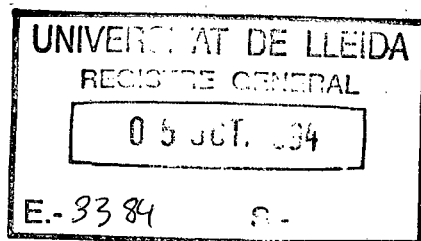


(043) "1994" Cas

UNIVERSITAT DE LLEIDA

Facultat de Medicina



Tesis doctoral:

**"MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ESTIRPE, PROLIFERACION
Y ACTIVACION CELULAR EN LA PSORIASIS.**

Comparación con el liquen plano y la neurodermitis."



Tesis presentada por Josep M Casanova i Seuma para optar al grado de
Doctor en Medicina y Cirugía

Lleida, Septiembre de 1994.



CASANOVA SEUMA, JOSEP

MANEL

Medicina i Cirurgia

07/11/94

2

Als meus pares

A Teresa

A Manel i Pau

I. INDICE

	Pag
1. Agradecimientos	5
2. Becas y subvenciones	6
3. Abreviaturas utilizadas en el texto	7
4. Resumen de la tesis	8
5. Indice de figuras	23
6. Indice de tablas	27

II. PARTE TEORICA

1. Introducción	32
2. Histopatología de la psoriasis	35
3. El Sistema Inmune Cutáneo (SIC)	43
a. Composición celular	43
b. Citocinas	54
c. Moléculas de adhesión	61
d. Fisiología del Sistema Inmune Cutáneo	76
d1. Activación de los linfocitos T. Antígenos peptídicos y superantígenos	76
d2. El concepto de la "recirculación preferente" o "homing" linfocítico	80
d3. Papel de las moléculas de adhesión	82
e. Papel del SIC en determinadas dermatosis	85
e1. Dermatitis alérgica de contacto	85
e2. Dermatitis atópica	86
e3. Liquen plano	87
4. La teoría inmune en la patogénesis de la psoriasis	90
5. El infiltrado dérmico en las lesiones de psoriasis	94
a. Subpoblaciones linfocitarias	94
b. Activación de los linfocitos	95
c. Circulación de linfocitos e interacción con el queratinocito.....	98
6. El queratinocito psoriásico.....	100
a. Hiperproliferación epidérmica	100
b. Moléculas de superficie	104
c. El queratinocito en el sistema inmune cutáneo	106
7. La célula de Langerhans	108
8. El dendrocito dérmico-macrófago	108
9. La vascularización en la psoriasis	110
a. Captación de leucocitos hacia el foco inflamatorio	110
10. Citocinas	114
a. Las citocinas en la psoriasis	114
11. Tratamientos	119
a. Ciclosporina A	119
b. Fototerapia y fotoquimioterapia	121
c. Corticoides tópicos	121
d. Retinoides	122
III. HIPOTESIS DE TRABAJO	123

IV. OBJETIVOS	125
V. PARTE EXPERIMENTAL	
1. Población estudiada, material y métodos	128
a. Población estudiada	129
b. Material y métodos	136
b1. Técnica de inmunohistoquímica	137
b2. Técnica del doble marcaje secuencial	139
c. Cuantificación de resultados	141
2. Resultados	144
a. Valoración de la proliferación mediante Ki-67	145
a1. En la psoriasis	145
a2. En el liquen plano	152
a3. En la neurodermitis	154
a4. Comparación de resultados.	156
b. Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico	162
b1. En la psoriasis	162
b2. En el liquen plano	168
b3. En la neurodermitis	170
b4. Comparación de resultados.	172
c. El infiltrado epidérmico	174
c1. En la psoriasis	174
c2. En el liquen plano	180
c3. En la neurodermitis	182
c4. Comparación de resultados.	184
d. Moléculas de adhesión y marcadores de activación celular en la dermis	185
d1. En la psoriasis	185
d2. En el liquen plano	191
d3. En la neurodermitis	193
d4. Comparación de resultados.	194
e. Moléculas de adhesión y marcadores de activación celular en la epidermis	196
e1. En la psoriasis	196
e2. En el liquen plano	202
e3. En la neurodermitis	204
e4. Comparación de resultados.	206
f. Técnica de la doble tinción secuencial en la psoriasis	219
f1. Naturaleza de las células dérmicas Ki-67+	220
f2. Relación queratinocitos Ki-67+ e inmunocitos	220
f3. Proliferación de inmunocitos intraepidérmicos	221
f4. Relación ICAM-1/LFA-1	221
VI. COMENTARIO	230
VII. CONCLUSIONES	263
VIII. BIBLIOGRAFIA	302

1. AGRADECIMIENTOS

Al profesor José M de Moragas, Director del Servicio de Dermatología del Hospital de la Sta Creu i St Pau, director de la presente tesis, al que debo mi interés por la dermatología y que con su estímulo y ejemplo me ayuda a mantenerlo.

A la profesora Rosa M Martí, profesora titular de dermatología de la Facultat de Medicina de Lleida, co-directora de la presente tesis, a la que debo mi formación en el trabajo de laboratorio y mi interés por la investigación.

A la Dra Roser Tamarit, a la Dra María Metaute y a los compañeros del departamento de ciencias médicas básicas, por su ayuda en el trabajo de laboratorio.

A mis compañeros del Hospital Gregorio Marañón de Madrid, donde me formé como residente en la especialidad de Dermatología.

A mis compañeros del Hospital de San Pablo de Barcelona de los que sigo aprendiendo cada día.

A la Dra Carme Piñol, con la que he compartido muchas horas de ordenador, al Dr Xavi Gómez y al Dr Manel Baradad por su ayuda en el trabajo estadístico y al Dr Ramón Egido por su trabajo en el diagnóstico anatómico-patológico.

A Teresa Blanch y Nuria Garcés por su inestimable colaboración en la labor de secretaría.

2. BECAS Y SUBVENCIONES

La presente tesis doctoral ha sido subvencionada por las siguientes becas:

BECA DGYCIT SM 91-0021: "Inmunopatología de la Psoriasis"

Investigador principal: Dra Rosa M Martí i Laborda

BECA de la Fundación Uriach

BECA de la ACIELL

3. ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO

ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
LFA-1	Ag asociado a la función linfocitaria 1
VCAM-1	Molécula de adhesión vascular 1
ELAM-1	Molécula de adhesión endotelial-leucocitaria 1 (Selectina E)
rIL-1/2	Receptor de IL-1/2
IFN α / β / γ	Interferón alfa/beta/gamma
TNF α / β	Factor de necrosis tumoral alfa/beta
TGF α / β	Factor de crecimiento transformador alfa-beta
IL 1-12	Interleucina 1-12
M-CSF	Factor estimulador de colonias de monocitos
GM-CSF	" " " de granulocitos y macrófagos
TCR	Receptor de superficie de la célula T
Linfocito Th.....	Linfocito T <i>helper</i> (cooperador o colaborador)
Linfocito Tc/s	Linfocito T citotóxico-supresor
CL	Célula de Langerhans
QC	Queratinocito
PMN	Polimorfonucleares
Ag	Antígeno
Ac	Anticuerpo
CMH	Complejo mayor de histocompatibilidad
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana.
Pm	Peso molecular
μ	Micra
CPA	Célula presentadora de Ag

4. RESUMEN DE LA TESIS

Antecedentes

Los hallazgos histopatológicos fundamentales en la psoriasis son una hiperplasia epidérmica y un infiltrado linfomononuclear dérmico, con exocitosis hacia la epidermis. También se observan cambios vasculares, probablemente secundarios factores angiogénicos producidos por células del infiltrado o por los queratinocitos y un infiltrado por polimorfonucleares. La mayoría de autores aceptan que es una enfermedad hereditaria, sobre la que actuarían como desencadenantes fenómenos inmunológicos, traumatismos, la ingesta de determinados fármacos, o el estrés.

No se conoce bien si la alteración genética se localiza a nivel del control de la proliferación del queratinocito (teoría clásica) -en cuyo caso los cambios dérmicos (infiltrado y vascularización) serían secundarios a la liberación de mediadores por el queratinocito, la exocitosis a factores quimiotácticos y moléculas de adhesión derivadas de los mismos y los tratamientos actuarían frenando la actividad mitótica de las células epidérmicas; o bien si el defecto básico reside en el sistema inmune (teoría inmune) -según la cual la hiperplasia epidérmica sería secundaria a la liberación de citocinas hiperproliferativas por parte de las propias células CD4+ o por otros inmunocitos y los tratamientos actuarían como inmunomoduladores-. Esta última teoría ha cobrado un gran interés en los últimos años, especialmente por el papel de la ciclosporina A en el tratamiento de la psoriasis.

Con el fin de determinar si es más precoz la activación/proliferación del queratinocito o la activación/proliferación de las células del infiltrado se han estudiado lesiones incipientes y el borde de lesiones en actividad habiéndose obtenido resultados contradictorios.

Desde hace años se sabe que la hiperplasia epidérmica en la psoriasis es secundaria a la hiperproliferación del queratinocito, la cual se caracteriza por un aumento del número de células germinativas en fase de proliferación (100% vs 60% según una técnica de timidina tritiada) y de la fracción de crecimiento de la epidermis ($56.1 \pm 18.6\%$ vs $5.2 \pm 1\%$). También se ha detectado un aumento del índice de captación de la ^3H -timidina, del número de mitosis y del número de células en fase cíclica. La piel sana de los pacientes con psoriasis también presenta características hiperproliferativas.

La hiperproliferación epidérmica en la psoriasis se debe a la entrada de células que estaban en fase latente (G_0) a fase cíclica, las cuales pueden ponerse de manifiesto mediante la tinción con Ki-67, Ac monoclonal que reacciona con un Ag nuclear expresado por las células en fase G_1 tardía, S, M y G_2 . Tiene la ventaja, respecto a la timidina tritiada, de que es un método no radioactivo y más rápido para cuantificar la proliferación epidérmica. Este Ac monoclonal se ha utilizado principalmente en la valoración de la proliferación en tumores. Existen 2 estudios previos de la proliferación epidérmica en la psoriasis con Ki-67.

Por otra parte, varios autores habían afirmado que en la psoriasis los linfocitos T dérmicos estaban en fase G_0 o de descanso (eran Ki67-) y que únicamente eran + los que infiltraban la epidermis. Esto significaría que los linfocitos T proliferarían en los ganglios linfáticos, pasarían posteriormente a la circulación general y finalmente llegarían a la epidermis donde se activarían.

El infiltrado dérmico de una lesión de psoriasis está compuesto por linfocitos T (75% de tipo CD4+) activados, que expresan en superficie HLA-DR y rIL-2, dendrocitos dérmicos/macrófagos y células de Langerhans. Se ha-

bía afirmado que cuando las lesiones de psoriasis involucionaban predominaban los linfocitos T CD8+, mientras que las lesiones crónicas se caracterizaban por una reducción en los mismos. En el infiltrado se han detectado las citocinas proinflamatorias IL-2 e IFN- γ , mientras que están ausentes las citocinas antiinflamatorias IL-4 e IL-10. Este patrón corresponde al secretado por los linfocitos Th1, por lo que se cree que son los que predominan en el infiltrado de la psoriasis. También se ha detectado una elevada proporción de dendrocitos/macrófagos, con elevada capacidad de presentar Ag y de secretar citocinas como el TNF- α , implicadas en la psoriasis. Su papel se ha reforzado con la teoría de los superantígenos en la patogénesis de la misma.

Por otra parte, una de las características del queratinocito psoriásico es la expresión en superficie de ICAM-1 y HLA-DR. Ambas se expresan en respuesta al estímulo del IF- γ y, mientras la primera sirve como molécula de adhesión para la unión de la LFA-1 linfocitaria, la segunda se ha visto que puede servir para presentar superantígenos que mantengan al linfocito activado.

Con el fin de aportar algunos datos en la profundización de la etiopatogenia de la psoriasis, nos hemos planteado los siguientes objetivos:

Objetivos

1. Determinar la proliferación de los queratinocitos y de las células inmunes dérmicas en biopsias cutáneas de pacientes con psoriasis.

1a. Comparar dicha actividad proliferativa en el centro de las biopsias de psoriasis respecto a la zona de transición y el borde libre de las mismas.

1b. Comparar dichos resultados con los obtenidos tras 2 semanas de tratamiento con antralina.

1c. Comparar los resultados obtenidos en el centro de las biopsias de psoriasis con los obtenidos en biopsias de pacientes con liquen plano o neurodermitis.

2. Determinar las subpoblaciones celulares, la expresión de antígenos de activación celular y la expresión de moléculas de adhesión en el infiltrado dérmico y epidérmico de biopsias cutáneas de pacientes con psoriasis.

2a. Comparar dichos resultados con los obtenidos al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina.

2b. Comparar estos mismos resultados con los obtenidos en biopsias de pacientes con una dermatitis clínica e histopatológicamente similar como es la neurodermitis (perteneciente al espectro de la dermatitis atópica) y con biopsias de pacientes con otra dermatitis de probable causa autoinmune como es el liquen plano.

3. En la zona de transición de las lesiones de psoriasis observar si la expresión de antígenos de activación linfocitarios se produce antes o después del inicio de la acantosis epidérmica.

3a. En dicha zona observar si es más precoz el inicio de la proliferación de los inmunocitos dérmicos o bien la de los queratinocitos.

4. Mediante una técnica inmunohistoquímica de doble tinción secuencial, determinar:

4a. La naturaleza de las células Ki-67+ en el infiltrado dérmico de biopsias de pacientes con psoriasis (el tipo de subpoblaciones celulares en fase de proliferación y qué antígenos de activación y moléculas de adhesión expresan dichas células).

4b. Si existe yuxtaposición entre los queratinocitos que expresan Ki-67 y las células inmunitarias que invaden la epidermis.

4c. Si en la epidermis se produce proliferación de dichos inmunocitos.

4d. Si observamos, mediante esta técnica, una relación espacial entre los linfocitos que expresan LFA-1 y los queratinocitos que expresan ICAM-1.

Material y métodos

Realizamos biopsia en cuña de 74 pacientes con psoriasis (en 13 incluimos un 50% de piel sana perilesional) y posteriormente a 16 más al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%, las cuales fueron sometidas a los siguientes procedimientos:

1) Tinción inmunohistoquímica con Ki-67, el cual fué procesado con una técnica de estreptavidina-biotina-peroxidasa que se reveló con DAB. No realizamos contratinción con hematoxilina. En un campo de 400 aumentos contabilizamos el número de queratinocitos suprabasales que se teñían con Ki-67 y, en la capa basal, cuantos se teñían por cada 20 queratinocitos basales. También contamos el número de células del infiltrado dérmico que eran Ki-67+.

2) Por otra parte dichas biopsias se tiñeron con 5 Ac monoclonales para identificar subpoblaciones celulares: 3 dirigidos frente a linfocitos (OKT-11/CD2, Leu-3a/CD4 y Leu-2a/CD8), 1 frente a células de Langerhans (OKT6/CD1) y 1 frente a macrófagos (EMB-11/CD68); 2 anti-moléculas de activación celular (anti-HLA-DR y anti-rIL-2) y 2 antimoléculas de adhesión (anti-ICAM-1 y anti-LFA-1), los cuales fueron procesados con una técnica de estreptavidina-biotina-peroxidasa que se reveló con DAB. En la dermis la

valoración de los resultados se hizo de forma semicuantitativa dando los siguientes valores: "0"=ausencia de infiltrado; "1"=0-25% del infiltrado, "2"=25-50%, "3"=50-75% y "4" más del 75%. El número de células que infiltraban la epidermis se contabilizó cuantitativamente tomando un campo de 400 aumentos, excepto la ICAM-1 que también se valoró de forma semicuantitativa ("0"=ausencia de células intraepidérmicas ICAM-1+; "1"=expresión por células aisladas; "2"=expresión en focos aislados formando la típica imagen en "panal de abeja" y "3"=expresión multifocal y muy evidente).

Los resultados del centro de las placas de psoriasis se compararon con los obtenidos en 24 pacientes con liquen plano y en 14 con neurodermitis.

Finalmente realizamos 22 biopsias a pacientes con psoriasis y las sometimos a una técnica inmunohistoquímica de doble tinción secuencial, que constaba de 2 pasos. En primer lugar las biopsias se incubaron con Ki-67, el cual fue procesado con un kit de estreptavidina-biotina-peroxidasa que se reveló con DAB. Seguidamente se aplicó un segundo monoclonal (Leu-3a/CD4, Leu-2a/CD8, EMB/CD68, OKT6/CD1, HLA-DR, rIL2/CD25, ICAM-1/CD54 y LFA1/CD11) que fue sometido a una técnica de FFAFA revelada con neofucsina. Tampoco realizamos contratinción con hematoxilina. En 7 de las biopsias se aplicó como primer Ac ICAM-1 y como segundo LFA-1, con el fin de observar la relación entre ambos.

