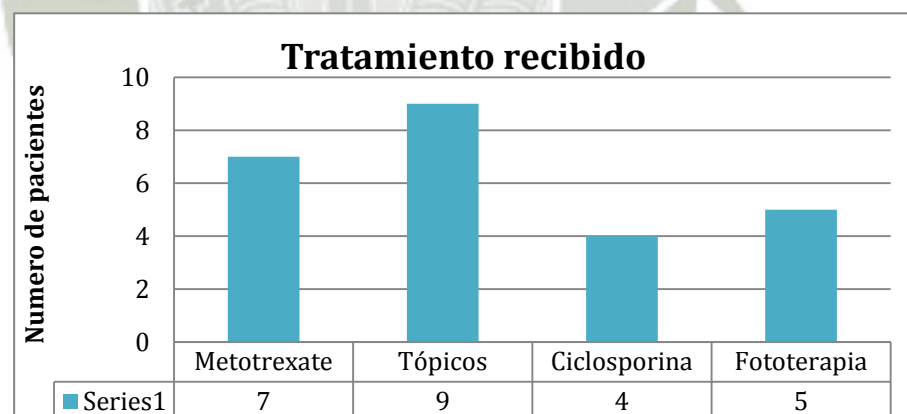
una lectura entre 6 y 10mm. En 1 pacientes se encontró un PPD (+) (mayor a 20 mm) Cuatro de ellos no contaban con una lectura de PPD al momento de la revisión de las historias clínicas.

### 2.11 Procesos Neoproliferativos:

En ninguno de los pacientes estudiados, se encontró un hallazgo compatible con algún proceso neoproliferativo.

### 2.12 Tratamientos previos recibidos:

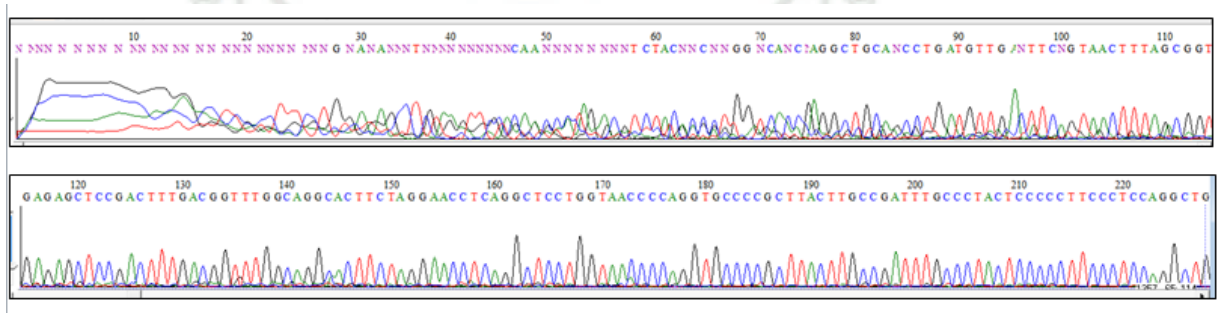
De la totalidad de pacientes estudiados, se ha podido concluir que 7 de ellos (77.7%), recibieron tratamiento previamente con Metotrexate. Se concluye también que la totalidad de ellos (100%) recibió tratamiento tópico en base a pomadas saliciladas, corticoides como la beclometasona junto a otros tratamientos instaurados. Es importante mencionar que 4 de estos pacientes (44.4%) recibió también tratamiento con Ciclosporina. Así mismo 5 de estos pacientes (55.5%) recibieron tratamiento en base a Fototerapia. (Figura 27)



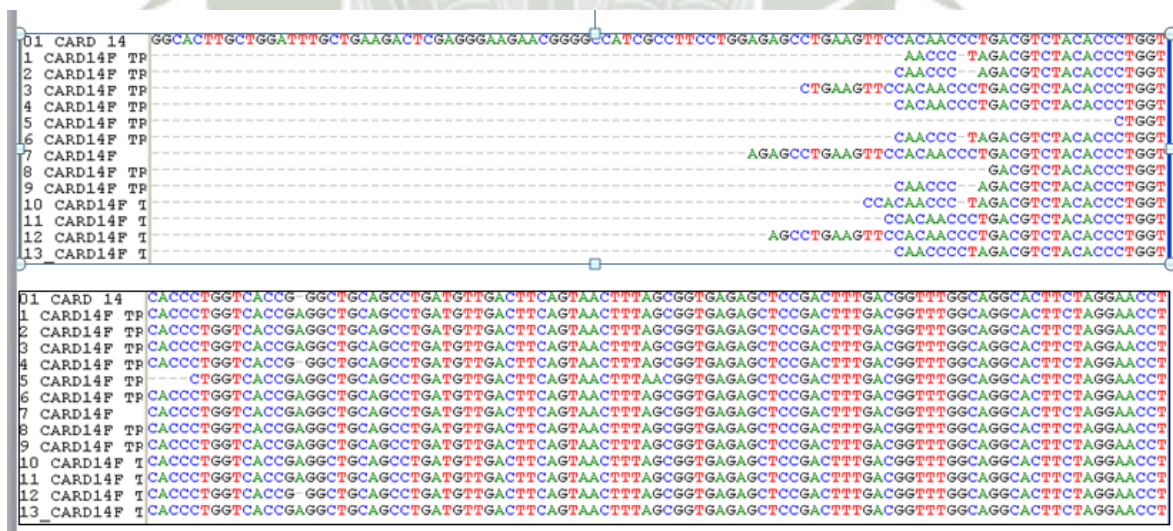
**FIGURA 27. TRATAMIENTOS PREVIOS RECIBIDOS**

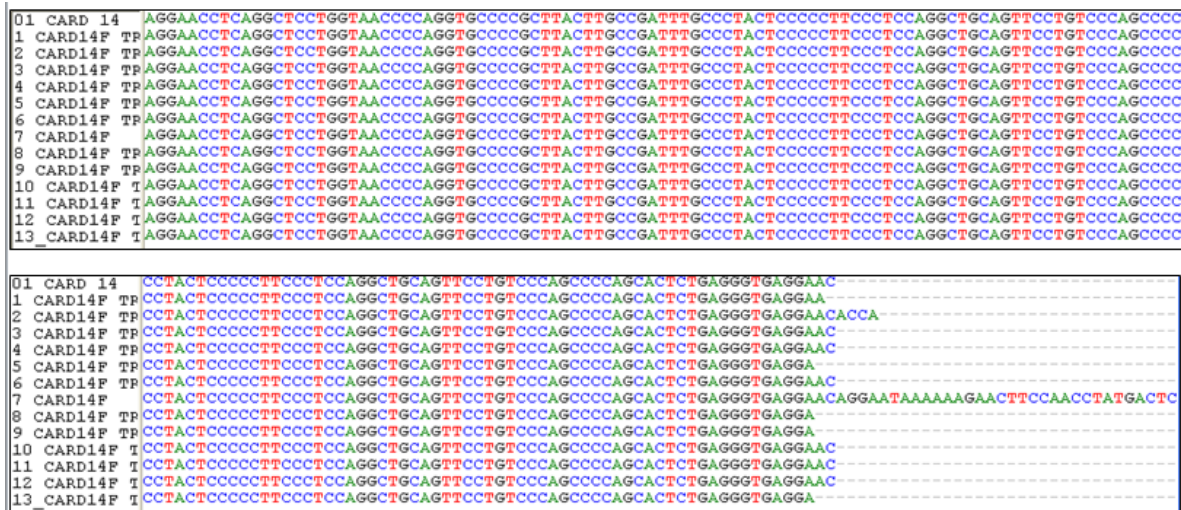
### 3. Resultados del estudio del estudio de las mutaciones en el gen CARD14 en los pacientes seleccionados

Las secuencias correspondientes al fragmento seleccionado del gen CARD14 de los 9 pacientes con psoriasis y de los 4 controles fueron comparados con la secuencia homóloga del homo sapiens presente en la base de datos GenBank. La figura siguiente muestra el cromatograma de una de las muestras (muestra del paciente 5), en donde se observan los diferentes picos fluorescentes, correspondiendo un color para cada nucleótido.



**FIGURA 28.** CROMATOGRAMA QUE PERMITIÓ SECUENCIAR EL FRAGMENTO SELECCIONADO DEL GEN CARD14. Verde : Adenina; Rojo: Timina; Negro: Guanina ; Azul : Citosina





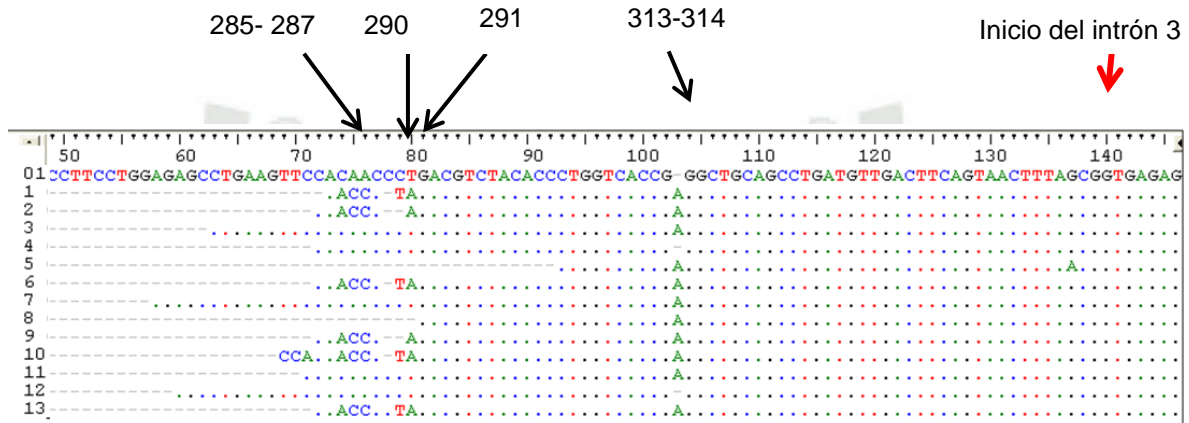
**FIGURA.29. SECUENCIA DEL FRAGMENTO AMPLIFICADO DEL FINAL DEL EXÓN 3 E INICIO DEL INTRÓN 3 DEL GEN CARD14**

01: Secuencia del homo sapiens. 1-9 Secuencias de los pacientes con psoriasis. 10-13 Secuencias de los controles.