Resultados

1) Valoración de la proliferación con Ki-67:

En las 74 biopsias de psoriasis estudiadas, de cada 20 queratinocitos basales se tiñeron con Ki-67 4.12 ± 3.31 por campo como promedio mientras

que existía una elevada tinción de los queratinocitos suprabasales (61.18 ± 33.46 por campo). En la zona de transición el número fué más reducido (3.38 ± 3.40 y 47.38 ± 32.98 respectivamente) y aún más en la piel sana perilesional (1.08 ± 0.76 de cada 20 queratinocitos basales y 7.69 ± 3.84 suprabasales), con diferencias estadísticamente significativas entre dichas áreas ($p < 0.05$).

Al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina se redujo el número de queratinocitos basales Ki-67+ (2.56 ± 1.78 de cada 20) y también el de suprabasales (36.93 ± 27.32 por campo), con diferencias estadísticas respecto a los valores pretratamiento.

En las 24 biopsias de liquen plano, como promedio se tiñeron con Ki-67 5 ± 2.36 de cada 20 queratinocitos basales y 13.63 ± 7.93 queratinocitos suprabasales por campo. En las 14 biopsias de neurodermitis fueron Ki-67+ 2.64 ± 2.10 de cada 20 queratinocitos basales y 15.79 ± 10.27 por campo entre los suprabasales. Estos valores fueron significativamente menores que los obtenidos en la psoriasis.

En nuestra serie detectamos células Ki-67+ en el infiltrado dérmico en las 3 dermatosis.

En la psoriasis, como promedio se tiñeron con Ki-67 17.19 ± 11.83 células por campo en el centro de la biopsia, 10.15 ± 6.34 en la zona de transición y 1.62 ± 1.85 a nivel del borde perilesional. Al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina la proliferación de las células del infiltrado dérmico en el centro de las placas se había reducido a 6.68 ± 5.75 como promedio.

En el liquen plano el número absoluto de células dérmicas en fase proliferativa es mucho mayor (52.83 ± 30.97 células por campo). En las 14 biopsias de pacientes con neurodermitis se detectó una baja proliferación a

nivel de las células del infiltrado dérmico (11 ± 9.72 células por campo).

2) Subpoblaciones celulares y moléculas de adhesión y activación celular:

2a. Subpoblaciones celulares en la dermis

En la psoriasis, del 50 al 75% de las células del infiltrado dérmico eran linfocitos T ($\text{Leu-3a} = 2.99 \pm 0.69$), siendo ligeramente superior el número de células Leu-3a/CD4^+ (3.15 ± 0.72). Alrededor del 25% de las células del infiltrado dérmico eran linfocitos T supresores ($\text{Leu-2a} = 1.46 \pm 0.58$), y de un 25 a un 50% macrófagos ($\text{EMB-11} = 2.32 \pm 0.78$) y mientras que alrededor de un 25% eran células de Langerhans ($\text{OKT-6} = 1.6 \pm 0.67$).

A las 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%, se había reducido significativamente la proporción de linfocitos T y de células de Langerhans.

En el liquen plano los linfocitos T representaban del 50 al 75% de las células del infiltrado dérmico ($\text{OKT-11} = 3.37 \pm 0.65$), cifra similar al porcentaje de células Leu-3a (2.96 ± 0.86) y de macrófagos ($\text{EMB-11} = 3.08 \pm 0.50$). Alrededor de un 25% eran linfocitos T CD8^+ (1.75 ± 0.61), y de un 25 a un 50% células de Langerhans ($\text{OKT-6} = 2.58 \pm 0.5$). En la neurodermitis del 50 al 75% de las células del infiltrado dérmico eran linfocitos T ($\text{OKT-11} = 3.14 \pm 0.66$), valor similar al obtenido con Leu-3a (también entre un 50 y un 75% o sea 3 ± 0.68). Alrededor de un 25% del infiltrado estaba compuesto por linfocitos T supresores CD8^+ ($\text{Leu-2a} = 1.71 \pm 0.47$) y de un 25 a un 50% macrófagos ($\text{EMB-11} = 2.64 \pm 0.63$) y células de Langerhans ($\text{OKT-6} = 2.58 \pm 0.5$).

2b. Subpoblaciones celulares en la epidermis

En la composición del infiltrado epidérmico en la psoriasis predominaban los linfocitos T CD2^+ ($\text{OKT11} = 36.15 \pm 26.02$ por campo), en especial el subtipo CD4^+ ($\text{Leu-3a} = 22.16 \pm 18.18$). También había un número elevado de

células de Langerhans (OKT-6=23.8±8.58 células por campo), mientras que el número de linfocitos T supresores y de macrófagos fué menor (Leu-2a=17.91±15.54 y EMB-11=16.53±10.26).

A las 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5% se habían reducido en números absolutos todas las subpoblaciones de células que infiltraban la epidermis aunque de forma significativa los linfocitos T totales (OKT-11) y muy especialmente las células Leu-2a (CD8).

En la epidermis del liquen plano la célula predominante entre las que infiltraban la epidermis fué la célula de Langerhans (OKT-6=31.71±8.00 células por campo), seguida de los linfocitos T (OKT11=25.08±11.18) y los linfocitos T CD4+ (Leu-3a=17.33±5.88). Como en la psoriasis, los más escasos fueron los linfocitos T supresores y los macrófagos (Leu-2a=13.63±6.21 y EMB-11=13.38±4.24). En la neurodermitis las células presentes en mayor número fueron los linfocitos T (OKT11=18.79±6.90 por campo) seguido de las células de Langerhans (OKT-6=17.07±7.23) y los linfocitos T *helper* (Leu-3a=17±10.96) mientras que los linfocitos T supresores y los macrófagos fueron nuevamente las células menos detectadas (Leu-2a=9.93±7.11 y EMB-11= 9.79±4.92).

2c. Moléculas de adhesión y activación celular en la dermis.

En la psoriasis, alrededor del 75% de las células del infiltrado dérmico fueron HLA-DR+ (3.18±0.63) y con rIL-2 se tiñeron alrededor del 25% de las mismas (1.20±0.55). Con ICAM-1 se marcaron cerca de un 50% de las células del infiltrado (2.42±0.66), siendo más intensa la tinción de las células endoteliales y con LFA-1 se tiñeron más del 50% de las células del infiltrado dérmico (3.01±0.65). En 12 de las biopsias se observó un infiltrado epidérmico por células LFA-1+ en la zona del borde de piel sana perilesional, antes del inicio de la acantosis psoriásica.

A las 2 semanas de tratamiento, a pesar de haberse reducido el número total de células del infiltrado, se mantenía el porcentaje que expresaba HLA-DR y LFA-1, aunque había aumentado de forma significativa la expresión de rIL-2 y de ICAM-1 por las células del infiltrado.

En el liquen plano, expresan HLA-DR en superficie como promedio alrededor del 75% de las células del infiltrado (3.50 ± 0.59); expresan rIL-2 entre el 25 y el 50% de dichas células (2.21 ± 0.72); se tiñen con ICAM-1 del 50 al 75% de las células del infiltrado (3.00 ± 0.66) (que también marca con mayor intensidad las células endoteliales) y algo menos con LFA-1 (3.29 ± 0.46) que también captaron del 50 al 75% de las células del infiltrado dérmico como promedio. En la neurodermitis captaron HLA-DR, como promedio alrededor del 75% de las células del infiltrado dérmico (3.79 ± 0.43), con rIL-2 se tiñeron alrededor del 25% de las mismas (1.36 ± 0.5), con ICAM-1 se marcaron, como promedio, entre un 25 y un 50% de las células (2.43 ± 0.51), siendo la tinción más intensa a nivel de las células endoteliales. Con LFA-1 se tiñeron alrededor de un 75% de las células del infiltrado (3.43 ± 0.51).

2d. Moléculas de adhesión y de activación celular en la epidermis

A nivel de la epidermis en la psoriasis el HLA-DR era expresado por 24.99 ± 9.41 células por campo. Con rIL-2 el promedio de células que se tiñeron fue de 8.34 ± 8.21 por campo. En 17 casos pudimos apreciar una exocitosis de células rIL-2 + en el borde de piel sana perilesional, por fuera del inicio de la acantosis. Con LFA-1 el número de células que se tiñeron como promedio fue de 33.93 ± 14.69 por campo, mientras que con ICAM-1 observamos tinción alrededor de las células basales prácticamente en todas nuestras biopsias. Además en 33 casos detectamos imagen en panal de abeja multifocal, en 21 en focos aislados, en 8 células positivas aisladas y en las 12 biopsias restantes no detectamos tinción ICAM-1 intraepidérmica.

A las 2 semanas de tratamiento, se había reducido el número de células que expresaban HLA-DR, rIL-2 y LFA-1 en la epidermis psoriásica, aunque de forma especialmente significativa el de las 2 primeras ($p=0.0002$)

En el liquen plano el HLA-DR era expresado, como promedio por 22.96 ± 8.08 células, con rIL-2 se tiñeron como promedio 13.92 ± 3.65 células, con LFA-1 18.33 ± 4.32 y con ICAM1 en 12 casos detectamos imagen en panal de abeja multifocal, en 5 focos aislados, en 2 células positivas aisladas y en las 5 biopsias restantes no detectamos tinción ICAM-1. En la neurodermitis el HLA-DR era expresado, como promedio por 25.86 ± 11.24 células. Con rIL-2 se tiñeron como promedio 20.71 ± 10.36 células, con LFA-1 21.5 ± 4.65 células, y con ICAM-1 únicamente en 1 biopsia hemos detectado múltiples focos de células ICAM-1+ formando imagen en panal de abeja, en 5 hemos detectado focos aislados, en 2 células positivas aisladas y en las 6 biopsias restantes no hemos detectado tinción ICAM-1.

3. Doble tinción secuencial

En las 22 biopsias estudiadas, a nivel de la dermis, en la mayoría de los casos se detectó expresión simultánea de Ki-67 y otro de los antígenos de superficie referidos anteriormente, lo que indica que las células proliferantes eran tanto de estirpe linfoide como de la línea monocito-macrófago/célula de Langerhans.

En campos seleccionados, las células que proliferaban en mayor proporción eran los linfocitos T CD4+ y las células que expresaban en superficie LFA-1 (45% de dichas células) mientras que aproximadamente un tercio de las mismas, en algunos campos, eran macrófagos, un tercio células de Langerhans y un tercio expresaba en superficie HLA-DR. Un 21% de

las células proliferantes expresaban rIL-2 en superficie y únicamente un 10% de las células proliferantes eran linfocitos T supresores. También detectamos algunas células endoteliales en fase de proliferación.

En las 22 biopsias detectamos yuxtaposición entre queratinocitos proliferantes e inmunocitos, en 1 o más campos, con todos los antígenos estudiados: en 13 de las teñidas con EMB-11 (macrófagos), en 12 de las marcadas con LFA-1, en 12 de las marcadas con HLA- DR, en 10 de las teñidas con OKT6 (células de Langerhans), en 10 de las marcadas con Leu-3a (linfocitos T CD4+), en 10 de las marcadas con rIL-2 y en 5 de las marcadas con Leu-2a (linfocitos T supresores).

También se detectó proliferación de los inmunocitos que invadían la epidermis. Detectamos doble tinción intraepidérmica, en 1 o varios campos, en 11 de las biopsias marcadas con OKT6 (células de Langerhans), en 11 de las marcadas con LFA-1, en 11 de las marcadas con rIL-2, en 9 de las marcadas con HLA-DR, en 7 de las teñidas con EMB-11 (macrófagos), en 7 de las marcadas con Leu-3a (linfocitos T CD4+), y en 5 de las marcadas con Leu-2a (linfocitos T supresores).

Por otra parte, en 5 biopsias (de 7 disponibles) detectamos una relación clara entre queratinocitos ICAM-1+ y el LFA-1 expresado por células inmunitarias que invadían la epidermis.

Conclusiones

1. En la epidermis psoriásica existe un incremento muy importante en la proliferación de queratinocitos, especialmente los suprabasales. En el centro de las placas es un 30% mayor que en la zona de transición y casi nueve veces superior al de la piel sana perilesional. También es unas 4 veces

mayor que en el liquen plano y que en la neurodermitis. Estos datos apoyan la hipótesis de que el trastorno fundamental en la psoriasis se localiza a nivel del queratinocito.

2. En la dermis de las 3 dermatosis estudiadas se observan inmunocitos en fase de replicación, lo que desmiente la hipótesis de que en las dermatosis inflamatorias los linfocitos proliferan en el ganglio y posteriormente migran a la piel. El número de células Ki-67+ en el infiltrado dérmico es mucho mayor en el liquen plano que en la psoriasis y que en la neurodermitis, con diferencias significativas.

3. En la psoriasis existe un infiltrado dérmico rico en células T, especialmente CD4+, y células CD68+ (redondeadas, fusiformes y dendríticas). Por otra parte, son escasas las células T supresoras y las células de Langerhans, que en muchas ocasiones adoptaban un patrón nodular.

3a. A las 2 semanas de tratamiento con antralina se mantiene la proporción de células T CD4+, CD8+ y macrófagos, y se reduce el porcentaje de linfocitos T totales y de células de Langerhans.

3b. Existen diferencias significativas en la composición celular del infiltrado dérmico entre la psoriasis, el liquen plano y la neurodermitis. En el liquen plano hay mayor número de macrófagos y de células T CD8+ mientras que en la neurodermitis hay un mayor número de células de Langerhans.

4. En la psoriasis existe un infiltrado epidérmico rico en células T, especialmente CD4+, y células de Langerhans. Son escasas las células T CD8+ y los macrófagos CD68+.

4a. Existen diferencias estadísticas en la composición del infiltrado epidérmico entre la psoriasis, el liquen plano y la neurodermitis. En la psoriasis hay mayor número de células CD2+ (linfocitos T) y CD68+ (macrófagos) y en el liquen plano hay un mayor número de células OKT6+ (células de Langerhans).

5. En la dermis psoriásica alrededor del 75% de las células del infiltrado expresaban en superficie HLA-DR y LFA-1 mientras que la expresión de rIL-2 era escasa y la ICAM-1 marcaba alrededor del 50% de las células del infiltrado (incluyendo células fusiformes y dendríticas) además de teñir, con mayor intensidad, las células endoteliales.

5a. A las 2 semanas de tratamiento detectamos un aumento en el porcentaje de expresión de rIL-2 e ICAM-1.

5b. Existen diferencias estadísticas entre la psoriasis, el liquen plano y la neurodermitis respecto a la expresión en dermis de estos marcadores. La neurodermitis era la que presentaba mayor expresión de HLA-DR y de LFA-1 y el liquen plano de rIL-2 y de ICAM-1.

6. En la psoriasis existe un infiltrado epidérmico en que las células expresan HLA-DR y LFA-1, y es menor la de rIL-2+.

6a. Existen diferencias estadísticas entre la psoriasis, el liquen plano y la neurodermitis respecto a la expresión de rIL-2, que se da especialmente en la neurodermitis y es escasa en la psoriasis y respecto a la de LFA-1, con mayor expresión en la psoriasis y más escasa en el liquen plano. Estas diferencias probablemente reflejen una red de citocinas y una patogenia diferente en las 3 dermatosis.

7. Mediante la doble tinción hemos comprobado que:

7a. En la psoriasis, alrededor del 45% de las células proliferantes del infiltrado dérmico son linfocitos T helper activados que expresan en superficie LFA-1. También hemos detectado una moderada actividad proliferativa en los macrófagos dérmicos y en las células de Langerhans.

7b. Los inmunocitos intraepidérmicos que muestran mayor actividad proliferativa son aquellos que expresan OKT6, LFA-1, rIL-2 y HLA-DR y la menor aquellos marcados con Leu-2a.

7c. Existe yuxtaposición intraepidérmica de varios inmunocitos y queratinocitos en fase de proliferación.

8. Las características del infiltrado dérmico y epidérmico en la psoriasis, con presencia de inmunocitos que expresan HLA- DR, ICAM-1 y rIL2, y la yuxtaposición de los mismos a queratinocitos en fase de proliferación, apoyan la teoría inmune en la patogénesis de la psoriasis.

5. INDICE DE FIGURAS	Pag
1. Psoriasis. Distribución por edades.....	132
2. Liquen plano. Distribución por edades.....	134
3. Neurodermitis. Distribución por edades.....	135
4. Psoriasis. Valoración de la proliferación con Ki-67.....	147
5. Psoriasis. Proliferación con Ki-67 (x100).....	157
6. Psoriasis. Tinción nuclear con Ki-67 (x200).	157
7. Psoriasis. Tinción nuclear con Ki-67 (x400).	158
8. Psoriasis. Tinción nuclear con Ki-67 (x400).	158
9. Proliferación en el centro, la zona de transición y el borde.....	149
10. Ki-67 en la psoriasis, antes y después de 2 semanas de antralina al 0.5%...	151
11. Proliferación en el liquen plano con Ki-67.....	153
12. Liquen plano. Ki-67 en dermis y epidermis. H&E (x100).....	159
13. Liquen plano. Ki-67 en dermis y epidermis. H&E (x100).....	159
14. Liquen plano. Ki-67 en dermis y epidermis. (x200).....	160
15. Neurodermitis. Proliferación con Ki-67.....	155
16. Neurodermitis. Ki-67 en dermis y epidermis (x100).....	160
17. Neurodermitis. Ki-67 en dermis y epidermis (x100).....	161
18. Ki-67 en psoriasis, liquen plano y neurodermitis. Comparación de resultados	156
19. Psoriasis. Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico.....	165
20. Psoriasis. Intenso infiltrado OKT-11+/CD2 en dermis. H&E (x40).....	207
21. Psoriasis, OKT-11/CD2. Intenso infiltrado en dermis y exocitosis epidérmica. H&E (x200).	207
22. Psoriasis. Leu-3a/CD4. En la epidermis también se tiñen células dendríticas. H&E. (x200).	208

Índice de figuras

23. Psoriasis. Leu-2a/CD8. En dermis se tiñen alrededor del 25% de las células del infiltrado. Exocitosis epidérmica. H&E. (x200).....	208
24. Psoriasis. EMB-11/CD68 en dermis y epidermis. En dermis alta las células CD68+ adoptan morfología dendrítica, lo mismo que en la epidermis. H&E. (x200)	209
25. Psoriasis. CD68. Intensa tinción en dermis, donde se marcan células fusiformes y redondas, e importante exocitosis epidérmica. (x100).....	209
26. Psoriasis. Células CD68+ dendríticas en dermis alta y epidermis.....	210
27. Psoriasis. Células OKT-6/CD1+. Infiltrados nodulares en dermis. Moderada infiltración epidérmica. H&E. (x100).....	210
28. Detalle de la anterior. (x200).	211
29. Subpoblaciones celulares en la dermis psoriásica. Antes del tratamiento y a las 2 semanas de antralina.	167
30. Liquen plano. Subpoblaciones celulares a nivel de la dermis.....	169
31. Liquen plano. Abundantes macrófagos CD68+ en dermis y epidermis. (x200)	211
32. Liquen plano. Intensa tinción OKT-6 en la dermis. H&E (x100)	212
33. Liquen plano. Intensa tinción OKT-6 en la epidermis. H&E (x200).	212
34. Neurodermitis. Subpoblaciones celulares a nivel de la dermis.....	171
35. Subpoblaciones celulares a nivel de la dermis. Comparación de resultados	172
36. Psoriasis. Subpoblaciones celulares en la epidermis.....	177
37. Subpoblaciones celulares en la exocitosis epidérmica antes y al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina.	179
38. Liquen plano. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico.....	181
39. Neurodermitis. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico.	183
40. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico. Comparación de resultados.....	184
41. Psoriasis. Moléculas de adhesión y activación celular en la dermis.....	188

Índice de figuras

42. Psoriasis. HLA-DR intenso en dermis y epidermis. Tinción de células redondas y células dendríticas. H&E. (x200).	213
43. Detalle de la anterior. (x400).	213
44. Psoriasis. Entre el 25 y el 50% de las células del infiltrado dérmico son rIL-2+. Ligera exocitosis epidérmica. H&E. (x100).	214
45. Psoriasis. ICAM-1 intraepidérmico, que tiñe células dendríticas y origina imagen en "panal de abeja". H&E. (x200).	214
46. Psoriasis. ICAM-1. Se tiñen las células endoteliales y células redondas del infiltrado perivascular en la dermis. En la epidermis se tiñen los queratinocitos basales y se aprecia imagen "en panal de abeja" en la epidermis suprapapilar. (x100).	215
47. Psoriasis. ICAM-1. En dermis se tiñen células endoteliales y del infiltrado. En la epidermis los queratinocitos basales y algunas células dendríticas. Se aprecia imagen en "panal de abeja".....	215
48. Psoriasis. LFA-1. Intensa tinción del infiltrado y exocitosis intraepidérmica. H&E (x200).	216
49. Moléculas de adhesión y activación celular en la dermis psoriásica, antes y a las 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.	190
50. Moléculas de activación y de adhesión en la dermis. Liquen plano.	192
51. Liquen plano. ICAM-1. Tinción intensa de células endoteliales. Imagen en "panal de abeja" en queratinocitos basales, en el área de máximo infiltrado. (x200).	216
52. Liquen plano. Intensa tinción LFA-1 de las células del infiltrado. H&E. x200... ..	217
53. Liquen plano. Exocitosis de células LFA-1. H&E. x400.....	217
54. Moléculas de activación y de adhesión en la dermis. Neurodermitis.....	194
55. Neurodermitis. ICAM-1. Tinción de las células endoteliales y de las células del infiltrado perivascular. Apenas se aprecia tinción intraepidérmica.	218
56. Moléculas de activación y de adhesión en la dermis. Comparación de resultados.	195
57. Moléculas de activación y de adhesión en la epidermis. Psoriasis.....	199
58. Moléculas de activación y de adhesión en la epidermis de la psoriasis, antes y a las 2 semanas de tratamiento con antralina.	201

Índice de figuras

59. Moléculas de activación y de adhesión en la epidermis. Liquen plano.....203
60. Moléculas de activación y de adhesión en la epidermis. Neurodermitis.....205
61. Moléculas de activación y de adhesión en la epidermis. Comparación de resultados. 206
62. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/Leu-3a (neofucsina, fucsia). Linfocito T CD4+ en fase de replicación. (x1000)..... 222
63. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/LFA-1 (neofucsina, fucsia). Linfocito T activado LFA-1+ en fase de replicación. (x1000)..... 222
64. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/HLA-DR (neofucsina, fucsia). Inmunocitos HLA-DR+ en fase de replicación en dermis y epidermis. Yuxtaposición entre célula que expresa HLA-DR en superficie y queratinocitos Ki-67+. (x1000).....223
65. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/CD68 (neofucsina, fucsia). Macrófago dérmico en fase de proliferación. (x600)..... 223
66. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/ICAM-1 (neofucsina, fucsia). Células endoteliales en fase de replicación. (x1000)..... 224
67. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/CD68 (neofucsina, fucsia). Visión de conjunto. Infiltrado dérmico rico en células CD68+ con exocitosis moderada de las mismas. Algunas células intraepidérmicas se disponen en la vecindad de queratinocitos proliferantes. (x100)..... 224
68. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/HLA-DR (neofucsina, fucsia). Yuxtaposición entre una célula HLA-DR+ y varios queratinocitos proliferantes. (x600)..... 225
69. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/OKT-6 (neofucsina, fucsia). Yuxtaposición entre una célula OKT-6+ y queratinocitos proliferantes. (x400)..... 225
70. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/Leu-3a (neofucsina, fucsia). Yuxtaposición entre una célula Leu-3a+ y queratinocitos proliferantes. (x1000)..... 226
71. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/OKT-6 (neofucsina, fucsia). Visión de conjunto. Escasas células OKT-6+ en dermis y abundantes en epidermis. En general las células OKT-6+ ocupan la mitad superior de la epidermis mientras los queratinocitos proliferantes se sitúan en la mitad inferior aunque algunas células intraepidérmicas se disponen en la vecindad de queratinocitos proliferantes. (x200). 226
72. 71. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/OKT-6 (neofucsina, fucsia). Células de Langerhans intraepidérmicas en fase de proliferación. (x1000)..... .227
73. Doble tinción Ki-67 (DAB, marrón)/HLA-DR (neofucsina, fucsia). Célula HLA-DR

Índice de figuras

- intraepidérmica en fase proliferativa y junto a queratinocitos proliferantes. (x400).
..... 227
74. Doble tinción ICAM-1 (DAB, marrón)/LFA-1 (neofucsina, fucsia). Las células LFA-1+ se disponen alrededor de los vasos ICAM-1+ e infiltran la epidermis en la zona de máxima expresión de ICAM-1..... 228
75. Doble tinción ICAM-1 (DAB, marrón)/LFA-1 (neofucsina, fucsia). Detalle de la anterior..... 228

6. INDICE DE TABLAS	Pag
I. Superfamilia de las inmunoglobulinas	63
II. Integrinas	68
III. Selectinas	72
IV. Caderinas	75
Va. Características generales. Psoriasis en placas.	131
Vb. Características generales. Psoriasis en gotas.....	132
VI. Características generales. Liquen ruber plano.....	133
VII. Neurodermitis. Características generales.....	135
VIII. Anticuerpos monoclonales utilizados y dilución de los mismos	138
IXa. Valoración de la proliferación con Ki-67. Psoriasis en placas.	146
IXb. Valoración de la proliferación con Ki-67. Psoriasis en gotas	147
Xa. Proliferación en la psoriasis. Comparación del centro de la lesión con la zona de transición y el borde.	149
Xb. Comparación de la proliferación en el centro de la lesión con la zona de transición y el borde. Medias \pm DE.	149
XIa. Proliferación en la psoriasis a las 2 semanas de tratamiento con antralina	150
XIb. Comparación de la proliferación antes del tratamiento y a las 2 semanas.	150
XII. Valoración de la proliferación en el liquen plano con Ki-67.....	153
XIII. Valoración de la proliferación en la neurodermitis con Ki-67	154
XIV. Comparación de resultados	156
XVa. Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico de la psoriasis en placas	164
XVb. Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico de la psoriasis en gotas.	165
XVIa. Subpoblaciones celulares en la dermis psoriásica al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina	166
XVIb. Comparación de resultados	167
XVII. Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico del liquen plano.....	169

XVIII. Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico de la neurodermitis.	171
XIX. Comparación de resultados.....	173
XXa. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico. Psoriasis en placas..	176
XXb. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico. Psoriasis en gotas....	177
XXIa. El infiltrado epidérmico en la psoriasis tras 2 semanas de tratamiento con antralina.....	178
XXIb. Comparación del infiltrado epidérmico en la psoriasis antes y a las 2 semanas de tratamiento con antralina.....	179
XXII. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico del liquen plano.	181
XXIII. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico de la neurodermitis..	183
XXIV. Comparación de resultados.....	184
XXVa. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado dérmico de la psoriasis en placas.....	187
XXVb. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado dérmico de la psoriasis en gotas.	188
XXVIa. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado dérmico de la psoriasis a las 2 semanas de tratamiento con antralina	189
XXVIb. Comparación de resultados. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado dérmico de la psoriasis antes y a las 2 semanas de tratamiento con antralina.	190
XXVII. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado dérmico del liquen plano.....	192
XXVIII. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado dérmico de la neurodermitis.....	194
XXIX. Moléculas de activación y de adhesión en la dermis. Comparación de resultados.....	195
XXXa. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado epidérmico de la psoriasis en placas.....	198
XXXb. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado epidérmico de la psoriasis en gotas.....	199
XXXIa. Moléculas de activación y de adhesión en la dermis al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina.....	200
XXXIb. Moléculas de activación y de adhesión en la dermis psoriásica, antes y al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina.....	201

Indice de tablas

XXXII. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado epidérmico del liquen plano.....	203
XXXIII. Marcadores de activación celular y moléculas de adhesión en el infiltrado epidérmico de la neurodermitis.....	204
XXXIV. Comparación de resultados.....	206

II. PARTE TEORICA

1. INTRODUCCION

La psoriasis es una dermatosis inflamatoria crónica, que se caracteriza clínicamente por lesiones en forma de pápulas y placas eritematodescamativas, con abundante descamación blanco-nacarada. Su curso es "caprichoso" aunque por lo general se caracteriza por una evolución crónica con exacerbaciones y remisiones. Se han descrito diferentes formas clínicas, aunque por lo general no se trata de cuadros independientes ya que en un mismo enfermo podemos ver varias de ellas en el momento de la exploración o bien en diferentes momentos de la evolución de la enfermedad. Podemos distinguir una psoriasis "en gotas", caracterizada por pequeñas pápulas y de distribución más o menos generalizada y una psoriasis en placas, pequeñas o grandes, que suelen tener predilección por los codos, las rodillas, la superficie de extensión de las extremidades, el cuero cabelludo, la región sacra y el pliegue interglúteo. Es típica la afectación ungueal en forma de "pitting" o bien de leuconiquia distal, que se extiende en "mancha de aceite" asociada o no a hiperqueratosis subungueal.

La psoriasis es de distribución universal. Su incidencia varía según las áreas geográficas, habiéndose calculado entre un 1 y un 3% de la población en los países desarrollados (Lomholt G, 1963; Farber EM, 1974; Rook A, 1992). Por otra parte es rara en la zona del oeste africano (Lomholt G, 1971), en los negros americanos (Kinney JA, 1971) y prácticamente inexistente en los indios norteamericanos (Kerdel-Vegas F, 1974).

Puede empezar a cualquier edad, aunque es rara por debajo de los 3 años. La mayoría de pacientes presentan los primeros signos de la enfermedad a lo largo de la tercera década de la vida (Farber EM, 1974, Casanova JM, 1985). Se ha comprobado un pico de incidencia a los 22.5 años y otro pico a los 55 años (Henseler T, 1985), de modo similar a lo que ocurre

en la diabetes mellitus. Un inicio precoz de la enfermedad, por debajo de los 15 años, se asocia por lo general a un peor pronóstico (mayor superficie de piel afectada y mayor cronicidad) y a una mayor probabilidad de tener familiares directos afectados por la psoriasis (Melski JW, 1981).

En muchos casos se trata de una enfermedad incapacitante. Con frecuencia existe afectación palmoplantar, que impide a los enfermos el desarrollo de trabajos manuales y existen formas severas, con afectación de importantes áreas de la superficie cutánea, que llega a ser de más del 90% (eritrodermias) o bien formas pustulosas generalizadas, asociadas a fiebre y debilidad, que pueden comprometer la vida del enfermo.

Además, entre un 5 y un 8% de los pacientes con psoriasis sufren una artritis asociada (Leckzinsky CG, 1948; Hellgren L, 1969), que llega a ser mutilante alrededor del 10% de los casos (Coulton BL, 1989).

Existen múltiples tratamientos (Casanova JM, 1985; Casanova JM, 1987), unos de aplicación tópica, consistentes en pomadas de corticoides, alquitranes, antralina o calcipotriol, que se utilizan en casos de psoriasis localizadas; otros de administración sistémica, como los retinoides, los citostáticos como el metotrexate o inmunomoduladores como la ciclosporina A, que están indicados en las formas severas de psoriasis. También se consigue el blanqueamiento de la enfermedad gracias a tratamientos con fototerapia UVB o bien fotoquimioterapia (PUVA). Ninguno de los tratamientos anteriormente citados consigue la curación de la enfermedad.

A pesar del enorme esfuerzo investigador invertido sigue sin conocerse con exactitud la etiopatogenia de la psoriasis. Existen múltiples indicios de que se trata de una dermatosis de causa genética (Elder JT, 1994) ya que se ha detectado una clara agrupación de casos familiares y coincidencia de la enfermedad en gemelos (Farber EM, 1974), mayor incidencia de

Introducción

HLA-B13, Bw-16, Bw-17, Bw-37 y, especialmente, Cw6 (Russel TJ, 1972; White SH, 1972) en la psoriasis vulgar y de HLA-B27 y Bw-38 en la sacroileitis y en la artritis distal. También parece que la localización de una alanina en la posición 73 de la molécula HLA-C es un marcador de psoriasis (Asahina A, 1991). Sobre esta base genética actuarían como desencadenantes estímulos exógenos (traumatismos en el fenómeno de Koebner) (Farber EM, 1965) y endógenos (fármacos como el litio y los beta-bloqueantes, neuropéptidos y hormonas del estrés e inmunocomplejos circulantes derivados del estreptococo y el virus del SIDA) (Farber EM, 1986; Swerlick RA, 1986; Duvic M, 1987), transportados por vía hemática.

2. HISTOPATOLOGIA DE LA PSORIASIS.

La característica histopatológica típica de una lesión de psoriasis estable es la denominada "hiperplasia epidérmica psoriasiforme" (Ackerman AB, 1978; Lever WF, 1990; Farmer ER, 1990; Mehregan A, 1991). Se caracteriza por una acantosis epidérmica regular con crestas interpapilares anchas en la base, llegando a confluir con las contiguas, y estrechas en su porción superior, donde se acompañan de adelgazamiento de la epidermis suprapapilar. Asimismo se observa hiperqueratosis paraqueratósica confluyente que coincide con áreas de hipogranulosis. En las papilas dérmicas los capilares son dilatados y tortuosos y desde ellos se produce una exocitosis intermitente de polimorfonucleares (PMN) hacia la epidermis donde forman las pústulas espongiiformes de Kogoj, en el estrato de Malpighio, y los microabscesos de Munro, a nivel subcórneo. En la dermis papilar se detecta un infiltrado linfomonocitario perivascular de intensidad variable.