Las diferencias más importantes encontradas con respecto a la secuencia estándar utilizada (secuencia del fragmento homólogo del homo sapiens) (Figura 30) permite detectar las siguientes mutaciones:

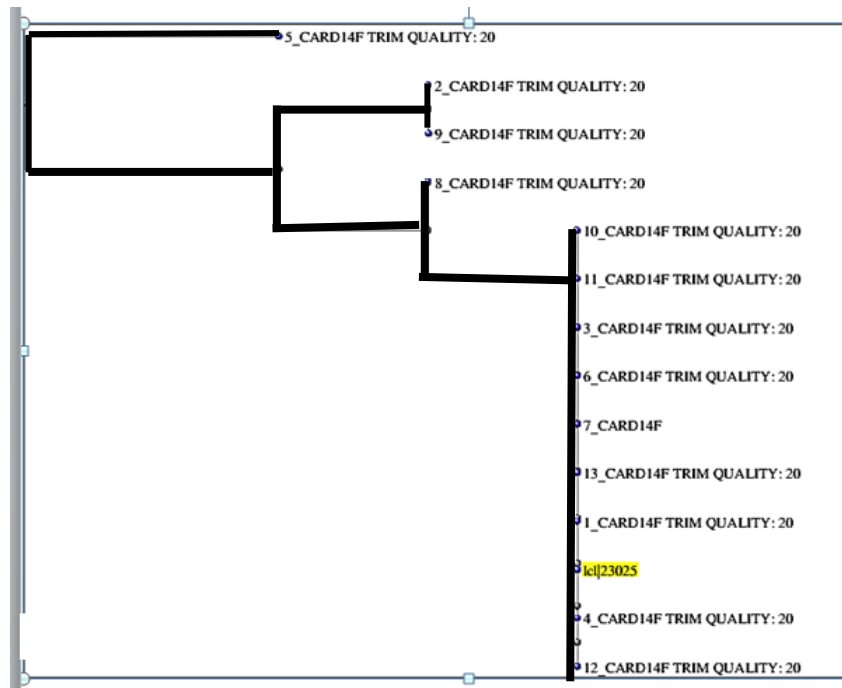
- En el paciente 5 mostró una mutación tipo transición (G>A) a nivel del nucleótido 347 y está a sólo 2 nucleótidos del 349 que es el lugar donde se encontró una de las mutaciones características de este gen relacionadas con la psoriasis y que es nominada como 349G>A. La mutación que hemos detectado sería nominada 347G>A o también 349 -2G>A
- Entre los nucleótidos 313 y 314 ocurrió una inserción del nucleótido de adenina, la cual se presentó en todos los pacientes excepto el 4, pero también los controles, con excepción del 12 la presentaron
- A nivel del nucleótido 291 se encontró una transversión (291T>A) en los pacientes 1,2,6 y 9 y en los controles 10 y 13

- A nivel del nucleótido 290 se encontró una mutación del tipo transición (290C>T) en los pacientes 1 y 6 y en los controles 10 y 13
- A nivel de los nucleótidos 285,286 y 287 ocurrió una triple transversión consecutiva (CAA>ACC) en los pacientes 1,2,6 y 9 y en los controles 10 y 13



**FIGURA 30.** SECUENCIA ESTÁNDAR UTILIZADA (SECUENCIA DEL FRAGMENTO HOMÓLOGO DEL HOMO SAPIENS) Y PRESENCIA DE LAS MUTACIONES

En vista que la secuencia del gen CARD14 amplificada incluye lugares en donde se han descrito mutaciones asociadas a la psoriasis, el establecimiento de la filogenia molecular resulta ser una alternativa importante para determinar cuan diferentes son las secuencias de los pacientes psoriásicos con respecto a los controles y a la misma secuencia homóloga control del homo sapiens. Las diferencias se pueden presentar a manera de un árbol de distancias, que fue construido usando el programa Mega 4.1, escogiendo para el análisis de las secuencias el método de Maximun parsimonia (MP). Los resultados se aprecian en la figura siguiente.



**FIGURA 31.** ÁRBOL DE DIFERENCIAS ENTRE LAS SECUENCIA DEL FRAGMENTO DEL GEN CARD14 AMPLIFICADO TANTO DE LOS PACIENTES COMO DE LOS CONTROLES.

Se puede evidenciar que es el fragmento del paciente 5 el que tiene las mayores diferencias en cuanto a la secuencia, siendo precisamente en este paciente en donde se detectó la mutación clave asociada a la psoriasis. El fragmento del paciente 2 y del paciente 9 son los siguientes en diferencias en cuanto a las secuencias. En tercer lugar se encuentra el fragmento del paciente 8. Los pacientes con secuencias más parecidas a los controles son el 3,6,7,1 y 4

## CAPÍTULO III

### DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

#### 1. EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON ETANERCEPT

Está determinado que el etanercept actúa inhibiendo competitivamente la unión del factor de necrosis tumoral (TNF) a su receptor localizado en la superficie celular (TNF- R1), impidiendo de este modo que se desencadene la cascada pro inflamatoria propia de la enfermedad y que es mediada por este factor.

La introducción de los agentes terapéuticos biológicos en el tratamiento de la psoriasis es relativamente reciente y se constituye actualmente en una herramienta muy valiosa para el tratamiento de la psoriasis, existiendo todavía en algunos especialistas cierto rechazo al uso de estos fármacos por considerar que su eficacia y sus efectos colaterales aún no han sido lo suficientemente precisados. Además, el costo de este tratamiento es relativamente alto en relación al de los tratamientos tradicionales.

Esta situación determina el interés que se tiene en evaluar la respuesta a la terapia biológica de la psoriasis, y si bien es cierto que se han reportado varios estudios a nivel mundial, en nuestro país no se cuenta con mayores reportes al respecto y resulta aún importante comunicar nuevas experiencias que reflejen su eficacia así como los efectos colaterales que pudieran tener. Esto permitirá que el médico especialista, tenga la confianza suficiente para utilizar estos fármacos en el tratamiento de los pacientes afectados, que lo requieran.

Dentro del tratamiento biológico disponible como parte del arsenal terapéutico de la psoriasis, el etanercept es uno de los más utilizados por la respuesta clínica que se viene obteniendo y por la buena tolerancia que parece tener.

En el año 2002 fue aprobado por la Administración de Alimentos y Drogas de EEUU (FDA) el uso del etanercept en el tratamiento de la artritis psoriasisica activa y en el 2004 se aprobó su uso para la psoriasis moderada a severa. En el Hospital Nacional Carlos Alberto Segúin Escobedo, donde se realizó este trabajo, se viene empleando este fármaco para el tratamiento de la psoriasis desde el año 2009 hasta la actualidad y esta es la primera evaluación que se hace de su resultado.

El índice de área de la psoriasis y severidad (PASI) fue introducido por Fredrikson y Pettersson en 1978 como una medida de la severidad de la enfermedad y desde aquella época se ha venido usando para evaluar la respuesta al tratamiento de la misma. Ha sido ampliamente validado y la FDA estableció el PASI 75 como una estimativa práctica para valorar la eficacia de los nuevos fármacos biológicos usados en el tratamiento de la enfermedad. El PASI 75 corresponde en los ensayos clínicos al porcentaje de pacientes que alcanzó una mejoría superior o igual al 75% del PASI basal

Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran claramente la eficacia del fármaco en el tratamiento de la psoriasis. El promedio de PASI antes del tratamiento fue de 28.86 y después del mismo alcanzó la cifra de 5.21. El PASI 75 alcanzó un valor del 58%, siendo interesante señalar que de los 7 pacientes con PASI 75, cinco alcanzaron una mejoría superior al 90% (PASI 90), es decir corresponden a pacientes en quienes el tratamiento con etanercept tuvo una respuesta altamente eficaz.

En un estudio realizado en Valencia, España (Martín B y col. 2008) en 36 pacientes que recibieron etanercept en un período de dos años, se encontró que a los 3 meses de tratamiento, el PASI 75 fue de 44%. La evaluación a los 6 meses de tratamiento mostro que el PASI 75 aumento al 75%. Nuestros resultados son mejores que los obtenidos por estos autores a los 3 meses de tratamiento e incluso podrían ser mejores que los obtenidos a los 6 meses ya que nuestros pacientes tuvieron un PASI

90 del 42%.. En otro estudio, reportado por Ceballos E y Habicheyn S (2005) sobre la eficacia del etanercept en el tratamiento de la psoriasis y de la artritis psoriásica que incluían más de 1.000 pacientes, se encontró respuestas de PASI 75 del 44% y del 59% en pacientes tratados con el fármaco a dosis de 25 y 50 mg dos veces por semana, respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos por nosotros y aquí también es pertinente la observación del PASI 90 obtenido en un 42% de nuestros pacientes. En una revisión sistemática de los resultados del tratamiento con etanercept y efalizumab de la psoriasis realizado por Woolacott N. y col (2006) se encontró en tres ensayos clínicos que con las dosis de 25 mg o de 50 mg de etanercept dos veces por semana y durante 12 semanas, el PASI 90 alcanzó cifras de 11% y 21%, respectivamente.

En un estudio en donde se compara la variación de la calidad de vida dermatológica (DLQI) antes y después del tratamiento sistémico y tópico versus el tratamiento biológico de la psoriasis (Castañeda J., 2010) mostró que el tratamiento sistémico y tópico no mejoró significativamente la calidad de vida ya que apenas un 10 % la mejoró; en cambio con el tratamiento biológico la calidad de vida mejoró en un 90% de pacientes. En nuestro estudio, el promedio de DLQI antes de tratamiento fue de 25.7 con DS 13.8 (rango de mala calidad de vida) y después del tratamiento el promedio fue de 3.6 con DS 3.3 (rango calidad de vida satisfactoria)

En cuanto a los efectos adversos asociados al uso del etanercept, en nuestro estudio han sido mínimos. Las infecciones en el lugar de la inyección del fármaco, que para algunos autores figura como la complicación más frecuente, en nuestro caso no la encontramos en ninguna de las historias clínicas, aunque no descartamos la posibilidad que no fue consignada por la inocuidad de la lesión. Las infecciones que encontramos en nuestros pacientes durante la época que recibieron el tratamiento con etanercept y que fueron señales en Resultados

simplemente correspondieron a infecciones urinarias (2 casos), neumonía (1 caso), enfermedad diarreica (1 caso) y TB Pulmonar (2 casos) y cuya relación directa con el tratamiento es difícil de precisar. En las alteraciones laboratoriales detectadas, las del perfil lipídico deben estar más asociadas a la psoriasis misma o al tratamiento sistémico previo que recibieron que al efecto del tratamiento biológico. Así, en un estudio realizado en el Hospital Nacional de Policía en Lima, Perú, se encontró que el 77% de los pacientes con psoriasis presentaba dislipidemia (Ponce-Rodríguez M y Mendoza R, 2012). Como se señaló antes, el que un 52.9 % de nuestros pacientes mostrara aumento en la actividad sérica de las enzimas hepáticas (TGO y TGP) durante el tratamiento con etanercept se explicaría por el metotrexate que recibieron anteriormente. La sospecha de procesos neoproliferativos malignos en 2 pacientes de nuestro grupo, no fue confirmada hasta el momento de concluir este estudio.

## 2. ESTUDIO DE LAS MUTACIONES EN EL GEN CARD14

Es conocido que el gen CARD14 codifica para una proteína de 1004 aminoácidos la cual tiene como funciones activar al factor de transcripción NF- $\kappa$ B y regular la apoptosis (Scuidiero I. y col, 2011). Este gen se expresa en varios tejidos y lo hace también en el queratinocito de la piel normal e inflamada. En la piel normal su expresión ocurre en las capas basales, mientras que en la piel psoriásica el gen está ausente en las capas basales pero está presente en todas las capas superiores (suprabasales) (Jordan C. y col., 2012). La activación descontrolada del NF- $\kappa$ B, que sería secundaria a las mutaciones en el gen CARD14, llevaría a la activación de varios genes en el queratinocito, cuyos productos (IL8, CCL20, SOD2, etc) llevan al reclutamiento y diferenciación de las células inflamatorias. Estas células dendríticas activadas producen IL 23 y las células T producen IL17 e IL22 que llevan a la mayor activación del queratinocito y a la hiperplasia epidermal propia de la enfermedad psoriásica.

La mutación 349G>A en el gen CARD14, asociada a la psoriasis fue la primera en ser descrita (Bertin J. y col., 2001). Posteriormente se describió otra mutación (349+5 G>A) en el mismo gen, en una familia taiwanesa y ubicada a sólo 5 nucleótidos de la primera. Estas mutaciones ubicadas al final del exón 3 e inicio del intrón 3 hacen pensar que alterarían el mecanismo del empalme (splicing) durante el proceso de remoción de los intrones en el procesamiento del mensajero y determinarían cambios en la proteína que codifica, provocando su mayor actividad y con ello el gatillo para el mecanismo de la lesión psoriásica. Estos cambios en la estructura primaria final de la proteína determinados por estas mutaciones han sido demostrados experimentalmente (Jordan C. y col. 2012).