A nivel de la dermis papilar, uno de los cambios más precoces es la dilatación de los capilares y la aparición de edema, probablemente secundario a la liberación de mediadores de la inflamación por parte de mastocitos, neutrófilos y linfocitos T. Poco después se produce exocitosis de linfocitos y PMN hacia la epidermis. Dicha exocitosis parece estar causada por la acción de citocinas, moléculas de adhesión y otros factores quimio-tácticos derivados de los queratinocitos (Nickoloff BJ, 1991), como comentaremos más ampliamente. Los linfocitos al principio se sitúan en la parte inferior de la epidermis, donde producen focos de espongiosis (Heng MCY, 1991). Aunque no existe un consenso, parece que la hiperproliferación epidérmica se inicia poco después, gracias a un incremento del número de células en estadio premitótico y en mitosis (G2 y M), en la parte inferior de la epidermis (unas 3 capas aproximadamente). A estas células se las deno-

mina "células amplificadoras transitorias" y sobre ellas actúan varios factores, entre los que se incluye un antioncogen p53 mutante, dando lugar a que se acelere hasta la mitad el tiempo necesario para que se complete un ciclo germinativo celular.

Anteriormente se creía que la causa de la lesión de la psoriasis residía en una alteración en las células de la capa basal y que la maduración en las capas superiores era normal, aunque incompleta, debido al acelerado recambio celular. En los últimos años se ha podido comprobar que también existe una alteración en la maduración epidérmica (Bernerd F, 1992; Tadini G, 1989) ya que se han detectado cambios en el contenido de filamentos de queratina. Las citoqueratinas ácidas, de menor Pm, que se expresan habitualmente en la capa basal, aparecen en los estratos superiores, mientras éstos pueden llegar a perder sus citoqueratinas características de elevado Pm, lo que indicaría que se produce un retraso en la diferenciación. Fundamentalmente se pierden citoqueratinas de 68-70 kD y se incrementa el contenido en queratinas de 44, 50 y 54 kD. Con el tratamiento, se recuperan las queratinas de 68-70 kD y se pierden las de 50 y 54 kD pero permanece la queratina de 44 kD, que podría ser un marcador de la piel predispuesta a padecer psoriasis (Bernard BA, 1985; Holland DB, 1986; Fernández-Figueras MT, 1993). En los estratos altos de la epidermis psoriásica, los filamentos de queratina son de un Pm menor al de la piel normal, delgados y poco abundantes, y los gránulos de queratohialina son escasos, por lo que no se produce la típica agregación de la queratina característica de la queratinización ortoqueratósica. Por otra parte se conservan los núcleos, varias organelas citoplásmicas y no se disuelven los desmosomas, lo que se corresponde histológicamente con una hiperqueratosis con paraqueratosis confluyente. La presencia de capas de paraqueratosis alternado con otras de hiperqueratosis ortoqueratósica reflejan períodos

de exacerbación y mejoría de la enfermedad.

Otro de los cambios observados a nivel de la dermis es la proliferación de los capilares, en respuesta a un mecanismo angiogénico, que parece ser similar al del sarcoma de Kaposi (Nickoloff BJ, 1991). Los capilares son anómalos, de tipo arterial, con abundantes fenestraciones en su pared, y siguen trayectos tortuosos, perpendiculares a la epidermis. En su interior los hematíes forman hileras que denominamos "en pilas de monedas" y puede verse extravasación hemática (Ackerman AB, 1991). El endotelio vascular llega a contactar directamente con la epidermis, lo cual, junto con el adelgazamiento suprapapilar de la misma explican la fragilidad cutánea y el signo de Auspitz. En este momento aparece un fenómeno típico de la psoriasis, la "exudación cística papilar" por el que los neutrófilos son atraídos desde los capilares hasta la epidermis, probablemente por influencia de la interleucina 8 (Larse CG, 1989). Su migración a través de la epidermis es muy rápida, por lo que en muchos casos sólo se ven cuando han llegado a la capa córnea dando lugar a los microabscesos de Munro. Si este goteo papilar es muy intenso, los PMN pueden formar acúmulos intraepidérmicos que se conocen como pústula espongiiforme de Kogoj, de pequeño tamaño, aunque pueden formarse pústulas mayores en la psoriasis pustulosa (Lever WF, 1990). El edema que se había formado en las papilas dérmicas puede expulsarse a través de la epidermis y verse en forma de pequeños acúmulos de plasma en la capa córnea, lo que nunca es tan evidente como en el eccema (Ackerman AB, 1984).

Mientras tanto, la epidermis va adquiriendo el aspecto típico de hiperplasia psoriasiforme y alrededor del plexo vascular superficial pueden verse algunos linfocitos, que en esta fase son habitualmente tipo CD4 (Nikaien A, 1991).

Cuando las lesiones de psoriasis entran en involución la cornificación

normal tiende a recuperarse y va desapareciendo la paraqueratosis, aunque persiste durante un tiempo una moderada hiperqueratosis ortoqueratósica; la epidermis se adelgaza y va aumentando el grosor del área suprapapilar. Los capilares tortuosos persisten hasta la curación de las lesiones, lo que se acompaña de fibrosis papilar e infiltrado linfohistiocitario con melanófagos, como resultado de la lesión celular (Ackerman, 1984; Ackerman 1991).

La progresión de los cambios mencionados puede verse al estudiar lesiones de psoriasis en diferentes estadios de evolución:

a) **Lesiones iniciales:** Para algunos autores, en las lesiones en forma de máculas puntiformes, los cambios epidérmicos son mínimos aunque ya se observa un infiltrado inflamatorio. En ocasiones se ha detectado en dicho infiltrado un predominio de polimorfonucleares (Chowaniek O, 1981; Jablonska S, 1982), mientras que para otros autores predominan las células linfomononucleares (Braun-Falco O, 1977; Ragaz A, 1979; Braun-Falco O, 1982; Ackerman AB, 1984). En las lesiones iniciales de psoriasis en gotas (Brody I, 1984; Brody I, 1984) las primeras alteraciones parecen ser la degranulación de los mastocitos, los cambios en las vénulas postcapilares de la dermis papilar (fenestraciones e hipertrofia endotelial) y la aparición de espongirosis focal en la epidermis suprayacente. El infiltrado dérmico y la exocitosis de células mononucleares aparecen a partir del 2º día, apareciendo poco después un infiltrado inflamatorio linfomonocítico, con escasos PMN, la hiperplasia epidérmica y la migración de PMN para formar los microabscesos de Munro en las áreas de paraqueratosis de la capa córnea.

También se han estudiado las lesiones iniciales que aparecen al suspender la aplicación de corticoides potentes bajo cura oclusiva (Schubert C, 1985). En este caso los cambios más precoces se observan en las

vénulas postcapilares de la dermis papilar, que presentan proliferación endotelial y fenestraciones, y aumento en el número de mastocitos, que muestran signos de degranulación. Al cabo de algunas horas aparecen macrófagos activados, que, en este modelo experimental, son el primer tipo de células que emigran hacia la dermis. En las capas medias de la epidermis se aprecia edema intercelular y desaparición de los tonofilamentos de los desmosomas, sin que se produzcan alteraciones en la unión dermoepidérmica. Poco después se produce la exocitosis de polimorfonucleares y macrófagos.

b) **Lesiones establecidas:** En las lesiones estables de psoriasis en gotas (Schaumburg-Lever G, 1985) ya se pueden observar la mayoría de las características típicas de la psoriasis: hiperplasia epidérmica "psoriasiforme", hiperqueratosis con paraqueratosis confluyente, capilares tortuosos y dilatados rodeados de infiltrado linfomonocitario y migración intermitente de PMN desde los mismos hacia las zonas de paraqueratosis de la epidermis, donde forman los microabscesos de Munro. En zonas donde la exocitosis es muy intensa, el acúmulo de PMN se produce en el interior de la capa espinosa, dando lugar a las pústulas espongiiformes de Kogoj.

Los mismos cambios se pueden observar en el borde de las lesiones de psoriasis en placas estables (Ackerman AB, 1978; Schaumburg-Lever G, 1985; Lever WF, 1991). El alargamiento de las crestas interpapilares da lugar a la hiperplasia psoriasiforme que ya hemos comentado, con aumento del número de mitosis en las 2-3 capas inferiores. Las papilas dérmicas contienen capilares dilatados y tortuosos con un escaso infiltrado perivascular de células mononucleares aunque en el mismo pueden detectarse algunos neutrófilos especialmente en las fases de exacerbación de la enfermedad. La capa espinosa de Malpighio está adelgazada y sus células presentan un

citoplasma claro a causa del edema intracelular. Por debajo de las áreas de paraqueratosis pueden verse acúmulos de PMN formando microabscesos, mientras que las pústulas espongiiformes de Kogoj son más raras. En la capa córnea se detecta paraqueratosis confluyente, por debajo de la cual no se observa capa granulosa, alternando con focos aislados de ortoqueratosis. En las zonas de paraqueratosis se localizan los microabscesos de Munro (van de Kerkhof PCM, 1987), caracterizados por acúmulos de PMN degenerados. Cuando las lesiones se cronifican se reduce el número de microabscesos y el grado de paraqueratosis.

En resumen, los principales hallazgos histopatológicos son una hiperproliferación epidérmica y un infiltrado linfomonocítico dérmico, lo que ha llevado a postular 2 hipótesis:

1) En la psoriasis, el defecto básico consiste en una **alteración intrínseca de los queratinocitos**, determinada genéticamente. Los cambios dérmicos, tanto en el infiltrado como en la vascularización, son secundarios a la liberación de mediadores por el queratinocito. Los inmunocitos son atraídos hacia la epidermis por factores quimiotácticos y moléculas de adhesión derivados de los queratinocitos y los tratamientos actuarían frenando la actividad mitótica de las células epidérmicas (Cormane RH, 1981; Krueger G, 1984; Nickoloff BJ, 1991).

2) La psoriasis se produce por una **alteración de los mecanismos inmunes**. La hiperproliferación epidérmica es secundaria al efecto de linfoquinas secretadas por las células T CD4+ u otros inmunocitos y los tratamientos actuarían como inmunomoduladores (teoría inmune) (Valdimarsson H, 1986; Gottlieb AB, 1988; Bos JD, 1988; Baadsgaard O, 1990).

Con el fin de esclarecer si se produce en primer lugar la activación y proliferación epidérmica o la de las células del infiltrado, se han estudiado lesiones incipientes y los bordes de lesiones en crecimiento obteniéndose

resultados contrapuestos. Los defensores de la primera hipótesis, estudiando lesiones incipientes, han observado que los cambios más precoces se detectan en la epidermis (Christophers E, 1970), mientras que los que defienden el papel de las células inmunes los han detectado en la dermis (Chowaniec O, 1982; Braun-Falco O, 1984; Heng MCY, 1985; Placek W, 1988; Haftek M, 1989). Tampoco hay acuerdo a nivel de los bordes de las lesiones de psoriasis en crecimiento. Mientras unos han detectado que el cambio más periférico es el infiltrado mononuclear (Christofers E, 1970; van de Kerkhof PCM, 1983; de Mare S, 1990), por fuera del inicio de la acantosis, otros han comprobado que los cambios morfológicos epidérmicos son más periféricos que el infiltrado dérmico (Braun-Falco O, 1971).

En el desarrollo de la presente tesis hemos intentado determinar si la alteración básica en la psoriasis se produce a nivel del queratinocito o bien a nivel de los inmunocitos dérmicos estudiando biopsias de psoriasis en cuña que incluyen piel sana. En la parte teórica de la misma comentaremos en primer lugar las características del sistema inmune cutáneo, posteriormente los fundamentos de la teoría inmune en la patogénesis de la psoriasis, luego las características del queratinocito psoriásico, tanto respecto a su hiperproliferación como a sus características inmunológicas, el papel de la célula de Langerhans, del dendrocito dérmico y de la vascularización, comentando el papel de la célula endotelial en la captación de leucocitos hacia el foco de psoriasis, y, finalmente, comentaremos las citocinas que han sido implicadas en la patogenia de la psoriasis y el papel de diferentes tratamientos, en especial la Ciclosporina A, como inmunomoduladores. En la parte experimental estudiaremos por una parte las características inmunes del infiltrado dérmico, determinando mediante técnicas de inmunohistoquímica las subpoblaciones celulares que componen dicho infiltrado (con

marcadores linfocitarios y de macrófagos), la expresión en superficie de moléculas de activación celular y de adhesión por dichos inmunocitos y si existe proliferación de los mismos. Por otra parte estudiaremos la expresión de moléculas de adhesión y de activación por parte de los queratinocitos y, su grado de proliferación. Finalmente y mediante una técnica inmunohistoquímica de doble tinción intentaremos determinar las características de los inmunocitos en fase de proliferación y si existe yuxtaposición de queratinocitos proliferante con células inmunes.

Los resultados obtenidos los compararemos con los de una dermatosis inflamatoria de probable etiología inmune, como es el liquen plano, y con otra dermatosis clínica e histológicamente similar como es la neurodermitis (perteneciente al ámbito de la dermatitis atópica).

3. EL SISTEMA INMUNE CUTANEO

La piel, por su localización en la interfase del huésped con el medio externo, está constantemente expuesta a una gran variedad de agentes ambientales potencialmente peligrosos, incluyendo las bacterias. Por ello es la principal barrera frente al mundo exterior y se ha constituido como un sistema de defensa muy eficaz frente a cualquier agresión externa. Anteriormente se creía que era únicamente una barrera mecánica pasiva, pero se ha visto que interviene activamente en el sistema inmune, como puso de manifiesto Streilein (Streilein JW, 1983), no tan sólo por contener elementos del mismo, sino porque los propios constituyentes de la piel participan en las reacciones inflamatorias e inmunes. Las propias células de la piel interactúan entre sí y con las del sistema inmune ya directamente o bien por medio de sustancias solubles o citocinas (Shimada S, 1988; Demarchez M, 1991). El término SALT (Skin-Associated-Lymphoid-Tissues) se aplica a esta región de especial influencia inmunológica, equipada con capacidades esenciales y únicas para aceptar el reto de los Ag cutáneos.

a. COMPOSICION CELULAR

Forman parte del sistema inmune cutáneo (SIC o SALT): 1) los queratinocitos, capaces de producir citocinas inmunomoduladoras como la IL-1, 2) un subtipo de linfocitos T recirculantes que comparten un receptor cutáneo de "homing" específico, los macrófagos dérmicos y células dendríticas epidérmicas Th1+ CD3+ TCR $\gamma\delta$ +, 4) las células de Langerhans, células presentadoras de Ag de características únicas, y 5) vénulas endoteliales post-capilares capaces de expresar una adhesina cutánea específica (Streilein JW, 1989; Tigelaar RE, 1990) como comentaremos.

a1. Los queratinocitos.

Son el esqueleto de la epidermis ya que representan un 95% de sus células. Recientemente se ha demostrado que participan activamente en la defensa inmune del organismo. Son capaces de secretar múltiples citocinas y de expresar Ag de clase II (HLA-DR) en determinadas dermatosis (Psoriasis, Liquen Plano, Micosis Fungoide, Reacción Injerto Contra Huesped, Lupus Eritematoso, y reacciones de hipersensibilidad retardada), por lo que son capaces de amplificar la respuesta inmune. Dicha expresión es inducida por el IFN- γ , ya que se ha comprobado *in vitro*, que los queratinocitos expresan HLA-DR en superficie al ser incubados con IFN- γ , e, *in vivo*, se ha detectado la expresión de dicho Ag de clase II en la membrana plasmática de los queratinocitos tras la inyección intradérmica de IFN- γ (Kaplan G, 1987). En situaciones patológicas la presencia de HLA-DR sobre los queratinocitos es más evidente en las zonas de mayor infiltración por linfocitos T (Barker JNWN, 1987; Shiohara T, 1988), y se cree que también está inducida por la secreción de IFN- γ por parte de dichos linfocitos T activados. No está claro si dicha expresión es sólo un epifenómeno o bien tiene importancia en la reacción inmune. Varios estudios recientes demuestran que la expresión de HLA-DR por los queratinocitos podría tener una importancia funcional en el momento del reconocimiento de un Ag alogénico por los linfocitos T activados (Nickoloff BJ, 1988). Asimismo se ha visto que los queratinocitos tratados con IFN- γ pueden servir de blanco a los linfocitos Tc (Morhenn VB, 1987), lo cual pudiera tener relación con la expresión de HLA-DR. El IFN- γ , además, es capaz de inducir la expresión de ICAM-1 en la superficie de los queratinocitos (Nickoloff BJ, 1988). Las células mononucleares circulantes se adhieren a los queratinocitos tratados con IFN- γ (y no a los no tratados) por medio de la LFA-1, ligando específico de la molécula ICAM-1, expresada por las células mononucleares. Esta adhesión es bloqueada por anticuerpos

anti-LFA-1 y no por anti-LFA-2 ni por anti-LFA-3. Las células que se unen a los queratinocitos tratados con IFN- γ son los linfocitos Th y esto es lo que explicaría que determinados tipos de linfocitos se acumulen en la piel en las reacciones inflamatorias e inmunes. Otra propiedad importante de los queratinocitos en el sistema inmune cutáneo es su capacidad de secretar determinadas citocinas (IL-1, IL-3, IL-6, IL-8 y GM-CSF), como comentaremos posteriormente.

a2. Los linfocitos T cutáneos.