Lo anterior determinó que en nuestro estudio se seleccione un fragmento del gen CARD14 ubicado al final del exón 3 e inicio del intrón 3 para amplificarlo, secuenciarlo y detectar las mutaciones que podrían encontrarse en nuestros pacientes con psoriasis. Como fue señalado en Resultados, en el paciente 5 se encontró una mutación de tipo transición con el cambio G>A, en el nucleótido 347, es decir con las mismas características que las dos mutaciones reportadas anteriormente y curiosamente a solo dos nucleótidos de la mutación inicialmente descrita (349 G>A). Por esta razón, la mutación que hemos encontrado la denominamos como 349 -2 G>A.

Si bien es cierto que sólo estuvo presente en uno de nuestros pacientes (11.1 %), su localización y tipo de mutación hace pensar que podría tener un rol importante en la etiopatogenia de la psoriasis. Este paciente presentó un PASI alto (24.6). Este hallazgo apertura la posibilidad de mayores estudios para confirmar su rol en la etiopatogenia de la enfermedad psoriásica.

La inserción del nucleótido de adenina que ocurrió entre los nucleótidos 313 y 314 se encontró en todos los pacientes con excepción de uno (89%), pero también se encontró en 3 de nuestros controles (75%).

Estos resultados hacen pensar que esta mutación estaría más relacionada a factores étnicos que con la enfermedad misma. Las otras mutaciones detectadas se dieron con similar frecuencia en los pacientes que en los controles por lo que su presencia también la atribuimos más a razones étnicas.

En Resultados también se mostró el estudio de la filogenia molecular entre los fragmentos homólogos de los pacientes y controles, con la intención de destacar las diferencias que en términos de secuencia nucleotídica tenían. Como era de esperar es el paciente 5 el que mostró mayor variación, seguido de un segundo grupo integrado por los pacientes 2 y 9 al cual le sigue el paciente 8. En el grupo con menores diferencias están los pacientes 3, 6, 7, 1 y 4, pero también están los controles. Usando este parámetro no se pueden establecer diferencias entre los pacientes con psoriasis y los controles. Los pacientes que mostraron el PASI más alto antes del tratamiento fueron el 2, 7 y 8 y precisamente dos de estos (2 y 8) mostraron mayor variación en secuencia en relación a los controles y a la secuencia homóloga en el homo sapiens. Consideramos que estos datos son aún insuficientes como para pronunciarnos sobre la existencia de alguna relación entre la severidad de la psoriasis y las variaciones detectadas en la secuencia.

Los pacientes que mejor respondieron al tratamiento con etanercept fueron el 7, 8 y 9 con PASI 95, siendo dos de ellos (8 y 9) los que mostraron mayor variación en la secuencia del fragmento amplificado, comparado con los controles y con el homo sapiens. Estos datos son solamente sugerentes que podría existir cierta relación entre la respuesta al etanercept y las variaciones en la secuencia en el fragmento del gen CARD14 seleccionado. Serán necesarios otros estudios con un mayor número de pacientes e incluso con búsqueda de mutaciones en otros sectores del gen CARD14 y de comprobarse alguna relación, se podría disponer de un método para adelantar la respuesta que tendría un paciente psoriásico al tratamiento con este fármaco

biológico y la explicación molecular estaría en que las mutaciones en el gen CARD14 determinarían la síntesis de un receptor del factor de necrosis tumoral al cual se uniría más fácilmente el etanercept para bloquearlo

En este trabajo hemos comprobado la eficacia del tratamiento de la psoriasis moderada a grave con etanercept, no solamente por la respuesta obtenida de manera especial en el porcentaje de reducción del PASI sino también por la casi total ausencia de efectos adversos en los pacientes que lo recibieron. La limitación que encontramos fue el número de pacientes que pudimos utilizar, derivado del hecho que solo desde el 2009 se comenzó a emplear el fármaco en el tratamiento de la psoriasis y también a fallas en los reportes de las historias clínicas en donde faltaban algunos datos, como el PASI y el DLQI. Los estudios que reportamos sobre las mutaciones en el gen CARD14 en los pacientes psoriaticos son pioneros en nuestro país y si bien los consideramos preliminares, abren el camino para estudios posteriores en donde se podrán emplear una mayor número de pacientes, se podrán ampliar los estudios a sus familiares y se podrán buscar mutaciones en otros sectores del gen. Todos estos estudios contribuirán a conocer mejor las bases moleculares de la psoriasis, detectar a las personas con mayor riesgo de hacer la enfermedad, conocer anticipadamente la respuesta que tendría al tratamiento con etanercept e igualmente contribuir al diseño de nuevos fármacos para su tratamiento.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES

1. El tratamiento de los pacientes con etanercept como monoterapia resultó altamente eficiente con un PASI 75 y PASI 90 de 58% y 90%, respectivamente y con un DLQI promedio después del tratamiento de 3.6 que se encuentra en el rango satisfactorio
2. El uso del etanercept a la dosis de 25 mg , 50 mg o 100 mg de una a dos veces por semana durante todo el tiempo que duró el tratamiento, fue bien tolerada por los pacientes ya que no se encontraron mayores efectos colaterales
3. No se detectaron las mutaciones 349 G>A y 349 +5 G>A en los pacientes en los que hicimos la amplificación de un sector del gen CARD14 y su secuenciación
4. En uno de nuestros pacientes (11.1%) se detectó una mutación que, a nivel mundial, no ha sido descrita anteriormente. A ésta la hemos denominado 349-2 G>A y se encuentra a sólo dos nucleótidos de la primera mutación descrita en el gen CARD14 asociada a psoriasis, que tiene las mismas características y que hace pensar la importancia que tiene en relación a la enfermedad.
5. La nueva mutación detectada por nosotros (349-2 G>A) no guarda mayor relación con la severidad de la enfermedad ni con la respuesta al etanercept. Así mismo, las otras mutaciones detectadas en los pacientes, también fueron detectadas en los controles en una proporción parecida. Estas mutaciones podrían estar asociada a factores raciales, antes que a la enfermedad misma.

## RECOMENDACIONES

1. Continuar con la evaluación de la eficacia del tratamiento de la psoriasis con Etanercept y otros agentes biológicos para ampliar la casuística recomendando que el PASI y el DLQI se evalúen regularmente durante el tratamiento y de preferencia por el mismo profesional.
2. En los pacientes que suspendan el tratamiento, estimar la recidiva de la enfermedad en el tiempo, a través del PASI y del DLQI.
3. Ampliar el estudio de la novedosa mutación que hemos encontrado (349-2 G>A) en mayor número de pacientes, de tipo multicéntrico y de manera especial en los familiares del paciente afectado.
4. Estudiar la presencia de mutaciones en otros sectores sensibles del Gen CARD14 que actualmente están comenzando a ser relacionados con la enfermedad.
5. Continuar el estudio de las mutaciones en el gen CARD14 y relacionarlas con la severidad de la enfermedad y con la respuesta al tratamiento ya que eventualmente, se podría adelantar la respuesta a obtener con el uso del agente biológico en el tratamiento de la psoriasis.
6. Difundir los resultados de este trabajo para posibilitar se tenga mayor confianza en el uso del Etanercept para el tratamiento de la psoriasis.
7. Difundir a la sociedad y a la población médica la idea que en nuestro medio ya es factible hacer diversos estudios de Biología Molecular que contribuyan al diagnóstico, al entendimiento de la etiopatogenia, tratamiento y prevención de varias enfermedades, incluyendo las dermatológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alfonso I, Díaz M, Rodríguez M, Torres O, Falcón L, Pérez M, Pesant O. (2007) Psoriasis Glosario para ensayos clínicos, *Dermatol Peru*17(1):40-43.
2. Anderson JJ, Baron G, van der Heijde D, Felson DT, Dougados M. (2001) Ankylosing spondylitis assessment group preliminary definition of short-term improvement in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 44(8):1876-86.
3. Arnason BGW, et al (1999) Lenercept Multiple Sclerosis Study Group). TNF neutralization in MS: Results of a randomized, placebo-controlled multicenter study. *Neurology* 53:457- 461
4. Badia X, Díez-Pérez A, Lahoz R, Lizán L, Nogués X, Iborra J. (2004) The ECOS-16 questionnaire for the evaluation of health related quality of life in post-menopausal women with osteoporosis. *Qual Health Outcomes vida*. Aug 3;2:41
5. Basra MKA, Fenech R, Gatt RM, Salek MS, Finlay AY. (2008) The Dermatology Life Quality Index 1994-2007: a comprehensive review of validation data and clinical results. *Br J Dermatol*. 159(5):997–1035
6. Bertin J., Wang L., Guo y., Jacobson M., Poyet J. . Srinivasula S., Merriam S.(2001) CARD11 and CARD14 are novel caspase recruitment domain. (CARD)/ memberd associate guanylate quinase family members that interact with BCL10 and activate NF-kappa B. *J-Biol Chem* 276: 11877-11882
7. Bol Ter Andal.Utilización de medicamentos en Psoriasis: tratamiento, 1999;15(1).
8. Both H, Essink-Bot M-L, Busschbach J, Nijsten T.(2007) Critical review of generic and dermatology-specific health-related quality of life instruments. *J Invest Dermatol*.127(12):2726–39.
9. C. Ferrándiz, J.M. Carrascosa y M. Toro. (2013) Prevalencia de la psoriasis en España en la era de los agentes biológicos. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, Volume 105, Issue 5, Pages 504-509

10. Caitriona R, Neil J, Gelfand J, Lim H, Craig A, Feldman S, Gottlieb A, Koo J, Lebwohl M, Leonardi C, Van Voorhees A, Bhushan R, Menter A. (2015) Research gaps in psoriasis: Opportunities for future studies. FROM THE ACADEMY; 70, 146.
11. Castañeda J (2010). Estudio comparativo entre el índice de severidad y área de psoriasis y el índice de calidad de vida en dermatología, en pacientes con psoriasis tratados con terapia biológica versus otros tratamientos. hospital "Dr Luis Razetti". agosto 2009 – agosto 2010. Tesis de Médico-Cirujano. Universidad de Oriente. Escuela de Ciencias de la Salud. Barcelona, España
12. Charles G, Lee-Han H, Hirsch S, Baird T, Bartlett C. (2014) Prevalence of Psoriasis Among Adults in the U.S.: 2003–2006 and 2009–2010 National Health and Nutrition Examination Surveys. American Journal of Preventive Medicine
13. Christophers E, Segaert S., Milligan G., Molta C.T. and Boggs R. (2013) Clinical improvement and satisfaction with biologic therapy in patients with severe plaque psoriasis. The Journal of Dermatological Treatment. 24(3):193-198
14. Dubois S, Pouliot R. (2013) Promising New Treatments for Psoriasis, Québec, QC, Canada
15. Falabella R, Victoria J., Barona M.I. y Dominguez L. (2009) Dermatología. VII Ed. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medsellín, Colombia
16. Farber EM y Lexienall M. (1974) The Natural History of Psoriasis in 5600 patients. Dermatologica 148: 152
17. Feldman RS. (2011). Treatment of psoriasis.
18. Finlay A., Khan G.K. (1994) Dermatology Life Quality Index (DLQI). A simple practical measure for routine clinical use. Clinical and Experimental Dermatology 19 : 210-216
19. Finlay AY, Ryan TJ. (1996) Disability and handicap in dermatology. Int J Dermatol. 35(5):305–11.