Algunas células T circulantes infiltran la piel sana y permanecen allí de forma indefinida, localizándose especialmente alrededor del plexo venoso superficial siendo raras a nivel de la epidermis.

Para que estos linfocitos T se activen a nivel de la epidermis se precisan 2 señales. Una, que puede ser transmitida por las células de Langerhans, es la presentación de un Ag asociado a glucoproteínas de clase II del CMH. Una vez establecido el contacto celular, la 2ª señal puede ser la inducida por la IL-1 secretada por las células de Langerhans o por los queratinocitos. En presencia de estas 2 señales los linfocitos Th, directores de la respuesta inmune, producen una serie de sustancias que activan al resto de células inmunitarias. La principal es la IL-2, factor de crecimiento autocrino que, al interactuar con un receptor de membrana de alta afinidad de la propia célula T, induce su proliferación y la formación de una clona de células específicas contra el Ag (Demarchez M, 1991).

En el ratón se han descrito 2 poblaciones de linfocitos Th, denominados Th1 y Th2, que pueden ser distinguidos en función del tipo de citocinas secretadas en respuesta al estímulo antigénico (Mossman TR, 1986). Los linfocitos Th1 secretan interleucina-2 e IFN- γ , mientras que los Th2 secretan IL-4 e IL-5. Ambos son capaces de producir IL-3 y GM-CSF. Los linfocitos Th2

no son activables por IL-2 exógena ya que dependen de la IL-1 para responder a su factor de crecimiento autocrino, mientras que los linfocitos Th1 son capaces de responder a la IL-2 en ausencia de IL-1. También son diferentes a nivel funcional. Los linfocitos Th1 (Mosmann TR, 1986), células T inflamatorias, intervendrían en las reacciones de hipersensibilidad retardada (*in vivo*) y en las reacciones de inmunidad celular y en la citotoxicidad celular (*in vitro*), (Diamanstein T, 1988; Fong TA, 1989), e inhibirían la respuesta humoral (Del Prete GF, 1991), mientras que los Th2, células T de regulación, tendrían una función auxiliar en la secreción de Ig (Stevens TL, 1988). Aunque no está completamente demostrado, existen múltiples evidencias sobre la existencia de estas 2 subpoblaciones en el hombre. Se ha detectado que las células de Sezary producen elevadas cantidades de IL-4 e IL-5 y cantidades reducidas de IL-2 y de IFN- γ (Vowels BR, 1992) patrón similar al de los linfocitos Th2 de los ratones, por lo que se ha propuesto que el linfocito maligno del linfoma cutáneo de células T sea análogo a la célula Th2 murina (Rook AH, 1993). También se ha observado en biopsias de psoriasis un patrón de interleucinas correspondiente a células Th1 (Uyemura K, 1993; Schlaak JF, 1994): aumento de IL-2, IFN- γ y TNF- α , sin que se detecten citocinas tipo 2 (IL-4, IL-5 ni IL-10). Las células T específicas para micobacterias (Haanen JBAG, 1991), *Borrelia Burgdorferi* (Yssel H, 1991), *Yersinia enterocolitica* (Schlaak J, 1992), *Yersinia pseudotuberculosis*, *Salmonella*, *Morganella*, *E. Coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Shigella*, *Chlamydia* y las que reaccionan con alérgenos de contacto como los iones de níquel (Kapsenberg ML, 1992), producen IFN- γ e IL-2 y no sintetizan IL-4, por lo que pertenecen a este subgrupo. Por el contrario, las células T específicas para alérgenos (Wierenga EA, 1991), o *Toxocara canis* (Del Prete GF, 1991) no producen apenas IFN- γ y sí grandes cantidades de IL-4 y pertenecen al subtipo Th2. Las células Th2 se asocian a la inmunidad humoral y a un aumento de la síntesis de IgE y a

este subgrupo pertenecen las células T detectadas en la dermatitis atópica (Wierenga EA, 1991). Estas células inhiben algunas de las reacciones de inmunidad celular tales como la de lisis intracelular (Schlaak J, 1992; Gazzinelli RT, 1992), la producción de monocinas (Del Prete GF, 1991) y de citocinas por las células Th1 (Fiorentino DF, 1989) al tiempo que cooperan con las funciones de las células B por medio de las citocinas IL-4 e IL-10 (Rothermel AL, 1991; Rousset F, 1992). Las células que producen tanto IFN- γ como IL-4 se denominan Th0 y su relevancia no está bien determinada.

a3. El sistema mononuclear-fagocítico

Existen pocos estudios sobre los mecanismos y los componentes celulares de la fase inicial de la respuesta inmune. En esta fase es crucial la presencia de células presentadoras de Ag (CPA) móviles, como los linfocitos B, los macrófagos y la familia de las células dendríticas (CD). Esta familia de células derivadas de la médula ósea ha despertado un creciente interés, dada su elevada capacidad de iniciar la respuesta inmune, su papel en la infección por VIH y su respuesta frente a Ag tumorales (Nestle FO, 1994).

En los últimos años ha aumentado nuestro conocimiento acerca del sistema mononuclear-fagocítico. Al principio se conocían únicamente los macrófagos. Según el concepto clásico, basado en las investigaciones de Metchnikoff, la única función de los macrófagos era la captación y destrucción de material extraño. Los estudios posteriores han revelado muchas propiedades adicionales, tales como la producción de mediadores y linfocinas, además de la presentación del Ag a las células T (Unanue ER, 1987; Johnston RB, 1988; Johnson E, 1988). Tal como se conoce hoy en día, el sistema mononuclear-fagocítico está formado por una población celular heterogénea en base a su localización (Biondi A, 1984), estado de maduración o activación (Zwadlo G, 1987) y función (Ayernick DG, 1983). Teniendo en

cuenta estas variables se han distinguido 2 líneas celulares, la línea monocito-macrofágica y la línea de las células dendríticas (CD). La familia de las CD está formada por las células reticulares interdigitadas y las células reticulares dendríticas en los ganglios linfáticos, las células de Langerhans y los dendrocitos dérmicos en la piel y los leucocitos dendríticos intersticiales.

Las CD (Pimpinelli N, 1994; Nestle FO, 1994), anteriormente denominadas leucocitos dendríticos o dendrocitos, representan una población de células no linfoides que pertenecen a la familia de las CPA. Se localizan en las áreas T de los tejidos linfoides y en las zonas barrera de penetración de Ag externos (piel, vías respiratorias y aparato digestivo). Sus principales características definitorias son: 1) origen común medular, 2) ausencia de marcadores de superficie de célula T, B o NK, 3) morfología de célula dendrítica, 4) Expresión constitutiva de Ag de clase II del CMH y capacidad funcional de iniciar la respuesta inmune primaria *in vitro* e *in vivo* (al menos unas 20 veces mayor que las otras CPA, proporcionada por una elevada eficacia en la función de presentación de Ag) y 5) falta de adherencia al plástico. No se ha detectado hasta la fecha un marcador de superficie específico para las CD, aunque parece que forman un grupo heterogéneo de células centinelas residentes en los tejidos que se activan adoptando características funcionales y morfológicas comunes, en relación con la movilidad y el *homing* linfocítico. Aunque representan menos del 0.1% de la población celular en la sangre o en los tejidos, son capaces de ampliar la respuesta inmune por su potente capacidad de célula accesoria y de CPA.

Tras el contacto con el Ag, las CPA viajan a través de los linfáticos aferentes o por vía sanguínea hasta las zonas linfoides T (ganglios y bazo), donde presentan el péptido antigénico sobre la molécula de clase II del CMH a los linfocitos T *naïf* o en reposo portadores del correspondiente receptor de superficie. Esto da lugar a la expansión clonal de una

determinada subpoblación de células T sensibilizadas a dicho Ag, tras la secreción de IL-2. Para que la estimulación de dichas células T *naif* se produzca se requieren 3 pasos: 1º) Una unión independiente de Ag, entre la CPA y la célula T mediada por moléculas de adhesión (LFA-1, ICAM-1 y 2 y LFA-3), 2º) la presentación del Ag peptídico sobre la molécula clase II del CMH al linfocito con el TCR apropiado y 3º) la transducción de una señal coestimuladora a la célula T, para lo cual parece que son necesarias la molécula B7 y su ligando sobre la célula T, el CD28 (June CH, 1990). La CPA más apropiada parece ser la CD, ya que posee todas las anteriores moléculas de superficie en cantidades elevadas (Freudenthal PS, 1990).

A nivel de la piel normal se ha detectado una elevada densidad de estas células dendríticas, especialmente a nivel de la dermis alta, (Weber-Matthiesen K, 1990), lo que resalta su importancia para la integridad cutánea.

Al principio se consideró que las células elongadas y fusiformes de la dermis eran únicamente fibroblastos, cuya función era la síntesis de colágeno y elastina. Headington en 1986 (Headington JT, 1986) descubrió que una proporción sustancial de las células intersticiales dérmicas tenían morfología dendrítica y estaban más relacionadas con el sistema monocito-macrófago derivado de la médula ósea que con los fibroblastos derivados del mesénquima. Poco después se comprobó que se teñían con un anticuerpo policlonal contra el factor XIIIa, factor de la coagulación con actividad transglutaminasa que estabiliza el coágulo de fibrina (Cerio R, 1989), y fueron designados **dendrocitos dérmicos (DD)**. El DD es una célula fija del tejido conectivo, dendrítica o a veces fusiforme, con capacidad fagocítica, localizada en la dermis de la piel normal (Nickoloff BJ, 1989), especialmente en la vecindad del plexo venoso subpapilar. También se han observado alrededor de los vasos de la dermis reticular y del tejido subcutáneo. Su nº

es más elevado en la piel neonatal y fetal, en la piel con daño actínico y en determinadas dermatosis así como en áreas de angiogénesis (Arrese-Estrada J, 1990). Su fenotipo es controvertido aunque es considerada una subpoblación de los macrófagos CD68+. La mayoría de autores aceptan que se caracteriza por la expresión de múltiples antígenos de superficie como el HLA-DR y -DQ, LFA-1/CD11a, CD14, CD4, CD34, CD36, Ki-M7 (Adani R, 1987; Cerio R, 1989). También es la única célula inmune que expresa de forma constitutiva la molécula B7 (Symington FW, 1993), muy importante en la activación de las células T. No expresa CD1a ni tampoco marcadores vasculares como la lectina *Ulex Europeus*. También puede detectarse mediante reacciones enzimáticas como la de la ATPasa, NADasa, fosfatasa ácida, estearasa inespecífica, lisozima, antitripsina y antiquimiotripsina (Headington JT, 1986; Nemes Z, 1988; Nickoloff BJ, 1991), comunes a todas las células presentadoras de antígenos de la línea monocito-macrofágica, aunque, como hemos comentado antes, su marcador más característico es la expresión citoplásmica de la subunidad α del factor XIII (FXIIIa) (Adany R, 1987). El FXIIIa se ha detectado además en las plaquetas y en los megacariocitos, y en los monocitos, los macrófagos, las células de los ganglios linfáticos y del tejido conectivo. De acuerdo con su origen medular, todas las células dérmicas FXIIIa positivas también expresan CD45, el marcador de la médula ósea (Cerio R, 1989). Por definición, no debe presentar gránulos de Birbeck al microscopio electrónico, ya que éstos son exclusivos de la célula de Langerhans. El DD también parece intervenir en la homeostasis cutánea y en la curación de las heridas.

Los DD son células inmunocompetentes que actúan como células efectoras en el brazo aferente de la respuesta inmune. Al parecer son capaces de presentar Ag e inducir una reacción de hipersensibilidad retardada incluso en ausencia de células de Langerhans (Streinlein JW, 1989; Tse

H, 1990). Al mismo tiempo poseen capacidad fagocítica y pueden reconocerse en forma de melanófagos en la dermis o bien conteniendo otros pigmentos o hierro. Probablemente son las células que originan el dermatofibroma y el fibroxantoma (Reid MB, 1986; Nemes Z, 1988) y se han detectado también en dermatosis inflamatorias, como la psoriasis (donde se localizan en áreas de expresión de TNF- α e IL-8) (Nickoloff BJ, 1991) o el eczema, donde expresan otro marcador de la inflamación como es la ICAM-1 (Cerio R, 1989). En las lesiones cutáneas del sarcoma de Kaposi se han detectado restos de HIV-1 en los dendrocitos dérmicos (Nickoloff BJ, 1989), por lo que podría representar un reservorio del virus, como sucede con la CD del ganglio linfático.

El DD podría ser una célula precursora de la CL, reclutada del torrente circulatorio y en tránsito hacia la epidermis o una CL que haya dejado la epidermis y se dirija hacia los ganglios de drenaje o bien tratarse de una célula centinela diferente, que reside en los tejidos, y, que dado su localización estratégica entre los queratinocitos y las células endoteliales, facilita la respuesta inmune, ya sea originada en Ag externos o bien en Ag derivados del torrente circulatorio.

Los **macrófagos** (Cline MJ, 1978) derivan de una célula precursora de la médula ósea, que se convierte en monocitos en la sangre y migra a la dermis donde se diferencian. Son difíciles de distinguir de los fibroblastos si no contienen lisosomas ni vacuolas fagocíticas, ya que ambas células poseen un retículo endoplásmico rugoso y un aparato de Golgi bien diferenciados, filamentos intermedios en el citoplasma y se localizan en zonas similares en la piel. Expresan marcadores antigénicos y enzimáticos característicos de los macrófagos (RFD7, KiM8 y RFDR) (Janossy G, 1986) y otros comunes a los macrófagos tisulares como las células de Langerhans y los dendrocitos dérmicos. Tienen gran nº de funciones en la piel. Son fagocitos,



procesan y presentan Ag a las células T inmunocompetentes, son microbicidas (gracias a la producción de lisozima, peróxido y superóxido), tumoricidas y son secretoras de factores de crecimiento, citocinas y otras moléculas inmunomoduladoras e intervienen en la coagulación, la aterogénesis, la curación de las heridas y la remodelación tisular (Lasser A, 1985).

a4. Las Células de Langerhans.

Descritas por Paul Langerhans en 1868, en su época de estudiante, son células dendríticas que representan un 2-4% de la población celular epidérmica y se localizan a nivel suprabasal. Es probablemente la CD mejor conocida y estudiada de todo el organismo. Pueden detectarse mediante la técnica inmunohistoquímica de la ATPasa y al microscopio electrónico se caracterizan por su citoplasma claro, sin tonofilamentos ni melanosomas, y por poseer una organela citoplasmática típica en forma de raqueta o de bastón (gránulo de Birbeck) (en sentido estricto sólo las células con gránulos de Birbeck pueden ser consideradas células de Langerhans), núcleo lobulado y ausencia de desmosomas. Proviene de la médula ósea y expresan en superficie los antígenos CD45, común a todas las células hematopoyéticas, CD1, CD4, que también expresan los linfocitos Th (Groh V, 1986), y marcadores fundamentales para la captación y el procesamiento de Ag, como los característicos del sistema monocito-macrófago (receptores para el fragmento Fc de la IgG, receptores para complemento y para antígenos de histocompatibilidad de clase II -denominados HLA-D-). Recientemente se ha comprobado que cultivos epidérmicos enriquecidos con células de Langerhans producen ARNm que codifica para el receptor de M-CSF. También son portadoras de moléculas de superficie que intervienen en la adhesión o migración celular, tales como la H-MAC1 (CD11a/CD18) o la gp 150,95 (CD11b/CD18), que pertenecen a las integrinas (de Panfilis G, 1989), o la

ICAM-1, que pertenece a superfamilia de las inmunoglobulinas (de Panfilis G, 1990). Sólo alcanzan su madurez completa al alcanzar la epidermis (Bani D, 1989), cuando desarrollan los gránulos de Birbeck.

Las células de Langerhans son muy móviles, pueden modificar su nº rápidamente, captar Ag que penetran en la epidermis y transportarlos, a través de los linfáticos dérmicos, a los ganglios regionales para allí entrar en contacto con las células mononucleares linfoides. Tras su expansión clonal, éstas células T sensibilizadas, están disponibles para migrar hacia donde se produzca una nueva exposición al Ag. La célula de Langerhans es una célula presentadora de Ag, como los macrófagos, y desde mediados de los 70 (Silberberg I, 1976) se sabe que interviene en la inducción de la hipersensibilidad de contacto. La aplicación tópica de un hapteno sobre una región cutánea desprovista natural o artificialmente de células de Langerhans provoca un estado de tolerancia. Cuando se unen a un hapteno son capaces de activar *in vitro* a linfocitos no sensibilizados (Hauser C, 1988). Si éstos se inyectan por vía i.v. a ratones "inocentes" hace que se sensibilicen contra dicho hapteno. Por otra parte, las células de Langerhans que no están unidas a un Ag son capaces de inducir la producción de Linfocitos Tc contra complejos antigénicos presentes sobre células normalmente incapaces de inducir tal activación por ellas mismas (Steiner G, 1985). Pueden por tanto jugar el papel de células auxiliares permitiendo adoptar la función de presentación del Ag a células que no tienen dicha capacidad por ellas mismas.

Las células de Langerhans juegan un papel primordial en las reacciones de rechazo de injertos de piel. Los aloinjertos pobres en células de Langerhans inducen más raramente una reacción de rechazo (Claas FHJ, 1985). Recientemente se ha comprobado que un nº tan bajo como 10 células de Langerhans son capaces de activar a Linfocitos T aloespecíficos

mientras que se necesitan más de 10000 queratinocitos para inducir el mismo resultado (McKinney EC, 1989).

Por todo ello la célula de Langerhans es considerada una célula centinela en la frontera de la entrada de Ag a nivel de la piel, con capacidad de moverse hacia los ganglios de drenaje, y también como una célula accesoria, al haberse detectado recientemente la presencia en superficie de la molécula co-estimuladora B7 (Symington FW, 1993) y la capacidad de secretar citocinas cruciales en las respuestas inflamatoria e inmune como es la MIP-1 α y la IL-1 β (Heufler C, 1992; Schreiber S, 1992).

b. CITOCINAS

Denominamos citocinas a mediadores solubles que actúan como mensajeros entre células vecinas e intervienen en procesos inmunes e inflamatorios y son secretadas especialmente por los inmunocitos. A nivel cutáneo las citocinas son liberadas por linfocitos, células del sistema mononuclear-fagocítico (macrófagos, dendrocitos dérmicos y células de Langerhans), aunque también los queratinocitos y, en menor medida, los fibroblastos, son una importante fuente en la secreción de estas moléculas. Los queratinocitos son capaces de secretar interleucinas (IL-1, 3, 6 y 8), interferones, factores estimuladores de colonias (GM-CSF, G-CSF), citotoxinas (TNF- α y TNF- β) y factores supresores (Mizel SB, 1989).

Comentaremos en primer lugar las **interleucinas**. La primera detectada a nivel cutáneo, denominada ETAF (factor activador de timocitos derivado de células epidérmicas), fue descrita en 1981 aunque posteriormente se comprobó que coincidía funcional y estructuralmente con la IL-1 (Luger TA, 1982). La IL-1 comprende una familia de polipéptidos que inducen un gran nº de efectos biológicos y es sintetizada por múltiples células entre las que se incluyen los queratinocitos. Los queratinocitos poseen RNAm para 2

tipos de IL-1, la α y la β , -codificadas por 2 genes diferentes-, que sólo poseen un 26% de identidad en su composición de aminoácidos. Se sintetizan como un precursor de 21 kD. Ambas se unen al mismo receptor, el receptor de la IL-1, con la misma afinidad y producen efectos biológicos muy similares. *In vivo*, la epidermis (especialmente la capa córnea), parece ser un importante reservorio de IL-1 (Schmitt A, 1986; Didierjean L, 1989), que probablemente proviene del sudor. Los queratinocitos secretan sobre todo IL-1 α y los monocitos IL-1 β . Los queratinocitos además pueden expresar receptor de IL-1, por lo que la secreción de dicha interleucina puede actuar como factor de crecimiento autocrino, estimulando la proliferación de los propios queratinocitos. La IL-1 es además quimioattractante de linfocitos, juega un papel fundamental en la activación de los linfocitos Th, e induce la secreción de otras citocinas (IL-3, GM-CSF, e IL-6), implicadas en la respuesta inmune, el crecimiento y la diferenciación celular. Un aumento de la secreción de IL-1 por los queratinocitos en una enfermedad, como p.e. el linfoma, podría inducir una activación crónica de los linfocitos conduciendo a su transformación maligna.

La **IL-3** (multi-CSF) secretada por los queratinocitos (Luger TA, 1985) es una glucoproteína de 28 kD idéntica a la secretada por los linfocitos T. Por medio de la producción de IL-3 la epidermis podría actuar de forma similar al timo en la diferenciación de las células inmunocompetentes, ya que actúa sobre la célula madre de la médula ósea, sobre los mastocitos y eosinófilos, induciendo su proliferación y diferenciación. También potencia el efecto mitogénico de la IL-2 sobre los linfocitos T. La IL-3 y el GM-CSF coestimulan el crecimiento de los queratinocitos que poseen un receptor de alta afinidad para la IL-3 (Hancock GE, 1986). La IL-3 induce la expresión en superficie del HLA-DR, con lo que permite a las células de la epidermis amplificar la respuesta inmune.

La **IL-6**, glucoproteína de 25 kD, es una citocina pleiotropa que ha recibido diferentes nombres (BCSF2, IFN- α 2, HSF). Es producida por múltiples células: monocitos, células endoteliales, fibroblastos y, en particular, los queratinocitos y las células de Langerhans (Grossman RM, 1989). Se sintetiza en respuesta al estímulo de la IL-1, la IL-3 y de endotoxinas. Posee propiedades similares a las de la IL-1 (inducción de fiebre, estimulación de timocitos y activación y amplificación de la función linfocitaria). Induce la maduración de los linfocitos B dando lugar a células plasmáticas productoras de IgG. La proliferación de algunos linfocitos es dependiente de IL-6 y puede darse en ausencia de IL-2. Al mismo tiempo estimula la diferenciación de linfocitos T citotóxicos en presencia de IL-2, es una multi-CSF y amplifica la acción de la IL-3. Por tanto es un constituyente mayor de la respuesta inflamatoria. Aumenta localmente la defensa cutánea amplificando la acción de la IL-1 y además favorece la acción de la IL-3 sobre la diferenciación de las células madre medulares.

La **IL-8**, también denominada MDNCF (Factor quimiotáctico de monocitos derivado de neutrófilos) se ha purificado a partir de monocitos humanos estimulados. Del mismo modo puede ser sintetizada por linfocitos y células endoteliales. Ultimamente se ha comprobado que hay RNAm de IL-8, en presencia de IL-1 α y TNF- α , en queratinocitos y fibroblastos en cultivo (Larsen CG, 1989). La inyección intradérmica de IL-8 produce los mismos efectos inflamatorios que la de IL-1 α o de TNF- α . Provoca, en el lugar de inyección, un acúmulo de linfocitos y polinucleares cuyo nº depende de la dosis inyectada. En algunos estados de inflamación cutánea, como la psoriasis, la IL-8 podría ser responsable del acúmulo de neutrófilos y linfocitos.

La **IL-2**, la **IL-4** y la **IL-5** no son producidas por los queratinocitos sino por los linfocitos T activados. A veces esta síntesis puede estar inducida por

los queratinocitos. La **IL-2**, factor de crecimiento de los linfocitos T, es una glucoproteína sintetizada y secretada por los linfocitos T activados. Inicia la proliferación de los mismos al unirse a receptores de su superficie, de elevada afinidad (no están presentes en los linfocitos T en reposo). Permite la captación de linfocitos Th para ampliar la respuesta inmune, de linfocitos B para la secreción de Ac específicos contra el Ag, de linfocitos Tc, de células *natural killery* y de células K, que destruirán las células infectadas por el Ag y de linfocitos Ts que regulan la respuesta inmune. La **IL-4** actúa sobre un gran nº de células, en particular sobre los mastocitos, los linfocitos T y B, los macrófagos y las células madre de la médula ósea. Ejerce su actividad biológica al actuar sobre receptores específicos situados en la membrana de las células citadas. Es un factor de crecimiento para los linfocitos T y actúa sobre la proliferación y maduración de los linfocitos B (favoreciendo la síntesis de IgG1 e IgE) (Finkelman FD, 1988). Esta acción está reforzada por la IL-5 y es bloqueada por el IFN- γ . Además la IL-4 es un factor de crecimiento de los mastocitos. Induce la expresión de Ag del CMH y del receptor de baja afinidad para la IgE (CD23). También aumenta la capacidad tumoricida y de presentación de antígenos por los macrófagos y actúa sobre varias líneas celulares hematopoyéticas (Paul WE, 1987). La **IL-5** es un factor de diferenciación de los eosinófilos, y esta acción es amplificada en presencia de IL-1 e IL-3. Actúa también sobre la maduración y la diferenciación de los linfocitos B favoreciendo la síntesis de IgM, IgG e IgA y aumenta algunos efectos inducidos por la IL-4 como son la síntesis de IgE y la expresión del receptor Fc. Además amplifica la acción linfocitaria aumentando el nº de receptores de la IL-2. La IL-4 y la IL-5 parecen jugar un importante papel en las reacciones alérgicas mediadas por la síntesis de IgE.

La **IL-7** es un factor derivado de células del estroma que interviene en fases precoces de la linfopoiesis y actúa como factor de crecimiento de pre-

cursores de las células B pero no sobre células B maduras (Henney CS, 1989). Además es mitogénica para timocitos en reposo y estimula la proliferación de células CD4-8+, CD4+8-. En presencia de una segunda señal parece aumentar la capacidad proliferativa de los linfocitos T maduros, probablemente al inducir la liberación de IL-2 y de su receptor. Además activa los monocitos y puede ser importante en la respuesta antitumoral. Recientemente se ha publicado que parece actuar como factor de proliferación para las células de Sezary (Dalloul A, 1992).

La **IL-9**, derivada de los linfocitos T CD4+ es capaz de mantener el crecimiento de algunas clonas de linfocitos Th, independiente de IL-2 e IL-4, en ausencia de Ag (Uyttenhove C, 1988). Además aumenta la respuesta de algunas líneas de mastocitos a la IL-3 y estimula a los mismos a producir IL-6 (Moeller J, 1990).

La **IL-10** se describió como una nueva citocina producida por los linfocitos Th2 murinos, que inhibía la síntesis de varias citocinas liberadas por clonas de células Th1 (Moore KW, 1990). Parece mediar sus efectos al inhibir la función presentadora de Ag de los macrófagos (Howard M, 1992). Además actúa sobre los mastocitos y es un factor de crecimiento de los linfocitos T.

Por lo que hemos comentado, existe la evidencia de una compleja red de citocinas que interactúan entre sí, y poseen múltiples actividades superpuestas. Entre ellas pueden inducirse o inhibirse y pueden interferir con la expresión de sus receptores, actuando así sobre funciones celulares de forma sinérgica o antagónica. Por ejemplo, la IL-1 puede inducir la liberación de IL-6, IL-8 y TNF- α . La IL-8 al mismo tiempo puede atraer a los neutrófilos que a su vez pueden liberar citocinas, en especial IL-1, lo que da lugar a una activación en cascada que propaga la respuesta inflamatoria o inmune. Por todo ello parece poco probable que una sola citocina sea res-

ponsable de la generación de un proceso. Ahora bien, la interacción de varias citocinas puede conducir a la propagación del mismo aunque también puede activar vías de señales que conduzcan a la inhibición del mismo. La IL-10, producto de los linfocitos Th2, reduce la liberación de linfocinas por los Th1. También parece que algunas células son capaces de producir sustancias agonistas y antagonistas. Los queratinocitos son capaces de producir cantidades elevadas de IL-1 y al mismo tiempo una proteína que compete con la misma para el receptor (Bigler CF, 1992), a la que se ha denominado IL-1ra, la cual puede ser importante en la reducción de las reacciones inflamatorias.

El siguiente grupo de citocinas es el formado por los **factores estimuladores de la formación de colonias**. El primero y más importante de ellos es el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos o **GM-CSF**, glucoproteína de 23 kD sintetizada por los linfocitos, los macrófagos, los fibroblastos y las células endoteliales. También puede ser secretado por los queratinocitos ya que un factor denominado KTGF (factor de crecimiento de las células T derivado de los queratinocitos), se ha visto que es idéntico al GM-CSF de los linfocitos (Kupper TS, 1989). Induce el crecimiento y diferenciación de las células de la médula ósea, los neutrófilos y los macrófagos y amplifica la función de presentación antigénica de las células accesorias, como las células de Langerhans, a las que también favorece su maduración y viabilidad (Witmer-Pack MD, 1987), efecto reforzado por la IL-1. También aumenta, con más intensidad que el IFN- γ , la expresión de HLA-DR en las células accesorias y en los queratinocitos y es un factor de crecimiento de los linfocitos T. Parece jugar un papel esencial en la inmunidad celular.

Otro grupo de citocinas es el formado por los **interferones**, de los que se han descrito 3 tipos: α , β y γ . Los queratinocitos secretan IFN- α en respuesta a la infección por HSV. El IFN- γ es secretado por los linfocitos T,

los monocitos, las células *natural killer* y las células de Langerhans activadas por un alérgeno (Knop J, 1988). Su producción, puesta en marcha por la IL-2, induce la expresión de HLA-DR e ICAM-1 (Griffiths CEM, 1989), en la superficie de los queratinocitos, que así pueden mantener la proliferación de los linfocitos T activados. Parece ser un inmunorregulador ya que regula la producción de Ac por los linfocitos B, moviliza las células *natural killer* y los linfocitos Ts aumentando la expresión de HLA-DR, del receptor de IL-2 y del CD8. También inhibe la proliferación de las células precursoras de la médula ósea inducida por la IL-3 o el GM-CSF y bloquea la proliferación de los queratinocitos.

Finalmente comentaremos el grupo de los **factores de necrosis tumoral** o citotoxinas. El factor de necrosis tumoral secretado por los macrófagos y los DD se denomina **TNF- α** (caquectina) y el secretado por los linfocitos **TNF- β** (linfotóxina) y ambos comparten un espectro similar de actividades biológicas y se unen a receptores comunes (Wakefield PE, 1991) aunque únicamente poseen una homología de un 36% en su composición de aminoácidos. El TNF- α causa necrosis hemorrágica de determinados tumores *in vivo* y es citotóxico para varias líneas celulares tumorales *in vitro*. Además induce caquexia y fiebre, activa granulocitos y macrófagos y estimula la actividad de la colagenasa por los fibroblastos (Cerami A, 1988). También activa las células endoteliales, induce su proliferación, su migración y la expresión de moléculas de superficie (Wakefield PE, 1991). No está claro si los queratinocitos pueden secretar estas citocinas. No se ha detectado RNAm de TNF- α en las células epidérmicas de piel de psoriasis sana ni afecta (Ashworth J, 1989). El TNF- α secretado por los DD es capaz de inducir la expresión de ICAM-1 en los queratinocitos y originar la síntesis de IL-8, con elevada capacidad quimiotáctica para neutrófilos y linfocitos, por lo que podría tratarse de una de las citocinas más importantes en el diálogo entre

queratinocitos e inmunocitos en la psoriasis. Las células de Langerhans activadas por PMA ó LSA también pueden secretar TNF- α el cual tiene una actividad similar a la IL-1.

La epidermis también puede inhibir la respuesta inmune cutánea, mediante la secreción de **factores supresores** como el **ECSF** (factor supresor derivado de células epidérmicas) y el **ELDIF** (factor diferenciador de linfocitos derivado de células epidérmicas) (Nicolas JF, 1987). Este influye en la diferenciación y en la proliferación de los linfocitos T y B, disminuyendo la síntesis de IL-2 por los linfocitos T. El ECSF, detectado en orina, es inhibidor de la IL-1 y bloquea la reacción de hipersensibilidad tipo IV estimulando los linfocitos Ts.

c. MOLECULAS DE ADHESION

Son proteínas, glucoproteínas o lectinas situadas en la superficie celular, que intervienen en las uniones célula-célula o célula-matriz extracelular. Juegan un papel muy importante en la inflamación aguda y crónica, en la curación de las heridas, en las metástasis tumorales, intervienen en múltiples mecanismos inmunes, en la morfogénesis de los tejidos (controlando la migración celular organizada y la fijación de las células a la matriz), en la homeostasis y en la trombosis. Facilitan el intercambio de información entre células, transmitida por citocinas sobre receptores específicos, al mantenerlas estrechamente unidas (Springer TA, 1990; Katz AM, 1991; Puig Ll, 1993).