20. Fisher CJ Jr, Agosti JM, Opal SM, et al. (1996) Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med* 334(26):1697- 1699
21. Fleischer AB, Stephen RR, Reboussin DM, Vanarthos JC, Felman SR.(1994)Autoevaluación de la severidad de la psoriasis con un método estructurado. *J Invest Dermatol.* 102:967-969
22. Fredriksson T, Pettersson U. (1978). Severe psoriasis-oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 157:238-44.
23. Gisondi P Del Giglio M, Cozzi A& Girolomoni G. (2010) *Dermatologic Therapy*, Vol. 23, 155–159
24. Gutiérrez Z. (2003) Evaluación del índice de severidad y área de psoriasis (PASI), en 157 pacientes del Club de Psoriasis del Servicio de Dermatología del Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión, Callao- Perú. *Dermatol Perú* 13:185-188
25. Hyder L, Gonzalez J, Harden J, Johnson-Huang L, Zaba L, Pierson K, Eungdamrong N, Lentin T, Gulati N, Fuentes-Duculan J, Suárez-Fariñas M, Lowes M. (2012) TREM-1 as a Potencial Therapeutic Target in Psoriasis. *Journal of Investigative Dermatology*133: 1742- 1749
26. Jordan C, Cao L, Roberson E, Pierson K, Yang C, Joyce C, Ryan C. (2012) PSORS2 Is Due to Mutations in CARD14. *The American Journal of Human Genetics.*90: 784-795.
27. K. E. Nograles and J. G. Krueger, (2011)“Anti-cytokine therapies for psoriasis,” *Experimental Cell Research*, vol. 317, no. 9, pp. 1293–1300
28. Kent G, Al-Abadie M. (1996) Factors affecting responses on Dermatology Life Quality Index items among vitiligo sufferers. *Clin Exp Dermatol.*21(5):330–3.
29. Lewis V, Finlay AY. (2004) 10 years' experience of the Dermatology Life Quality Index (DLQI). *J Investig Dermatol Symp Proc*9(2):169–80
30. Lodeiro C, Serrano J, del Pozo J. Psoriasis. *Fisterra* (2011)
31. Longo D.L., Kasper D., Jameson J.L. and col. (2012) *Harrison Principios de Medicina Interna Ed 18.* New York USA. Mc Graw Hill

32. M. Lebwohl, A. Menter, J. Koo, and S. R. Feldman (2004), "Combination therapy to treat moderate to severe psoriasis," *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 50, no. 3, pp. 416–430
33. Martin B, Sanchez Corazo j.l, Perez Ferriols A., Laguna C. and Alegre V. (2008) Etanercept en la psoriasis. Experiencia clínica. *Actas Dermo-Sifilográficas*; 99:540-545
34. Martin G., Guerard S., Fortin M and col. (2012) Pathology in vitro between T lymphocytes and lesional keratinocytes in psoriasis. *Laboratory Investigation* 99(7): 1058-1070
35. Martin, G, Guerard S, Fortin M et al., (2012) "Pathological crosstalk in vitro between T lymphocytes and lesional keratinocytes in psoriasis: necessity of direct cell-to-cell contact," 92(7):1058-70.
36. Mellemkjaer L, Linet MS, Gridley G, et al. (1996) Rheumatoid Arthritis and Cancer Risk. *European Journal of Cancer* 32(10):1753-1757.
37. Menter A, Griffiths EM, Enter A. (2007) Current and future management of psoriasis. *Lancet*; 370:272-84
38. Menter A, Griffiths EM. (2007) Current and future management of psoriasis. *Lancet*. 370:272-84
39. Moll JM, Wright V. (1973) Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 3:55-78.
40. Morgan M, McCreedy R, Simpson J, Hay RJ. (1997) Dermatology quality of life scales--a measure of the impact of skin diseases. *Br J Dermatol*. 136(2):202–6.
41. Nestle F.O., Kaplan D.H. and Barker J. (2009) Psoriasis. *New England Journal of Medicine* 361:496-509
42. Nijsten TEC, Sampogna F, Chren M-M, Abeni DD. (2006) Testing and reducing skindex-29 using Rasch analysis: Skindex-17. *J Invest Dermatol*. 126(6):1244–50.
43. Norbert W. (2006) Life-threatening dermatoses. *Orv Hetil*. 147(50):2407-12.14.
44. Ochaita L, Suárez Fernández R. (2001) *Inf Ter Sist Nac Salud*. 25(4):105-110.

45. Olivieri I, D'Angelo S, Padula A, Palazzi C. (2008) The challenge of early diagnosis of psoriatic arthritis. *J Rheumatol.* 35(1):3-5.
46. Peters B.P., Weissman F.G and Gill M.A. (2000) Pathophysiology and treatment of psoriasis. *Am J. Health-System Pharmacy* 57(7):645-659
47. Ponce- Rodríguez M, Mendoza R. (2012) Características Clínico epidemiológicas de pacientes con psoriasis en un hospital Nacional. *Dermatol Peru*, Vol 22: (3) 12-20
48. Ponce-Rodríguez M y Mendoza R(2012) Características clínico-epidemiológicas de pacientes con psoriasis en un hospital nacional. *Dermatol.PERU* 22 (3):144-150
49. R. K. Sivamani, H. Goodarzi, M. S. Garcia et al. (2013) "Biologic therapies in the treatment of psoriasis: a comprehensive evidence-based basic science and clinical review and a practical guide to tuberculosis monitoring," *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, vol. 44, no. 2, pp. 121–140
50. Restrepo C; Escobar C, Mejía A; Tamayo S; García H; Lugo L; Sanclemente G. (2003) Instrumentos de evaluación de la calidad de vida en dermatología. *Quality of life in Dermatology: tests for its evaluation.* Colombia.
51. Ryan C., Abramson A., Patel M. and Menter A. (2012) Current investigational drugs in psoriasis. *Expert opinion on investigational drugs* 21 (4): \$73-487
52. Sampogna F, Picardi A, Chren M-M, Melchi CF, Pasquini P, Masini C, et al. (2004) Association between poorer quality of life and psychiatric morbidity in patients with different dermatological conditions. *Psychosom Med.* 66(4):620–4
53. Scudiero I., Zotti T., Ferravante A., Vessichelli M., Vito P., Stilo R.(2011) Alternative splicing of CARMA2/CARD14 transcripts generates protein variants with differential effect on NF-κB activation and endoplasmic reticulum stress-induced cell death. *J. Cell. Physiol.* 226:3121–3131
54. Sugiura K, Masahiko Mut, Masashi A. (2014) CARD14 c.526G>C (p.Asp176His) Is a Significant Risk Factor for Generalized Pustular

- Psoriasis with Psoriasis Vulgaris in the Japanese Cohort, *Journal of Investigative Dermatology*, 134: 1755- 1757
55. Valdivia – Blondet L. (2008) Patogenia de la Psoriasis, *Dermatol Perú* 18(4): 340-345
56. Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. (1984) Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 27(4):361-8.
57. Van Oosten BW, Barkhof F, Truyen L, et al.(1996)Increased MRI activity and immune activation in two multiple sclerosis patients treated with the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody cA2. *Neurology* 47:1531-1533
58. Vivas T, Lizama E.M, Nizar D, RivasD; Figueredo F. (2012) Calidad de Vida en Pacientes con Diagnóstico de Psoriasis: Servicio de Dermatología, Ciudad Hospitalaria "Enrique Tejera". Valencia, Venezuela 2011 / Life quality in patients with psoriasis diagnosis who attend to dermatology service ciudad hospitalaria "Enrique Tejera", 10(1):29-34
59. Weinberg J.M (2003). An overview on infliximab, etanercept, efalizumab and alefacept as biological therapy of psoriasis. *Clinical Therapeutics* 25 (10): 2487-2505
60. Woolacott N, Hawkins N, Mason A, Kainth A, Khadjesari Z, Vergel YB, Misso K, Light K, Chalmers R, Sculpher M, Riemsma R (2006) Etanercept and efalizumab for the treatment of psoriasis: a systematic review. *Health Technol Assess.* 10(46):1-233,



# ANEXOS

**Anexo 1: PROYECTO DE TESIS APROBADO**

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

“IN SCIENTIA ET FIDE EST FORTITUDO NOSTRA”

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS HUMANAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



EVALUACIÓN DEL TRATAMIENTO CON ETANERCEPT Y DETERMINACIÓN DE LAS  
MUTACIONES EN EL GEN CARD14 EN PACIENTES CON PSORIASIS DEL SERVICIO  
DE DERMATOLOGÍA DEL H.N.C.A.S.E.- AREQUIPA, AÑOS 2009- 2014

Tesis presentada por la alumna:

DÁNNAE TERESA PAZ MELGAR

Para obtener el Título Profesional de:

MÉDICO CIRUJANO

AREQUIPA- PERÚ

2014

## I. PREAMBULO

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria hiperproliferativa crónica y recidivante de la piel, no contagiosa, de causa desconocida y patogénesis multifactorial, mediada inmunológicamente y que afecta del 1 al 3% de la población mundial. Se caracteriza por la presencia de pápulas y placas eritemato escamosas bien definidas, localizadas preferentemente en codos, rodillas, región sacra y piel cabelluda, aunque puede afectar cualquier otra zona o toda la superficie cutánea. Se ha descrito que un 30% de individuos afectados presentan artritis crónica (artritis psoriásica). El impacto de la psoriasis en la calidad de vida es remarcable y se compara al que producen varias enfermedades crónicas, comprometiendo aspectos físicos y mentales.

La severidad de la psoriasis se mide por el porcentaje del cuerpo afectado por las placas psoriaticas. Se considera leve cuando el área comprometida es menor al 2%, moderada cuando está entre 2 al 10% y severa cuando supera el 10%,

En la psoriasis, como enfermedad inflamatoria crónica, se implica a las células dendríticas, a los linfocitos T, a los macrófagos, neutrófilos y queratinocitos como responsables de la iniciación de las lesiones de la piel. La presentación de antígenos y la formación de la sinapsis inmunológica determinará la secreción de varias citoquinas/quimoquinas y permitirá la diferenciación de células T en células efectoras tales como Th1, Th2 y Th17. Por lo tanto, cada célula efectora secretará citoquinas particulares. Se ha demostrado que el interferón  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y la interleuquina 2 (IL-2) producen aumento en la proliferación de los queratinocitos. TNF- $\alpha$  activa el desarrollo de las lesiones por aumentar el número de moléculas de adhesión. IL-2 es un estimulador importante de las células T, pero no tiene la capacidad de alterar la producción de citoquinas quimoquinas de los queratinocitos sanos o psoriásicos. Los queratinocitos activados producen citoquinas y quimoquinas que traen linfocitos al sitio de inflamación y que desregulan su proliferación.

Actualmente no se dispone de tratamiento curativo para la psoriasis, lo que se persigue es mejorar los síntomas, disminuir la gravedad y la extensión de las lesiones y atenuar el apareamiento de nuevos brotes

En general, los tipos de tratamiento utilizados se pueden agrupar en tópicos o locales, por fototerapia y los sistémicos. El tratamiento sistémico está indicado en los tipos de psoriasis que no responden a otros tratamientos. Se utilizan frecuentemente inmunosupresores como hidroxurea, ciclosporina y metotrexato. Como estos fármacos tienen efectos adversos diversos, se les usa en tratamientos cortos y el paciente debe estar controlado permanentemente. También se utiliza un retinoide análogo a la vitamina A, la acitretina, que puede administrarse sola o asociada a fototerapia o quimioterapia, pero como tiene acción teratogénica, su uso es algo limitado

Los avances logrados en la biología molecular y en los mecanismos inmunológicos de la psoriasis han permitido el diseño de nuevos fármacos, que han sido recibidos con singular expectativa. Estos fármacos son producidos mediante biotecnología, en general son bien tolerados y hasta el momento se constituyen en una alternativa muy atractiva para tratar la psoriasis en comparación con la terapia convencional. Todos estos fármacos constituyen hoy en día las herramientas de la denominada terapia biológica de la psoriasis.

En la terapia biológica de la psoriasis se usan básicamente dos tipos de fármacos:

- a) Los que interfieren con la activación de los linfocitos T o células presentadoras de antígenos (alefacept, efalizumab) o en la circulación de los mismos en la piel (efalizumab).
- b) Los que bloquean al factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ) y citoquinas (etanercept, infliximab , adalimumab)

Jordan C y col., describieron por primera vez en el año 2012, un gen directamente asociado con la psoriasis, el CARD 14 y cuyas mutaciones son suficientes para determinar la enfermedad. Estas mutaciones, que pueden ser gatilladas por un proceso infeccioso, incrementan la actividad de NF-kB en los queratinocitos y es este factor proteico quien permite la transcripción de varios genes que incluyen quimoquinas claves implicadas en la patogénesis de la enfermedad (CCL 20, IL8 e IL36G), las que se encargan de reclutar células inmunológicas que se encargan a su vez de producir citoquinas y quimoquinas que causan inflamación y además aumentan la activación de los queratinocitos determinando la hiperplasia epidermal.

Este importante descubrimiento abre la posibilidad del diseñar nuevos fármacos con mayor efectividad en el tratamiento de la psoriasis y de otro lado permitirá la identificación de personas con riesgo de adquirir la enfermedad. También proporciona una herramienta muy útil para predecir y evaluar el tratamiento biológico que actualmente se emplea en la psoriasis y de manera especial cuando se utilizan fármacos como el etanercept que es una proteína recombinante con acciones bloqueadoras del factor de necrosis tumoral (TNF  $\alpha$ ) y de citoquinas. Este último aspecto es el que pretendemos abordar como trabajo de tesis.

## II. PLANTEAMIENTO TEORICO

### 1.- Problema de investigación

#### 1.1. Enunciado del problema

Evaluar la respuesta al tratamiento con etanercept de pacientes con psoriasis atendidos en el H.N.C.A.S.E en relación a la presencia de mutaciones en el exón 3 del gen CARD14.

#### 1.2. Descripción del problema

##### a) Área del conocimiento

- General : Biomédicas
- Específica : Medicina Humana
- Especialidad : Dermatología
- Línea : Psoriasis

##### b) Operacionalización de variables

Variable	Sub- variables	Indicador	Tipo de Variable	Valor
Características generales de los pacientes con Psoriasis	Sexo	Género	Categórica- Nominal	M
				F
	Edad	Años cumplidos	Numérica- Discreta	Años cronológicos
	Raza	Grupo étnico	Categórica- Nominal	Blanca
				Mestiza
				Negra
	Escolaridad	Nivel de estudio	Categórica- Ordinal	Primaria
Secundaria				
Superior				
Características clínicas de los pacientes con Psoriasis al ser diagnosticados	Forma de inicio	Lento, repentino	Categórica- Nominal	Lento
				Repentino
	Características de la piel	Pruginosa	Categórica- Nominal	Sí
				No
		Seca	Categórica- Nominal	Sí
				No
		Cubierta por escamas	Categórica- Nominal	Sí
	No			
	Gruesa	Categórica- Nominal	Sí	
			No	

	Área de piel comprometida	PASI	Numérica- Discreta	Porcentaje
	Otras manifestaciones	Artritis	Catagórica- Nominal	Si No
		Alteración de las uñas	Catagórica- Nominal	Si No
		Caspa abundante	Catagórica- Nominal	Si No
	Calidad de vida	Índice DLQ		Porcentaje
Características clínicas de los pacientes con psoriasis después del tratamiento	Características de la piel	Pruginosa	Catagórica- Nominal	Sí No
		Seca	Catagórica- Nominal	Sí No
		Cubierta por escamas	Catagórica- Nominal	Sí No
		Gruesa	Catagórica- Nominal	Sí
	Área de piel comprometida	PASI	Numérica- Discreta	Porcentaje
	Mutación en el gen CARD 14	Exón 3	Secuenciación del exón por el método de Sanger	Numérica-Discreta

**c) Interrogantes Básicas**

1. ¿Cuáles son las características de la población psoriásica estudiada en relación a sexo, edad y raza?
2. ¿Cuáles son las características clínicas (PASI/DLQI) de los pacientes con psoriasis antes de iniciar el tratamiento con Etanercept?
3. ¿Cuáles son las características clínicas (PASI/DLQI) de los pacientes con psoriasis después del tratamiento con Etanercept?
4. ¿Qué efecto tuvo el tratamiento sobre las manifestaciones clínicas de los pacientes con psoriasis?

5. ¿Qué efecto tuvo el tratamiento sobre el índice de actividad y severidad de la psoriasis (PASI)?
6. ¿Qué efecto tuvo el tratamiento sobre el índice de calidad de vida (DLQI)?
7. ¿Se detectaron mutaciones en el gen CARD 14 en los pacientes con psoriasis?
8. ¿Cuáles fueron estas mutaciones?
9. ¿Existe relación entre las mutaciones que se detectaron en el gen CARD14 en los pacientes con psoriasis y la severidad de su cuadro clínico?
10. ¿Existe relación entre las mutaciones que se detectaron en el gen CARD14 en los pacientes con psoriasis y la respuesta que tuvieron al tratamiento con etanercept?

**d) Tipo de Investigación:**

- Documental
- Laboratorial

**e) Nivel de Investigación:**

- Cuasi Experimental
- Descriptiva
- Analítica

**2. Justificación del Problema**

- a) Desde hace varios años se viene utilizando con mucha expectativa el tratamiento biológico en el caso de los pacientes con psoriasis, en razón a las ventajas que tiene sobre el tratamiento clásico. Uno de los fármacos más utilizados es el etanercept y los resultados que se están obteniendo deben ser evaluados. En el H.N.C.A.S.E. se viene utilizando este tratamiento y esta sería la primera oportunidad de analizar sus resultados para determinar su eficiencia y si fuera el caso plantear otros esquemas de tratamiento con el fármaco.
- b) Es la primera vez en nuestro país que se hace un estudio de la psoriasis asociada a las mutaciones en el gen CARD14 y de otro lado no se encuentra en la literatura descripciones sobre la eficiencia del tratamiento biológico de la psoriasis en relación a las mutaciones en el gen CARD14.
- c) Resulta novedoso estudiar la relación que pudiera existir entre las mutaciones detectadas en el gen CARD14 y la severidad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad

- d) El trabajo es enteramente factible de realizar ya que se cuenta con los pacientes sometidos al tratamiento con etanercept y de otro lado tenemos las facilidades del caso para poder realizar los estudios de amplificación del exón 3 del gen CARD 14 y la secuenciación en cada uno de los pacientes.
- e) No se aplicará procedimiento invasivo alguno ya que se trabajará con una muestra obtenida con un cepillado oral, previo consentimiento informado de los pacientes. El estudio no plantea problemas éticos ni morales
- f) El interés del estudio no solamente está en que se evaluarán los resultados obtenidos con etanercept en el tratamiento de la psoriasis en el caso de la muestra a usar, también será posible relacionar el tipo de respuesta con las mutaciones que pudieran encontrarse en el gen CARD14, incluso, con la factibilidad que en un futuro próximo el estudio de las mutaciones de este gen, podrá decidir el éxito de este fármaco en el tratamiento de la psoriasis.

Como se puede notar la realización de este trabajo tiene como justificación el ser original, relevante, de actualidad, perfectamente factible y de gran interés.

### 3. MARCO CONCEPTUAL

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria hiperproliferativa crónica y recidivante de la piel, no contagiosa, de causa desconocida y patogénesis multifactorial, mediada inmunológicamente y que afecta del 1 al 3% de la población mundial. Es más frecuente en la raza blanca, su prevalencia es igual en hombres y mujeres y su aparición es más frecuente en la tercera década de la vida. Se caracteriza por la presencia de pápulas y placas eritemato escamosas bien definidas, localizadas preferentemente en codos, rodillas, región sacra y piel cabelluda, aunque puede afectar cualquier otra zona o toda la superficie cutánea. El impacto de la psoriasis en la calidad de vida es remarcable y se compara al que producen varias enfermedades crónicas, comprometiendo aspectos físicos y mentales.

Aparentemente fue Celso quien hizo la primera descripción de esta enfermedad y Galeno quien acuñó el término de psoriasis para designarla. También ha sido denominada como impétigo, lopoí, alphos, usagro, etc. e incluso confundida con la lepra, a tal punto que varios psoriásicos fueron quemados vivos al creerlos leprosos. Fue mérito de von Hebra, en la segunda mitad del siglo XIX el haber separado completamente a la psoriasis de la lepra <sup>(1)</sup>.

Se ha descrito que un 30% de individuos afectados presentan artritis crónica (artritis psoriásica). En general, se sabe que en un 65% de casos, la enfermedad cutánea precede a la articular, en un 15% ambas afecciones aparecen conjuntamente y en el 20% restante la enfermedad articular precede en años al inicio de la enfermedad cutánea <sup>(2)</sup> La asociación

con obesidad, hipertensión arterial, síndrome metabólico y dislipoproteinemias también ha sido descrita<sup>(3)</sup>.

### **Severidad y formas clínicas de la psoriasis**

Se acostumbra medir la severidad de la psoriasis por el porcentaje del cuerpo afectado por las placas psoriáticas. Se considera leve cuando el área comprometida es menor al 2%, moderada cuando está entre 2 al 10% y severa cuando supera el 10%,

La forma clínica más común de la psoriasis ( 85 -90 %) es la denominada psoriasis vulgar (psoriasis crónica en placas), que generalmente se presenta como placas eritematosas bien delimitadas cubiertas por escamas blancoplateadas y de tamaño variable. Estas lesiones permanecen localizadas por un tiempo, pero posteriormente se extienden lentamente e incluso se pueden generalizar. Hay otras formas clínicas más severas, con un compromiso inflamatorio más serio y que tienen un curso agudo, como la psoriasis pustulosa y la psoriasis eritrodérmica.

### **Histología e Inmunología de la Psoriasis**

Las alteraciones histológicas descritas en la lesión psoriática son las siguientes: a) Hiperplasia epidermal. b) Engrosamiento de la epidermis y reducción o ausencia de la capa granular. c) Infiltración epidermal de células inmunes (células T) y células dendríticas CD 11c en la dermis. d) Presencia de células CD8 y neutrófilos en la epidermis . e) Incremento en la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) e inflamación de la piel.

En la psoriasis, como enfermedad inflamatoria crónica, se implica a las células dendríticas, a los linfocitos T, a los macrófagos, neutrófilos y queratinocitos como responsables de la iniciación de las lesiones de la piel. La presentación de antígenos y la formación de la sinapsis inmunológica determinará la secreción de varias citoquinas/quimoquinas y permitirá la diferenciación de células T en células efectoras tales como Th1, Th2 y Th17. Por lo tanto, cada célula efectora secretará citoquinas particulares. Se ha demostrado que el interferón  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y la interleuquina 2 (IL-2) producen aumento en la proliferación de los queratinocitos . TNF- $\alpha$  activa el desarrollo de las lesiones por aumentar el número de moléculas de adhesión. IL-2 es un estimulador importante de las células T, pero no tiene la capacidad de alterar la producción de citoquinas quimoquinas de los queratinocitos sanos o psoriásicos. Los queratinocitos activados producen citoquinas y quimoquinas que traen linfocitos al sitio de inflamación y que desregulan su proliferación. Recientemente se ha encontrado que la interleuquina 23 (IL-23) tiene un rol clave en la patogénesis de la psoriasis y que las células Th 17, al producir las interleuquinas 17 y 22 ( IL-17 y IL-22), juegan un rol fundamental como inductores de la hiperplasia propia de la psoriasis<sup>(4)</sup>.