A nivel cutáneo, las moléculas de adhesión intervienen en el reconocimiento antigénico, en la respuesta inflamatoria, inmune o no, en la morfogénesis de la piel, en la reparación de las heridas cutáneas, en los linfomas cutáneos (Vejlsgaard GL, 1989; Nickoloff BJ, 1989), en la vigilancia inmune frente a neoplasias cutáneas (Clayberger C, 1987; Zetter BR, 1990) y

en la patogenia de diversas infecciones virales (Gregory CD, 1988; Greve JM, 1989), microbianas (Isberg RR, 1990) y parasitarias (Berendt AR, 1989). Probablemente intervienen en la patogenia de las dermatosis inflamatorias, como la psoriasis, el liquen plano, la dermatitis atópica o las vasculitis, ya que se ha comprobado un incremento en la expresión de las mismas (Lisby S, 1989; Petzelbauer P, 1990; Enk A, 1990; Kellner I, 1990; Swerlick RA, 1993)

Las moléculas de adhesión se agrupan en 5 familias según sus semejanzas estructurales:

1) La superfamilia de las inmunoglobulinas, que incluye los receptores específicos para antígeno de los linfocitos T y B.

2) La familia de las integrinas, que intervienen en la regulación de la adhesión y la migración.

3) La familia de las selectinas, que participan en la interacción de linfocitos y neutrófilos con el endotelio vascular.

4) La familia de las cadherinas, que intervienen en la morfogénesis y organización tisular de las células no inmunológicas.

5) La familia de proteínas de unión del cartílago.

c1) Superfamilia de las inmunoglobulinas (tabla I)

Las moléculas que pertenecen a esta familia comparten con las inmunoglobulinas dominios de 90-100 aminoácidos que se disponen en asa y se unen por puentes disulfuro (Springer TA, 1990; Puig LI, 1993). A ella pertenecen receptores linfocitarios de superficie como el CD3/TCR, CD4 y CD8, que intervienen en reacciones inmunes, las moléculas del CMH I y II, las moléculas de adhesión intercelulares 1 y 2 (ICAM-1/CD54 e ICAM-2) (recientemente se ha descrito el ICAM-3, que se expresa en las células hematopoyéticas (Fawcett J, 1992), pero no parece tener significación en la biología cutánea), el antígeno de diferenciación común 2 (CD2/LFA-2), que

actúa como receptor independiente de antígeno y su ligando, la molécula asociada al antígeno de función linfocitaria LFA-3/CD58, la molécula de adhesión de las células vasculares VCAM-1, las moléculas de adhesión de la célula neural NCAM, neurona-glia Ng-CAM y la glucoproteína axonal transitoria TAG-1, además de las moléculas ACAM y MAG. Respecto a su composición de aminoácidos, estas glucoproteínas tienen en común una homología del 20-26% (Katz AM, 1991).

Tabla I. Superfamilia de las inmunoglobulinas

Molécula de adhesión	Ligando	Interacción/Función
ICAM-1	LFA-1	Inmunológica
ICAM-2	LFA-1	Inmunológica
CD2-LFA-2	LFA-3	Inmunológica
LFA-3	CD2, LFA-2	Inmunológica
VCAM-1	VLA-4	Endotelio-linfocito
NCAM	?	Morfogénesis neural
NgCAM	?	Neurona-glia
TAG-1	?	Crecimiento axonal
ACAM	?	Uniones Z Adherens
MAG	?	?

El **CD4** y el **CD8** son receptores de membrana, que actúan como coreceptores para las moléculas de clase II y I del CMH respectivamente. Ambos difunden libremente por la membrana del linfocito hasta que son aproximados al TCR para el reconocimiento conjunto del antígeno, lo cual aumenta la eficacia de la presentación del antígeno, ya que se requieren concentraciones de antígeno 100 veces mayores para inducir una respuesta inmune cuando se bloquean las moléculas CD4 y CD8 con anticuerpos. Son proteínas transmembrana que se unen a dominios intracitoplásmicos del correspondiente CMH y activan una tirosinasa específica de los linfocitos lo que da lugar a la transducción de la señal del reconocimiento antigénico. La asociación de una u otra de estas moléculas al TCR, determina la ulte-

rior diferenciación del timocito hacia linfocitos T *helper* CD4+ ó citotóxico CD8+.

La **ICAM-1** es una glucoproteína de membrana que contiene 5 dominios semejantes a las inmunoglobulinas (Staunton DE, 1990) cuyo Pm es de 76-114 kD según el tipo celular que la expresa y el grado de glucosilación (Dustin ML, 1988). En la piel normal la ICAM-1 es expresada constitutivamente, a niveles bajos, únicamente en las células endoteliales (Griffiths CEM, 1989; Vejlsgaard GL, 1989), lo que origina una firme unión con diferentes leucocitos que expresan la LFA-1, aunque también puede expresarse por algunas células epiteliales y las células de Langerhans. Bajo determinados estímulos como la IL-1, el TNF- α , IFN- γ y los lipopolisacáridos aumenta su expresión en las células endoteliales, tanto *in vivo* como *in vitro*, y puede expresarse en otros tipos de células como los queratinocitos o los fibroblastos. Se ha comprobado, *in vitro*, que los queratinocitos humanos en cultivo expresan en superficie ICAM-1 al añadir TNF- α e IFN- γ pero no al añadir IL-1 (Griffiths CEM, 1989; Norris DA, 1990), siendo dicha expresión mayor a nivel de los queratinocitos basales. La expresión se inicia a las 4 horas con la síntesis de su RNAm y es máxima a las 24 horas. También se ha comprobado, *in vivo*, tras la inyección de IFN- γ e IL-1, que su expresión en las células endoteliales coincide con las áreas de mayor infiltración linfocitaria (Springer TA, 1990). Su principal ligando es la integrina leucocitaria LFA-1, y en la epidermis de varias dermatosis se ha comprobado yuxtaposición de queratinocitos que expresan en superficie ICAM-1 y leucocitos que expresan LFA-1. La ICAM-1 es fundamental en la adhesión del leucocito al endotelio y también es básica en la unión del leucocito al queratinocito. Como comentaremos, en varias dermatosis inflamatorias, como la psoriasis, el liquen plano y la dermatitis atópica, se ha comprobado un aumento de la expresión de ICAM-1 a nivel de los queratinocitos y de las células endoteliales

(Griffiths CEM, 1989; Vejlsgaard GL, 1989), lo que proporciona una evidencia indirecta de la presencia de citocinas primarias (IFN- γ , TNF- α e IL-1) en dichas dermatosis.

Otra de las moléculas de adhesión de este grupo es la **ICAM-2** (Staunton DE, 1989), expresada constitutivamente por las células endoteliales, aunque dicha expresión parece modificarse por citocinas proinflamatorias. Comparte con la ICAM-1 un 35% de su contenido en aminoácidos y el mismo ligando, la LFA-1 (Springer TA, 1990). No se conoce con exactitud su papel en el tráfico cutáneo de leucocitos. Su unión a los leucocitos es más débil que la de la ICAM-1, ya que ésta posee 5 dominios de unión mientras la ICAM-2 sólo posee 2.

El mecanismo de adhesión ICAM-1/LFA-1 se regula por cambios en la avidéz de la ICAM por su ligando. Una vez activado el linfocito, ya sea por la unión del Ag al TCR o tras el estímulo por forbolésteres, la adherencia máxima se consigue a los 10', volviendo al estado basal al cabo de unos 30' (Springer TA, 1990). En dermatosis como el eritema multiforme y el lupus eritematoso, en las que se produce necrosis de queratinocitos, este mecanismo es esencial en la adhesión de las células efectoras citotóxicas con la célula diana (Norris DA, 1990).

El **CD2/LFA-2** es una glucoproteína de 45-50 kD que se expresa en los linfocitos T y algunas células *natural-killer* (NK). Su ligando es la **LFA-3**, una glucoproteína de 55-70 kD que también pertenece a esta familia (Springer TA, 1987). La interacción CD2/LFA-3 es la responsable de la formación de las rosetas de hemafíes. En condiciones normales, el contacto entre las células circulantes se evita gracias a la repulsión que causan las cargas negativas del ácido siálico en el glucocáliz del linfocito. Ahora bien, cuando el linfocito se activa, estas cargas negativas son neutralizadas, lo que permite la interacción CD2/LFA-3 (Springer TA, 1990). Esta interacción da lugar a

la transducción de una señal por parte del CD2 que contribuye al efecto citotóxico de las células NK y potencia la señal del TCR.

La **VCAM-1/IG-11** (Osborn L, 1989) es una glucoproteína de membrana de 60-90 kD expresada por las células endoteliales de forma no constitutiva, que contiene 6 dominios tipo inmunoglobulina y cuyo ligando es la integrina β_1 VL4, que se expresa en los linfocitos en reposo, los eosinófilos, los monocitos y las células derivadas de la cresta neural. La interacción VCAM-1/VL4 interviene en las interacciones leucocito-endotelio (Elices MJ, 1990), lo que permite la captación de leucocitos y su tráfico hacia los lugares de inflamación, y en la unión del endotelio a los eosinófilos (Dobrina A, 1991). La expresión de VCAM-1 endotelial es regulada *in vitro* por la IL-1, el TNF- α y los lipopolisacáridos pero no por el IFN- γ (Wellicome SM, 1990), con una máxima expresión a las 12 horas de la estimulación, por tanto con una cinética similar a la de la ICAM-1, pero diferente de la selectina-E (ELAM-1), inducida también por las mismas citocinas, aunque alcanza su máxima expresión a las 4 horas. Además, la expresión de VCAM-1 persiste mientras que la de la selectina-E (ELAM-1) declina a los niveles normales a las 24 horas a pesar de continuar la estimulación. Recientemente Groves (Groves RW, 1993) ha demostrado que la inyección intradérmica de IFN- γ en piel normal induce la expresión de VCAM-1 por el endotelio dérmico. Esto podría representar una respuesta específica *in vivo* o, más probablemente, un efecto indirecto de la producción secundaria de TNF- α y/o IL-1 en respuesta al IFN- γ . Al principio se creyó que era específica del endotelio pero existe una fuerte evidencia de que es expresada por las células dendríticas perivasculares (Osborn L, 1989; Groves RW, 1990) y quizá por los monocitos. La expresión de VCAM-1 en las células endoteliales activadas depende de una síntesis proteica, y por tanto, como con la selectina-E, su expresión se inicia al cabo de 4 horas de la estimulación (Norton J, 1991). Se ha comprobado la

expresión endotelial de VCAM-1 en varias dermatosis inflamatorias como la psoriasis, la dermatitis alérgica de contacto, la dermatitis atópica, el liquen plano, la enfermedad del injerto contra el huésped y neoplasias cutáneas (Griffiths CEM, 1991; Norris P, 1991; Groves RW, 1993). Curiosamente, a diferencia de la selectina-E, no se produce inducción de VCAM-1 en el eritema solar (Norris P, 1991).

Las moléculas de adhesión de la célula neural **NCAM**, neurona-glia **Ng-CAM** y la glucoproteína axonal transitoria **TAG-1** intervienen en la morfogénesis del tejido neural. La NCAM-1 se expresa de forma constitutiva, como la ICAM-1, en los melanocitos (Furley AJ, 1990), aunque no está aclarado el papel de las moléculas de adhesión en el sistema pigmentario.

c2) Integrinas (tabla II)

Esta familia la componen un gran nº de glucoproteínas transmembrana, denominadas así porque sirven para "integrar" el citoesqueleto con la matriz extracelular y facilitan uniones célula-célula y célula-matriz. Su componente extracelular actúa como receptor de superficie, mientras que el intracelular contacta con el citoesqueleto por lo que intervienen en la transducción de señales (Takada Y, 1987; Kellner I, 1991). La mayoría de integrinas reconocen la secuencia de 3 aminoácidos arginina-lisina-ácido aspártico (secuencia RGD) presente en muchas proteínas de la matriz extracelular como el colágeno tipo I, el fibrinógeno, el factor von Willebrand y otras, aunque mantienen una especificidad de reconocimiento que depende de la conformación espacial de dicho tripeptido en el ligando (Rouslahti E, 1987). Están compuestas de 2 subunidades unidas de forma no covalente denominadas α y β . Las diferentes subfamilias poseen una única cadena β a la que se unen las diferentes subunidades α . Las subunidades α están formadas por una sola cadena de unos 170 kD o bien por dos cadenas de 20 kD y

120-140 kD unidas por puentes disulfuro y las diferencias estructurales en la cadena β son las que permiten la subdivisión de las integrinas en 8 subfamilias: β_1 (CD29), β_2 (CD18), β_3 (CD51), hasta β_8 . Las subfamilias β_1 y especialmente las β_2 son las más importantes en la adhesión del leucocito al endotelio vascular.

Tabla II. Integrinas

Molécula de adhesión	Ligando	Interacción-Función	
β_1	VLA-1	Co I, IV, Lm	Matriz celular
	VLA-2	Co I, IV, Lm, Fn	Matriz celular
	VLA-3	Co I, Fn, Lm	Matriz celular
	VLA-4	Fn, VCAM-1	Matriz celular
	VLA-5	Fn	Matriz celular
	VLA-6	Lm	Matriz celular
β_2	LFA-1	ICAM-1, ICAM-2	Inmunológica
	Mac-1	C3bi, Fbg, FcX	Matriz celular
	p150,95	C3bi	Matriz celular
β_3	PG IIa/IIIa	Fn, Vn, Fbg, Fc vW	Matriz celular
	Rc Vn	Vn, Fbg, Fc vW	Matriz celular
β_4	AEB4 Lm	Fc vW	Matriz celular

Abreviaturas: Co=colágeno, Lm=Laminina, Fn=Fibronectina, Fbg=Fibrinógeno, Vn=Vitronectina, Fc vW=Factor von Willebrand

c2a) Subfamilia β_1 o VLA (very late activation)

Compuesta por 6 miembros denominados **VLA-1** a **VLA-6**, presentes en varios tejidos y células, cuya principal función es la de interactuar con proteínas de la matriz extracelular (laminina, colágeno y fibronectina). Por ello se cree que actúan fundamentalmente en la reparación de las heridas y en la migración celular durante la embriogénesis, además de intervenir en procesos inflamatorios (Takada Y, 1987). La expresión de **VLA-1, 2, 3 y 5** en los leucocitos, tras atravesar la barrera endotelial, parece ser muy importante para controlar su localización en los procesos inflamatorios (Takada Y, 1987; Kupper TS, 1990). Como hemos comentado para la LFA-1, la avidéz de la VLA-4, 5 y 6 por sus ligandos en los linfocitos aumenta tras la activación del TCR (Shimizu Y, 1990). La **VLA-4** se expresa en las células linfomononu-

cleares, sobre todo en los linfocitos T memoria (Picker LJ, 1990), los fibroblastos y otras células derivadas de la cresta neural y actúa como receptor de la matriz extracelular a través de su unión a la fibronectina, y como receptor celular al unirse al VCAM-1 del endotelio. Interviene en las funciones de adhesión y citotóxica de los linfocitos T y en su recirculación (Springer TA, 1990). También se ha observado que la expresión de VLA-3, VLA-5 y VLA-6 está incrementada en los queratinocitos psoriásicos (Kellner I, 1991).

c2b) Subfamilia β_2 o integrinas leucocitarias

Sólo se expresan en células de estirpe linfoide o mieloide (Springer TA, 1987; Hogg M, 1989) y está formada por 3 miembros: la LFA-1, que es el ligando de la ICAM-1 y la ICAM-2, el antígeno de activación macrófagica Mac-1, cuyo ligando es el C3bi, y el p150,95, que también reconoce al C3bi. La principal función de estas moléculas es la adherencia inmune dependiente de la activación del complemento.

La **LFA-1** se expresa en la superficie de todos los leucocitos, y su expresión está muy aumentada en los linfocitos T memoria (Shimizu Y, 1990). Mediante bloqueo con anticuerpos monoclonales se ha demostrado que, a través de su unión a las ICAM, interviene en la citólisis de células alogénicas, xenogénicas, infectadas por virus y modificadas por haptenos, en la proliferación de los linfocitos T en respuesta a antígenos solubles, virus y mitógenos, así como en la respuesta de los linfocitos B frente a diversos antígenos a través de los linfocitos T cooperadores (Springer TA, 1987). También interviene en las interacciones de los leucocitos con el endotelio, lo que regula la migración de los leucocitos hacia el foco inflamatorio.

El **Mac-1** se expresa principalmente en los macrófagos, aunque también se ha detectado en la superficie de los monocitos y los leucocitos polimorfonucleares. Actúa como receptor para el factor C3bi de la cascada

del complemento e interviene en la fagocitosis, por los macrófagos, de las partículas opsonizadas por el C3bi y en la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales posibilitando su marginación y migración extravascular (Hynes RO, 1987; Arnaout MA, 1990).

La **p150,95** tiene una función y distribución celular similar a la del Mac-1. Ambas son muy importantes en la adhesión de las células mieloides a otras células y a ligandos que se hacen insolubles por la activación de la cascada del complemento y la coagulación (Puig LJ, 1993).