## Tratamiento de la Psoriasis

Actualmente no se dispone de tratamiento curativo para la psoriasis, lo que se persigue es mejorar los síntomas, disminuir la gravedad y la extensión de las lesiones y atenuar el apareamiento de nuevos brotes. No se dispone de un tratamiento de elección para esta enfermedad, el utilizar uno u otro tipo de tratamiento depende de la gravedad y extensión de las lesiones, localización de las mismas, del estado general del paciente. de otras patologías que concomitantemente pueda presentar, de la evaluación costo-beneficio-riesgo, de la preferencia del paciente y de la respuesta al tratamiento.

En general, los tipos de tratamiento utilizados se pueden agrupar en tópicos o locales, por fototerapia y los sistémicos.

El **tratamiento clásico** de la psoriasis ha consistido en la aplicación local o tópica del medicamento, se usan distintas fórmulas, como soluciones, espumas, cremas, emulsiones, pomadas y ungüentos, siendo los emolientes, parafinas, vaselina, aceite de oliva, etc. Los medicamentos que se aplican en esta forma suelen ser queratolíticos como el ácido salicílico, preparados a base de brea de hulla, retinoides ( tazaroteno), análogos de la vitamina D y corticoides

**La fototerapia** se comenzó a utilizar en el tratamiento de la psoriasis cuando se reportó que en los meses de verano las lesiones del paciente psoriático mejoraban visiblemente. Acá se incluye la fototerapia y la fotoquimioterapia (PUVA). En la fototerapia se usa con mayor frecuencia la luz ultravioleta de banda estrecha (UVB de banda estrecha) . En la fotoquimioterapia el paciente se expone a la radiación UVA dos horas después de la administración oral de un fotosensibilizante ( psoraleno).

**El tratamiento sistémico** está indicado en los tipos de psoriasis que no responden a otros tratamientos. Se utilizan frecuentemente inmunosupresores como hidroxiurea, ciclosporina y metotrexato. Como estos fármacos tienen efectos adversos diversos, se les usa en tratamientos cortos y el paciente debe estar controlado permanentemente. También se utiliza un retinoide análogo a la vitamina A , la acitretina, que puede administrarse sola o asociada a fototerapia o quimioterapia, pero como tiene acción teratogénica, su uso es algo limitado

Los avances logrados en la biología molecular y en los mecanismos inmunológicos de la psoriasis han permitido el diseño de nuevos fármacos, que han sido recibidos con singular expectativa. Estos fármacos son producidos mediante biotecnología, en general son bien tolerados y hasta el momento se constituyen en una alternativa muy atractiva para

tratar la psoriasis en comparación con la terapia convencional.<sup>(5)</sup> Todos estos fármacos constituyen hoy en día las herramientas de la denominada **terapia biológica** de la psoriasis.

En la terapia biológica de la psoriasis se usan básicamente dos tipos de fármacos:

- Los que interfieren con la activación de los linfocitos T o células presentadoras de antígenos (alefacept, efalizumab) o en la circulación de los mismos en la piel (efalizumab).
- Los que bloquean al factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ) y citoquinas (etanercept, infliximab , adalimumab)

Estos fármacos pueden corresponder, según su estructura, a anticuerpos monoclonales (MAB) murinos (muromomab), quiméricos (infliximab), humanizados (efalizumab) y humanos (adalimumab) y en otros casos corresponder a proteínas recombinantes de fusión, como el etanercept y el alefacept.

#### **Tratamiento de la psoriasis con Etanercept**

El Etanercept es una proteína recombinante humana dimérica que está constituida por la unión de dos receptores solubles del factor de necrosis tumoral (TNF) y la Fc de la inmunoglobulina humana G1. Su mecanismo de acción consiste en la unión reversible y competitiva al TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$  circulantes o unidos a membrana, lo que impide la unión del FNT a sus receptores propios de membrana en las células efectoras del sistema inmunitario. Al TNF $\alpha$  interviene en la proliferación de queratinocitos, en la inflamación dérmica, en favorecer la adhesión y extravasación de los linfocitos T activados y en la angiogénesis.

El etanercept (Embrel) se administra por vía subcutánea a la dosis de 25 mg dos veces por semana, durante 24 semanas consecutivas. Para obtener una mejor respuesta se puede utilizar el fármaco a la dosis de 50 mg dos veces por semana durante 12 semanas consecutivas.

El tratamiento con etanercept , que es uno de los fármacos más usados en la terapia biológica de la psoriasis ha mostrado ser efectivo y muy bien tolerado por los pacientes. Se reportó en un estudio realizado con 652 psoriásicos con una área de superficie corporal afectada de por lo menos 10 %, que el 59% del grupo deos pacientes que recibieron 50mg de etanercept dos veces por semana habían alcanzado un 75% de mejoría estimada como PASI (Índice de área y severidad de la psoriasis)<sup>(6)</sup>.

#### **La psoriasis como consecuencia de mutaciones en el gen CARD14**

Investigaciones lideradas por la Escuela de Medicina de la Universidad de Washington identificaron hace poco tiempo el primer gen relacionado directamente con la psoriasis <sup>(7)</sup>. Usando la técnica de secuenciar todos los genes de los pacientes se descubrió

una mutación muy rara en el gen CARD 14 en una familia en la cual la psoriasis era prevalente, también encontraron esta mutación en 1/3 de los miembros de la familia que desarrollaron artritis psoriática.

Las mutaciones en el gen CARD14 son suficientes para determinar la enfermedad. Estas mutaciones, que pueden ser gatilladas por un proceso infeccioso, incrementan la actividad de NF-kB en los queratinocitos y es este factor proteico quien permite la transcripción de varios genes que incluyen quimioquinas claves implicadas en la patogénesis de la enfermedad (CCL 20, IL8 e IL36G), las que se encargan de reclutar células inmunológicas que se encargan a su vez de producir citoquinas y quimioquinas que causan inflamación y además aumentan la activación de los queratinocitos determinando la hiperplasia epidermal.

En la figura siguiente, se observa la relación entre las mutaciones a nivel del gen CARD14 en el desarrollo de la psoriasis y el mecanismo de acción del Etanercept.

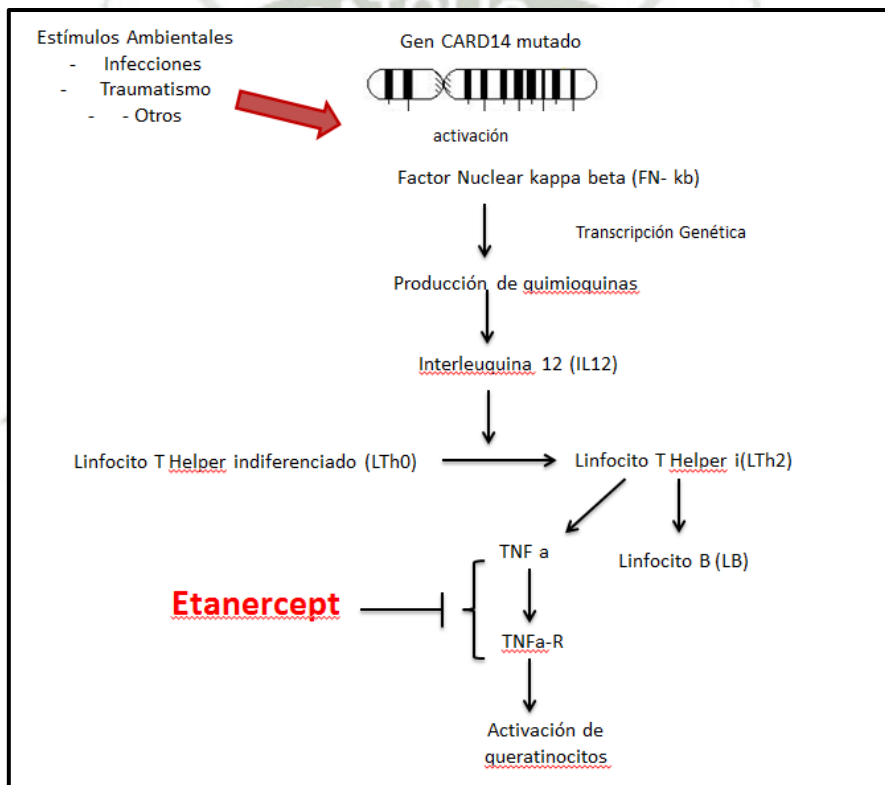


Figura 1.- Modelo que explica la acción directa del gen CARD 14 en la etiopatogénesis de la psoriasis y relación con el mecanismo de acción del Etanercept

Este importante descubrimiento abre la posibilidad del diseñar nuevos fármacos con mayor efectividad en el tratamiento de la psoriasis y de otro lado permitirá la identificación de personas con riesgo de adquirir la enfermedad. También proporciona una herramienta muy

útil para predecir y evaluar el tratamiento biológico que actualmente se emplea en la psoriasis y de manera especial cuando se utilizan fármacos como el etanercept, que es una proteína recombinante con acciones bloqueadoras del factor de necrosis tumoral (TNF  $\alpha$ ) y de citoquinas.

#### 4. ANALISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

De las publicaciones que hemos revisado para la elaboración de este Proyecto, hemos seleccionado algunas que consideramos más relacionadas con nuestro tema.

##### 4.1. **Publicación en donde se evalúa la eficiencia de etanercept en el tratamiento de la psoriasis**

Martin B. y col. (2008) Etanercept en la psoriasis. Experiencia clínica. ACTAS Dermo-Sifilográficas 99(07)1-5.

En este trabajo se revisaron retrospectivamente las historias clínicas de 36 pacientes adultos tratados con etanercept. Para valorar la eficacia clínica del fármaco se utilizó el PASI. El etanercept fue administrado a la dosis de 25 mg dos veces por semana por vía subcutánea. A los tres meses de tratamiento el 36% de pacientes mejoró en un 50% del valor inicial del PASI; en tanto que el 44% de pacientes mejoró en un 75%. No se registraron mayores efectos adversos, es decir que el fármaco fue bien tolerado.

##### 4.2. **Publicación en donde se revisan los avances logrados en el tratamiento de la psoriasis, de manera especial con el uso del tratamiento biológico**

Dubois S. and Pouliot R.. (2013) Review Article.Promising New Treatments for Psoriasis. The Scientific World Journal. Article ID 980419.9

En esta revisión se comenta los grandes avances obtenidos en el tratamiento de la psoriasis en las dos últimas décadas y que son consecuencia de los conocimientos obtenidos en el campo de la inmunología de la enfermedad y los avances en la manipulación genética para la creación de nuevos fármacos cuyo uso en el tratamiento corresponde hoy en día a la denominada terapia biológica de la psoriasis. Se comenta la mayor eficacia de estos fármacos y la menor presencia de efectos colaterales. Se señala igualmente la necesidad de estudiar su uso en mayores tiempos de tratamiento para evaluar su eficiencia a largo plazo

y descartar la presencia de efectos no deseados. Se comenta que son fármacos más caros, pero que los resultados que se van obteniendo debe servir para alentar muchas otras investigaciones al respecto.

**4.3. Publicación en donde se revisan los alcances de la terapia biológica en la psoriasis.**

Obregón L. (2007). Terapia Biológica en Psoriasis. Dermatol..Perú. 17(3)

Se revisan los diferentes tipos de tratamiento de la psoriasis, terapia tópica, terapia sistémica y fototerapia y los resultados que se obtiene. Se comenta que con el desarrollo de la biología molecular, la ingeniería genética y la biotecnología ha sido posible el desarrollo de fármacos que actúan a determinado nivel de la respuesta inmunológica que determina la enfermedad. Presenta el mecanismo de acción de los diferentes agentes usados en la terapia biológica y señala los resultados alentadores que se van obteniendo.

**4.4. Publicación en donde se compara la efectividad de los diferentes fármacos usados en el tratamiento sistémico y de la fototerapia sobre la psoriasis.**

Gelfand J. Wan J., Callis K., Crueger G. and col (2012). Comparative effectiveness of commonly used systemic treatments or phototherapy for moderate to severe plaque psoriasis in the clinical practice setting. Arch. Dermatol. 148 (4): 487-494

Los autores concluyen que aunque se pueden objetivar diferencias en los resultados obtenidos con los diferentes tipos de tratamiento, estas pudieran no tener mayor significación clínica y que serán necesarios mayores estudios que permitan confirmar la real eficacia. Este trabajo es uno de los pocos en donde no sobresalen las ventajas de la terapia biológica de la psoriasis y que quizá se explica por la heterogenidad de los esquemas de tratamiento utilizados, lo que dificulta su mejor comparación.

**4.5. Publicación en donde se describe por primera vez qué mutaciones en un gen, en respuesta a un estímulo, como un proceso infeccioso, dispararían toda la maquinaria inmunológica necesaria para desencadenar la psoriasis.**

Jordan C., Cao L., Roberson E., Pierson K. and col (2012)

PSORS2 Is due to mutations in CARD 14. The American Journal of Human Genetics 90: 784-795

Loa autores muestran que una mutación rara en el gen CARD14, gatillada por algún factor ambiental puede llevar a la psoriasis en placas. Uno de los autores ( Bowcock A) había estado buscando este gen por más de dos

décadas y su descubrimiento abre la gran posibilidad de diseñar mejores tratamientos para la enfermedad y también detectar a personas con riesgo de tenerla.

Las mutaciones detectadas comprometen el exón 3 del gen y afectarían el empalme entre el exón 3 y 4 durante el procesamiento. Esto llevaría al aumento en la activación del factor nuclear kappa B (NF-kB) y determinan la alteración en la regulación del set de genes asociados a la psoriasis presentes en los queratinocitos.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo General

Determinar la respuesta obtenida al tratamiento de la psoriasis con etanercept y su relación con las mutaciones que pudieran detectarse en el gen CARD14

### 5.2. Objetivos Específicos

- 1) Estimar la eficacia del tratamiento con etanercept en los pacientes con psoriasis en base al índice de área y severidad de la psoriasis (PASI) y de la calidad de vida en Dermatología (DLQI).
- 2) Determinar los efectos no deseables que tuvo el tratamiento con etanercept.
- 3) Precisar las mutaciones encontradas en el exón 3 y regiones vecinas del gen CARD14 en los pacientes con psoriasis
- 4) Relacionar las mutaciones encontradas en el gen CARD14 con la severidad de las manifestaciones clínicas evidenciadas en los pacientes con psoriasis
- 5) Relacionar las mutaciones encontradas en el gen CAR14 con la respuesta obtenida en el tratamiento con etanercept

## 6. HIPOTESIS

Dado que las mutaciones en el gen CARD14 están relacionadas con la mayor producción de Factor de Necrosis Tumoral (TNF  $\alpha$ ) en la Psoriasis y que el Etanercept actúa inhibiendo la unión de éste con su receptor, es posible que la severidad del cuadro y la respuesta al tratamiento, esté influenciada por estas mutaciones.

### III PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

#### 1. TECNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

##### 1.1 Técnicas:

Para la realización del trabajo de investigación se utilizarán las siguientes técnicas:

- 1) Revisión de las historias clínicas de los pacientes con psoriasis del H.N.C.A.S.E. que recibieron tratamiento con etanercept y que se encuentran debidamente documentadas.
- 1) Obtención y purificación de ADN de los pacientes seleccionados utilizando una muestra obtenida por la Técnica del Hisopado Bucal
- 2) Amplificación del fragmento que contiene el exón 3 y zonas vecinas del gen CARD14.
- 3) Secuenciación del fragmento amplificado de todos los pacientes utilizando el método de Sanger
- 4) Detección de las mutaciones y genotipado

##### 1.2. Instrumentos

Para el cálculo del PASI se usarán los datos de las historias clínicas y los formatos diagramados existentes que facilitan su estimativa. Para la estimativa del DLQI se utilizará el cuestionarios ( 10 preguntas) que evalúa el impacto que tuvo la enfermedad sobre la calidad de vida en la semana previa a su aplicación.

Para el desarrollo de las técnicas de Biología Molecular será necesario el uso de espectrofotómetro, el termociclador y el equipo necesario para la secuenciación de los fragmentos

##### 1.3. Campo de verificación

- 1) El trabajo de revisión de las historias se realizará en el H.N.C.A.S.E.
- 2) La purificación del ADN y el proceso de amplificación de los fragmentos se realizará en los Laboratorios del Instituto de Biotecnología del ADN Uchumayo-Arequipa
- 3) Las muestras para la secuenciación serán remitidas a un laboratorio especializado de Boston, EEUU.

#### 2. ESTRATEGIA DE RECOLECCION DE DATOS

## 2.1 Población y muestra

La población corresponde a todos los pacientes portadores de psoriasis del H.N.C.A.S.E y que recibieron tratamiento con etanercept desde el año 2009.

La muestra corresponde a los componentes de la población que cumplan con los siguientes **criterios de inclusión**:

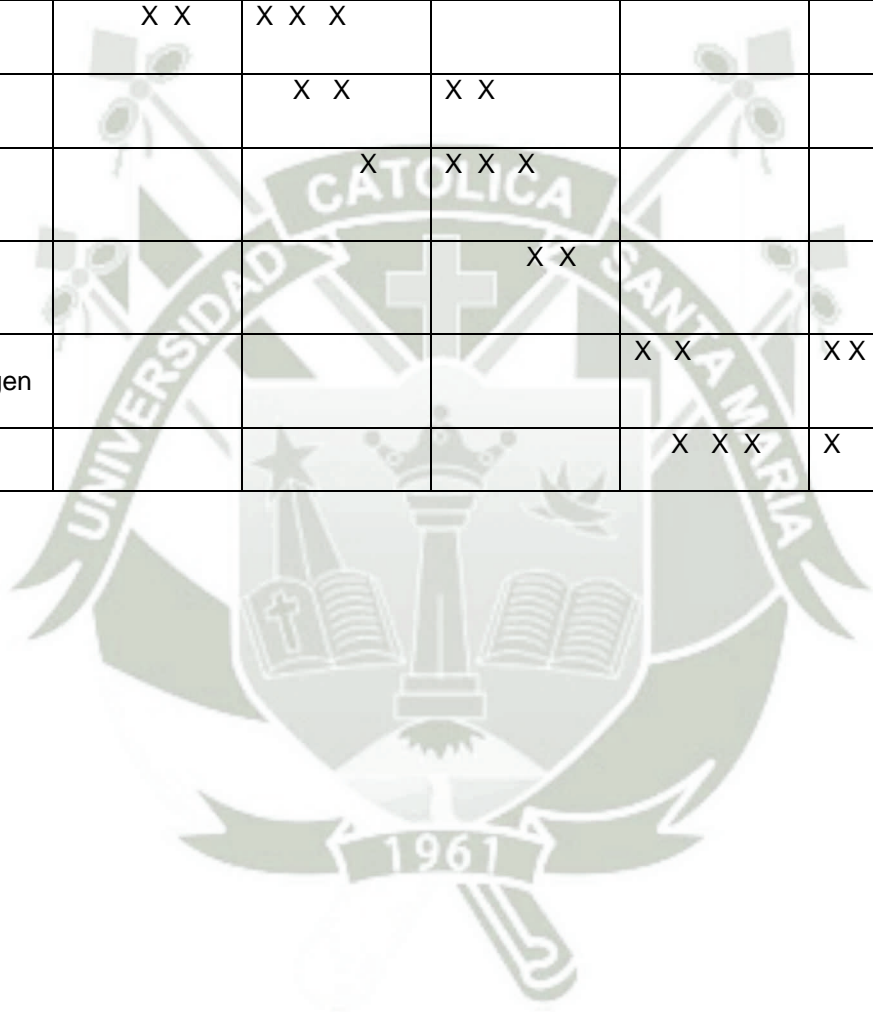
- Pacientes con psoriasis moderada o severa
- Pacientes que hayan completado por lo menos un ciclo de tratamiento
- Pacientes que tienen consignada en su historia clínica toda la información necesaria para determinar el PASI y el DLQI
- Pacientes que podrán ser localizados en el momento de obtener las muestras para hacer los estudios de biología molecular del gen CARD14.
- Pacientes que den su consentimiento para realizar el estudio

## 2.1. Recursos

- **Humanos:**
  - Alumna Tesista: Danae Teresa Paz Melgar
  - Asesor: Dr. Marcial Rios Flores
- **Institucionales:**
  - Servicio de Dermatología del H.N.C.A.S.E.
  - Instituto de Biotecnología del ADN Uchumayo
- **Documentarios:**
  - Historias Clínicas de los pacientes que conforman la población
  - Fichas de cada paciente conformante de la muestra en donde se incluyen los datos pertinentes al estudio, obtenidos de su Historia Clínica (Anexo 1)
  - Formatos validados para determinar el Índice del Área y Severidad de la Psoriasis (PASI) (Anexo 2)
  - Formato validados de la encuesta utilizada para estimar el Índice de Calidad de Vida en Dermatología (DLQI) (Anexo 3)
- **Financieros**
  - Autofinanciado

IV.CRONOGRAMA DE TRABAJO

Tiempo Actividad	Setiembre 2014				Octubre 2014				Noviembre 2014				Diciembre 2014				Enero 2015			Febrero 2015		
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3			
1.Elección del tema	X	X																				
2.Revisión bibliográfica		X	X		X	X	X															
3.Elaboración del proyecto					X	X			X	X												
4.Revisión de las Historias Clínicas						X			X	X	X											
5.Presentación y Aprobación del Proyecto										X	X											
6.Estudios de Mutaciones del gen ARD14.													X	X			X	X	X			
7.Elaboración del Informe Final													X	X	X		X			X	X	X



## BIBLIOGRAFIA

### Citada en el Marco Conceptual

1. García A. (2005) Monografías en Dermatología. La psoriasis. 18 (2).
2. Alenius G., Berglin E. ( 2006). Antibodies against cyclic citrullinated peptide (CCP) in psoriatic patients with or without inflammation. *Ann. Rheum Dis* 65: 398-400
3. David B, Sattar N, Prinz JC, et al. (2010) Psoriasis and systemic inflammatory diseases: potential mechanistic links between skin disease and co-morbid conditions. *J Invest Dermatol* 130: 1785-96.
4. Dubois S.and Poulliot R. (2013) .Promising new treatment for psoriasis. *The Scientific World Journal*. Article ID 980419.
5. Christophers E., Segaert S. , Milligan G., Molta T. and Boggs R. (2013). Clinical improvement and satisfaction with biological therapy in patients with severe plaque psoriasis. *The Journal of Dermatology TYreatment* 24 (3) : 193-198, 2013
6. Leonardi C.L., Powers J.L., Matheson R.T. and col. (2003). Etanercept as monotherapy in patients with psoriasis. *N. Eng J.Med* 349: 2014-22
7. Jordan C., Li cao E., Roberson K., and col. (2012) PSORS2 IS DUE TO MUTATIONS IN card 14. *American Journal of Human Genetics* 90: 784-795

### Básica revisada

8. Menter A, Griffiths EM.(2007)Current and future management of psoriasis. *Lancet*;370:272-84
9. Martin B., Sanchez C, Perez F, Laguna C. and Alegre V. (2008). Etanercept en la psoriasis. *Experiencia clínica. Actas Dermo-Sifilográficas* )) (7)
10. Peters B.P., Weissman F.G. and Gill M.A. (2000) Pathophysiology and treatment of psoriasis. *Am J. Health-System Pharmacy* 57(7):645-659

11. Christophers E. , Segaert S., Milligan G., Molta C.T. and Boggs R. (2013) Clinical improvement and satisfaction with biologic therapy in patients with severe plaque psoriasis. *The Journal of Dermatological Treatment*. 24(3):193-198
12. Nestle F.O., Kaplan D.H. and Barker J. (2009). Psoriasis. *New England Journal of Medicine* 361:496-509
13. Martin G., Guerard S., Fortin M and col. (2012) Pathologi in vitro between T lymphocytes and lesional keratinocytes in psoriasis. *Laboratory Investigation* 99(7): 1058-1070
14. Weinberg J.M.(2003). An overview on infliximab, etanercept, efalizumab and alefacept as biological therapy of psoriasis. *Clinical Therapeutics* 25 (10): 2487-2505
15. Ryan C., Abramson A., Patel M. and Menter A. (2012). Current investigational drugs in psoriasis. *Expert opinion on investigational drugs* 21 (4): \$73-487
16. Finlay A., Khan G.K. (1994) .Dermatology Life Quality Index (DLQI). A simple practical measure for routine clinical use. *Clinical and Experimental Dermatology* 19 : 210-216
17. Falabella R., Victoria J., Barona M.I. y Dominguez L.(2009) *Dermatología*. VII Ed. Cooperación para Investigaciones Biológicas. Medsellín, Colombia
18. Longo D.L., Kasper D., Jameson J.L. and col (2012) *Harrison Principios de Medicina Interna Ed 18*. Mc Graw Hill. New York USA.

Dánae Teresa Paz Melgar  
Alumna Tesista

**Anexo 2: TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

DATOS DE PACIENTES	
<b>Apellidos y Nombre</b>	
<b>Sexo</b>	
<b>Edad</b>	
<b>Raza</b>	
<b>Escolaridad</b>	
<b>Forma de inicio</b>	
<b>Tiempo de Enfermedad</b>	
<b>Características de la piel (al inicio)</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pruriginosa</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Seca</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cubierta por escamas</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gruesa</li> </ul>	
<b>PASI</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Año y Valor (01)</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Año y Valor (02)</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Año y Valor (03)</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Año y Valor (04)</li> </ul>	
<b>Otras Manifestaciones Clínicas</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Artritis Psoriásica</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Onicopatías</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caspa abundante</li> </ul>	
<b>Características de la piel (después del tratamiento)</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pruriginosa</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Seca</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cubierta por escamas</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gruesa</li> </ul>	
<b>Índice de Calidad de Vida- DLQ (al inicio)</b>	
<b>Índice de Calidad de Vida- DLQ (después del tratamiento)</b>	
<b>Tratamiento (duración y dosis)</b>	
<b>Otros Tratamientos recibidos (diferentes al Etanercept)</b>	
<b>Antecedentes Familiares de psoriasis</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sí?</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• No?</li> </ul>	

<b>Análisis de Laboratorio (al inicio)</b>	
• Leucocitos	
• Hemoglobina	
• Recuento de Plaquetas	
• Glucosa	
• Colesterol Total	
• HDL Colesterol	
• Triglicéridos	
• LDL Colesterol	
• Creatinina	
<b>Análisis de Laboratorio (después del tratamiento)</b>	
• Leucocitos	
• Hemoglobina	
• Recuento de Plaquetas	
• Glucosa	
• Colesterol Total	
• HDL Colesterol	
• Triglicéridos	
• LDL Colesterol	
• Creatinina	
<b>Estudio Radiográfico de Tórax</b>	
<b>Prueba de la Tuberculina-Reacción de Mantoux</b>	
<b>Detección de cuadros Infecciosos Intercurrentes</b>	
• Sí?	
• No?	
<b>Detección de Neoplasias</b>	

### ANEXO 3 :PASI



**BRITISH  
COLUMBIA**  
The Best Place on Earth

Ministry of  
Health Services

### PSORIASIS AREA AND SEVERITY INDEX (PASI) WORKSHEET

PATIENT NAME	DATE OF VISIT (YYYY / MM / DD)	PERSONAL HEALTH NUMBER

#### LESION SCORE

Erythema (E) Induration (I) Scaling (S)	No Symptoms	Slight	Moderate	Marked	Very Marked
<b>SCORE</b>	0	1	2	3	4

#### AREA SCORE

AREA	0	1% - 9%	10% - 29%	30% - 49%	50% - 69%	70% - 89%	90% - 100%
<b>SCORE</b>	0	1	2	3	4	5	6

Lesion Score	Head (H)	Trunk (T)	Upper Limbs (UL)	Lower Limbs (LL) <i>including buttock</i>
Erythema (E)				
Induration (I) (thickness)				
Scaling (S)				
<b>SUM: E + I + S</b>				
Percentage of Affected Area				
<b>Area Score</b>				
<b>SUBTOTAL: Sum x Area Score</b>				
Body Area: Subtotal X amount indicated	x 0.1	x 0.3	x 0.2	x 0.4
<b>TOTALS</b>	<b>H</b>	<b>T</b>	<b>UL</b>	<b>LL</b>

PASI SCORE: H + T + UL + LL

HLTH 5379 2009/07/08

ANEXO 4:

## CÁLCULO DEL PASI

$$\text{PASI} = 0,1 \times (\text{eritema} + \text{infiltración} + \text{escamas}) \times \text{área afectada [cabeza]} + \\ 0,3 \times (\text{eritema} + \text{infiltración} + \text{escamas}) \times \text{área afectada [tronco]} + \\ 0,2 \times (\text{eritema} + \text{infiltración} + \text{escamas}) \times \text{área afectada [extremidades superiores]} + \\ 0,4 \times (\text{eritema} + \text{infiltración} + \text{escamas}) \times \text{área afectada [extremidades inferiores]}$$

Donde:

- **Área afectada** (cada parte del cuerpo es considerada como el 100%) Se utiliza la siguiente escala de 0 a 6 puntos:

0. Sin afectación.
1. Menos del 10%.
2. 10 a 29%.
3. 30 a 49%.
4. 50 a 69%.
5. 70 a 89%.
6. 90 a 100%.

Nota: El cuello y los glúteos pertenecen al tronco, las axilas pertenecen a las extremidades superiores y los pliegues génito-femorales, a las extremidades inferiores.

- Se registra la **intensidad de las lesiones psoriáticas** para cada uno de los 3 síntomas siguientes: eritema, infiltración y escamas, utilizando la siguiente escala de 0 a 4:

Eritema, infiltración y escamas:

0. Signo ausente
1. Expresión ligera.
2. Expresión moderada.
3. Expresión intensa.
4. Máxima intensidad de expresión.

En la siguiente tabla se recogen las puntuaciones de los tres criterios antes mencionados.

TABLA 1. RESUMEN CON LA PUNTUACIÓN CORRESPONDIENTE PARA CADA  
CARACTERÍSTICA CLÍNICA CONSIDERADA EN EL PASI

Puntaje	Escama	Eritema	Infiltración
0	No escama.	Piel de color normal, mácula residual o ausencia de eritema	Induración no palpable.
1	Lesión mínima, escama en forma de polvo, semejante a la de la pitiriasis rosada o la lesión por <i>Trichophyton rubrum</i> en las palmas	Suave, eritema apenas detectable.	Induración muy pequeña.
2	Escamas delgadas, semejantes a la lesión de la tiña versicolor	Eritema pronunciado, pero todavía no de un color rojo oscuro.	Induración fácilmente palpable, como un granuloma anular, con escaso aumento del nivel de la piel.
3	Escamas que cubren la mayor parte de la lesión y se adhieren y cubren el eritema.	Enrojecimiento más marcado en la fase de la urticaria, pero no tan marcado como en la 4.	Lesión definitivamente elevada, con induración fácilmente palpable.
4	Escamas muy gruesas	Eritema típico de la psoriasis en la placa no tratada, después de removidas las escamas.	Lesión elevada, con induración severa o liquenificación, como en la neurodermatitis circumscripción.

ANEXO 5

## CUESTIONARIO SOBRE LA CALIDAD DE VIDA – DERMATOLOGÍA

El objetivo de este cuestionario consiste en determinar qué efecto ha tenido su problema de la piel en su vida DURANTE LA ÚLTIMA SEMANA. Por favor marque con una “X” una casilla para cada pregunta.

- |    |  |                                       |  |                                       |
|----|--|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| 1. | Durante la última semana, ¿ha sentido <b>comezón, dolor o ardor</b> en la piel o la ha tenido <b>dolorida</b> ?  | Muchísimo<br>Mucho<br>Un poco<br>Nada | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> |                                       |
| 2. | Durante la última semana, ¿se ha sentido <b>avergonzado/a</b> o <b>cohibido/a</b> debido a su piel?  | Muchísimo<br>Mucho<br>Un poco<br>Nada | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> |                                       |
| 3. | Durante la última semana, ¿le ha molestado su condición de la piel para hacer las <b>compras</b> u ocuparse de la <b>casa</b> o el <b>jardín</b> ?             | Muchísimo<br>Mucho<br>Un poco<br>Nada | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> | Sin relación <input type="checkbox"/> |
| 4. | Durante la última semana, ¿ha influido su condición de la piel en la elección de la <b>ropa</b> que lleva?   | Muchísimo<br>Mucho<br>Un poco<br>Nada | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> | Sin relación <input type="checkbox"/> |
| 5. | Durante la última semana, ¿ha influido su condición de la piel en alguna actividad <b>social</b> o <b>recreativa</b> ?   | Muchísimo<br>Mucho<br>Un poco<br>Nada | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> | Sin relación <input type="checkbox"/> |
| 6. | Durante la última semana, ¿ha tenido dificultad para practicar <b>deportes</b> debido a su condición de la piel?   | Muchísimo<br>Mucho<br>Un poco<br>Nada | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> | Sin relación <input type="checkbox"/> |
| 7. | Durante la última semana, ¿le ha impedido su condición de la piel <b>trabajar</b> o <b>estudiar</b> ?  | Sí<br>No                              | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/>   | Sin relación <input type="checkbox"/> |
|    | Si la respuesta es "No", durante la última semana, ¿cuánta dificultad le ha ocasionado su condición de la piel en el <b>trabajo</b> o en sus <b>estudios</b> ? | Mucho<br>Un poco<br>Nada              | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/>                             |                                       |
| 8. | Durante la última semana, ¿su condición de la piel le ha ocasionado dificultades con su <b>pareja, amigos cercanos</b> o <b>familiares</b> ?                   | Muchísimo<br>Mucho<br>Un poco<br>Nada | <input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/><br><input type="checkbox"/> | Sin relación <input type="checkbox"/> |
| 9. | Durante la última semana, ¿cuánta dificultad le  | Muchísimo                             | <input type="checkbox"/>   |                                       |

ha ocasionado su condición de la piel en su **vida sexual**?

Mucho  
Un poco  
Nada

Sin relación

10. Durante la última semana, ¿cuánta dificultad le ha ocasionado su **tratamiento** de la piel, por ejemplo, ocupándole tiempo o ensuciando o desordenando su casa?

Muchísimo  
Mucho  
Un poco  
Nada

Sin relación