La importancia de las integrinas leucocitarias se pone de manifiesto en el déficit congénito de adhesión leucocitaria, de herencia autosómico recesiva, debido a mutaciones en la subunidad común β_2 . Se caracteriza por infecciones necróticas cutaneomucosas, con afectación especial de las vías aéreas, dando lugar a celulitis, abscesos, gangrenas, neumonías y otitis medias de repetición. Los pacientes fallecen durante la infancia, a menos que se realice un trasplante de médula ósea. La ausencia de estas integrinas impide la migración de los leucocitos hacia el foco inflamatorio, lo que facilita la proliferación del microorganismo. También existe un déficit de factores angiogénicos y de crecimiento, producidos normalmente por el infiltrado inflamatorio, lo que conduce a graves trastornos de la cicatrización. Los leucocitos de estos pacientes no expresan ninguna de las 3 integrinas β_2 (LFA-1, Mac-1 y p150,95), no se orientan ni emigran en respuesta a los factores quimiotácticos y son incapaces de unirse al endotelio y de atravesar las paredes vasculares para formar pus en los lugares de infección (Anderson DC, 1987).

2c) Subfamilia β_3 (de citoadhesión) y β_4

La subfamilia β_3 está compuesta por 2 miembros denominados VNR (receptor de vitronectina), expresados por las células endoteliales y la glicoproteína plaquetar IIb/IIIa, que se expresa en las plaquetas. Ambas tie-

nen ligandos y funciones similares a las de las moléculas VLA. El **VNR** se une también al fibrinógeno y al factor von Willebrand, mientras que la **glucoproteína plaquetar IIb/IIIa** se une al fibrinógeno, la fibronectina, el factor von Willebrand y la vitronectina, su presencia es vital para el normal funcionamiento de las plaquetas y su ausencia determina la tromboastenia de Glantzman (Hynes RO, 1987).

Las integrinas β_4 presentes en las células epiteliales (Kajiji S, 1989) se cree que son importantes en el mantenimiento de la estructura de la piel ya que intervienen en la adhesión de los queratinocitos a la laminina de la membrana basal (DeLuca M, 1990).

Las moléculas de adhesión intercelular también sirven de puerta de entrada para infecciones víricas y por otros microorganismos. Los rinovirus del resfriado común, se unen a la ICAM-1 de las células epiteliales de las vías aéreas superiores (Greve JM, 1988; Staunton DE, 1990), lo que probablemente contribuya a la producción de citocinas que aumentan las secreciones nasales del huésped, favoreciendo la diseminación del virus. El VIH se une a la misma región del CD4 que las moléculas de clase II. La Leishmania utiliza la integrina Mac-1 para invadir los monocitos y macrófagos, el *Plasmodium falciparum* utiliza la ICAM-1 endotelial como ligando y las invasinas producidas por algunas bacterias gramnegativas se unen a determinadas integrinas β_1 (VLA) (Berendt AR, 1989; Springer TA, 1990; Katz AM, 1991).

c3) Selectinas (tabla III)

Las moléculas pertenecientes a la familia de las selectinas se caracterizan estructuralmente por un dominio aminoterminal de gran homología con la lectina tipo C, un dominio con homología al receptor del *epidermal growth factor* y un número reducido de secuencias proteicas cortas con ca-

pacidad reguladora que parecen intervenir en la cascada del complemento (Bevilacqua MP, 1989; Griffiths CEM, 1994). La familia de las selectinas está compuesta por 3 moléculas: la molécula de adhesión de las células endoteliales (Selectina-E o ELAM-1), la molécula de adhesión leucocitaria o receptor de *homing* ganglionar del ratón (Selectina-L, LAM-1, Mel-14 o gp90) y la proteína de la membrana granular dependiente de la activación plaquetar (Selectina-P, CD62, PADGEM, GMP-140). Todas ellas juegan un papel muy importante en la adhesión del leucocito al endotelio vascular, aunque la selectina-E probablemente sea la más importante en los procesos inflamatorios cutáneos. Las selectinas se expresan en los leucocitos (linfocitos, monocitos y neutrófilos) y en las células endoteliales y se cree que intervienen en la adhesión de los leucocitos al endotelio durante la inflamación aguda, la recirculación de los linfocitos y la coagulación.

Tabla III. Selectinas

Molécula de adhesión	Ligando	Interacción-Función
Selectina-E (ELAM-1)	Slex	Endotelio-neutrófilo
Selectina-L (Mel-14)	Adresinas	HEV-linfocito
Selectina-P (CD62)	CD15	Endotelio-leucocito

La **Selectina-L** (Mel-14, Leu-8, LAM-1 ó gp90) se expresa por los leucocitos y se une a una glucoproteína con ácido siálico presente en la vénula endotelial superior del ganglio linfático (HEV) y de las células endoteliales sistémicas activadas (quizá también en la cutánea). Funciona como receptor para la recirculación (*homing*) linfocítica (Siegelman MH, 1989; Duijvestijn A, 1989). Interviene en la migración de los neutrófilos hacia los puntos de inflamación (Jutila MA, 1989) aunque, como comentaremos después (ver vascularización), tras el estímulo quimiotáctico, se desprende rápidamente de la superficie celular de éstos (Kishimoto TK, 1989). Se desconoce su papel en

el tráfico cutáneo de los leucocitos.

La **Selectina-P** (GMP-140 ó CD62) es una proteína preformada que se almacena en los gránulos α de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales, y se moviliza rápidamente (en pocos minutos) hacia su superficie. Interviene en la adhesión de los neutrófilos y los monocitos (Johnston GI, 1989; Larsen E, 1989), como consecuencia de la estimulación de los productos de la cascada de la coagulación (trombina) o la histamina (Bevilacqua MP, 1989). Los leucocitos (neutrófilos y probablemente también los linfocitos T de memoria) que expresan el ligando con ácido siálico se unen parcialmente a la selectina-P expresada en la superficie de la luz de las células endoteliales. Esta unión parcial permite un movimiento de "enrollamiento" a través de la pared endotelial. La expresión de selectina-P es transitoria y la reacción adhesiva subsiguiente es tomada por otra selectina, la Selectina-E.

La **selectina-E (ELAM-1)** parece ser la primordial en el tráfico de leucocitos (Griffiths CEM, 1994). Es una molécula de adhesión endotelial inducible y no se expresa en el endotelio normal, no estimulado. Requiere una transcripción genética y síntesis de la proteína antes de ser expresada en la superficie de la célula endotelial. Se expresa de forma transitoria en las células endoteliales al cabo de 2 a 8 horas de la activación por citocinas (IL-1 ó TNF- α) o por mediadores de los mastocitos y lipopolisacáridos, e interviene en las interacciones entre los neutrófilos y las células endoteliales (Bevilacqua MP, 1989). Esta interacción puede ser inhibida por la IL-8, secretada por las células endoteliales y/o los queratinocitos (Gimbrone MA, 1989), aunque, como hemos dicho antes, sea un potente factor quimiotáctico para los neutrófilos. *In vitro*, a pesar del estímulo continuado por los inductores antes mencionados, hay una casi total desaparición de la expresión de la selectina-E al cabo de 24 horas. Su único ligando es un determi-

que era expresado únicamente por neutrófilos y monocitos (Brandley BK, 1990), aunque recientemente se ha detectado una molécula idéntica a la SLex en la superficie de un subtipo específico de linfocitos T memoria (Picker LJ, 1991; Shimizu Y, 1991). A esta molécula se la ha denominado antígeno cutáneo asociado al linfocito (CLA) (Picker LJ, 1991). Por ello se considera que la selectina-E es muy importante en la captación de esta subpoblación de linfocitos residentes en la piel.

Se ha comprobado una fuerte expresión de selectina-E en varias dermatosis inflamatorias como el liquen plano, la dermatitis atópica, la dermatitis alérgica de contacto y la psoriasis (Groves RW, 1991; Griffiths CEM, 1991; Rohde D, 1992). *In vivo*, se ha observado que las células endoteliales expresan Selectina-E de forma continuada durante la inflamación, a diferencia de lo que sucede *in vitro*, lo cual podría explicarse por la capacidad del IFN- γ (sintetizado por los linfocitos T de memoria) de aumentar la expresión de dicha selectina previamente inducida (Elder JT, 1989).

Las selectinas son responsables del enrollamiento inicial y de la unión transitoria de los leucocitos al endotelio. La parte final del viaje de los leucocitos y la diapedesis endotelial dependen de las interacciones con las integrinas y la superfamilia de las inmunoglobulinas.

c4) Cadherinas (tabla IV)

Son un grupo de glucoproteínas transmembrana dependientes del calcio, de tamaño y sensibilidad a la proteólisis similar (Nose A, 1990). Las tres primeras cadherinas caracterizadas fueron la cadherina-N (neural), la E (epitelial) y la P (placentaria), por lo que son denominadas "clásicas". Posteriormente se han descrito muchas más, como la T, la U, la B/K, la R, la V, la EP, la M y la cadherina endotelial. Las cadherinas "clásicas" tienen una gran homología en su secuencia aminoacídica y en su estructura (Kemler R,

homología en su secuencia aminoacídica y en su estructura (Kemler R, 1989; Magee AI, 1991). Poseen 4 dominios extracelulares (EC1-EC4) muy semejantes y con varios puntos de unión al calcio, el cual provoca cambios en la conformación de las mismas que facilitan su función adhesiva y son responsables de su resistencia a la proteólisis por tripsina. En el citoplasma hay un dominio de anclaje y otro carboxi-terminal homólogo a todas ellas. Las cadherinas interactúan entre si y su distribución varía con el desarrollo, por lo que se cree que intervienen en interacciones celulares que dan lugar a la morfogénesis y no en interacciones inmunológicas.

A nivel cutáneo las cadherinas intervienen en la formación de las uniones intercelulares entre queratinocitos, participan en la morfogénesis de la epidermis y en el mantenimiento de su estructura. Se ha descrito una reducción en la expresión de cadherina E en las zonas de acantolisis de la enfermedad de Darier (Furukawa F, 1991). También están implicadas en la transmisión de señales desde el exterior y en el control de la diferenciación celular (Takeichi M, 1988; Takeichi M, 1991), la transformación y progresión tumoral epidérmica (Pizarro A, 1993).

Tabla IV. Caderinas

Molécula de adhesión	Ligando	Interacción-Función
N	Otras caderinas	Morf neural, musc, epit
E		Morf epitelial
P		Morf epitelial

En los tejidos sólidos, las uniones intercelulares se mantienen estables organizándose en estructuras especializadas de la membrana plasmática. En los queratinocitos se han descrito 3 tipos de uniones intercelulares, los desmosomas, las uniones *adherens* y las uniones *gap* (Stevenson BR, 1989; Schwartz MA, 1990). Algunas de las glucoproteínas desmosómi-

cas presentes en la epidermis como la Desmogleina I, la Desmocolina I, la Desmocolina II, la Desmocolina III, la Desmocolina IV y una proteína de 120 kD, poseen características estructurales y funcionales de las caderinas.

c5) Familia de las proteínas de unión del cartilago

d. FISILOGIA DEL SISTEMA INMUNE CUTANEO

d1. Activación de linfocitos T: los antígenos peptídicos y los superantígenos

La activación de los linfocitos T puede producirse por mecanismos inmunes o no inmunes. Cuando hablamos de activación inmune nos referimos al tipo de activación que se inicia tras el reconocimiento, por parte del TCR, de un Ag. Dicho Ag ha sido previamente procesado por una CPA en forma de péptido (Ag peptídico) unido a las moléculas de membrana codificadas por el CMH. Una vez activado, el linfocito T prolifera y se diferencia en 2 subtipos funcionales: las células T *helper* o colaboradoras, que presentan el correspondiente complejo CMH-antígeno, e inducen a los linfocitos B a producir Ac, y las células *killer*, citolíticas o asesinas, que lisan a las células infectadas por virus y que presentan el correspondiente complejo CMH-péptido viral en la superficie celular.

Las moléculas del CMH pueden ser de clase I, que se unen a péptidos endógenos (proteínas virales en células infectadas) y son reconocidas de forma preferente las células *killer*, o de clase II (IIa en ratones), que se unen a antígenos exógenos procesados por endocitosis y reconocidas por los linfocitos T *helper*.

Los linfocitos T CD4+, en su mayoría, comprenden las células memoria y las células *naif*. Las células *naif* no han sido estimuladas antigénicamente y se caracterizan por la expresión de CD45RA (Pardi R, 1989). Tras el

contacto con un antígeno específico por parte de los linfocitos T *naïf* se produce su activación y conversión en células T "memoria", las cuales tienen capacidad para reaccionar con el Ag, ya sea como resultado de la exposición antigénica repetida o por expansión clonal y se caracterizan por la expresión de CD45RO (Sanders ME, 1989), epitopo reconocido por el anticuerpo UCHL-1. Estas células T memoria CD45RO+ se caracterizan por una mayor expresión en superficie de las integrinas CD2, LFA-1 y VLA-4 (Springer TA, 1990; Shimizu Y, 1990) que las células *naïf*, lo que aumenta su capacidad de unirse a ICAM-1 y VCAM-1. Estos cambios persisten durante toda la vida de la célula y contribuyen a la mayor sensibilidad de las células de memoria frente al antígeno y a la localización de los linfocitos en determinados microambientes y rutas de recirculación, como es el sistema inmune cutáneo.

Otro modo de activación de los linfocitos T cutáneos es por medio de los superantígenos. El término de superantígeno se aplica a un grupo de moléculas inmunoestimuladoras con capacidad, al ser presentadas por moléculas de clase II del CMH de una CPA, de activar a células T portadoras de un determinado segmento genético V β del TCR (Drake CG, 1992). Difieren de los Ag peptídicos convencionales en varios aspectos: 1) en el reconocimiento del complejo molécula clase II del CMH-superantígeno sólo interviene la cara lateral del segmento V β del TCR y no las fracciones D β , J β , V α y J α del TCR, que reconocen a los Ag peptídicos. 2) el reconocimiento de Ag peptídicos por el TCR está restringido por el alelo de la molécula presentadora CMH mientras que el reconocimiento de los superantígenos no está restringido al CMH y, 3) a diferencia de los Ag peptídicos, los superantígenos no precisan del procesamiento intracelular antes de ser presentados por la molécula II del CMH y se unen a dicha molécula en una localización diferente.

Generalmente se trata de productos microbianos y más concretamente de toxinas bacterianas estafilocócicas y estreptocócicas. Dichas toxinas encajan en el HLA-DR del macrófago, inducen la liberación de citocinas y causan estimulación selectiva de células T que expresan el segmento genético V β del TCR (Marrack P, 1990). La *Candida Albicans*, otro patógeno cutáneo común, también puede inducir proliferación de linfocitos V β restringidos *in vitro* e *in vivo* aunque su papel no está todavía definido.

El *Staphylococcus aureus* puede producir varias toxinas superantigénicas entre las que se incluyen la enterotoxina estafilocócica (EEs) causante de la intoxicación alimentaria (Bergdoll MS, 1985), la toxina exfoliativa (TE x) que da lugar al síndrome de la piel escaldada estafilocócica, con exfoliación cutánea (Elias PM, 1977) y la toxina-1 del sdme del shock tóxico (TSST-1), caracterizado por rash cutáneo y descamación (Shands KN, 1980). Los estreptococos del grupo A también produce toxinas superantigénicas que producen edema, eritema y descamación cutáneos (Stevens DL, 1989). Las exotoxinas pirógenas (Stevens DL, 1989) y el mitógeno artrítico del micoplasma (Cole BC, 1991) también son superantigénicas por su capacidad de inducir la proliferación de las células T portadoras de determinados segmentos genéticos V β (White J, 1989; Callahan JE, 1990; Yagi J, 1990; Marrack P, 1990; Janeway CA, 1991).

Se ha demostrado que la EEs y la TSST-1 son potentes inductores de la expresión de IL-1 y TNF- α en la superficie de los monocitos-macrófagos (Ikejima T, 1988; Fast DJ, 1988; Parsonett J, 1988; Fast DJ, 1989), gracias a la transducción de la señal a través de su unión a las moléculas clase II del CMH (Grossman D, 1990) y es probable que muchos de los efectos patológicos de estas toxinas sean debidos a su capacidad de activar las células T y los monocitos. En presencia de una CPA estas toxinas bacterianas son potentes estimuladores de la proliferación de las células T

en cultivo, actuando de forma selectiva sobre las que expresan determinados segmentos genéticos V β (Marrack P, 1990). Por ejemplo, la mayoría de de células T estimuladas por la TSST-1 del estafilococo *in vitro* expresan V β 2. Los linfocitos T periféricos de los pacientes que desarrollan un síndrome del shock tóxico presentan una evidente expansión de células T V β 2+ circulantes (Choi Y, 1990).

A nivel cutáneo se ha comprobado que pueden actuar como células accesorias, en la respuesta de las células T a los superantígenos enterotoxina B y exfoliatina del estafilococo, tanto las células de Langerhans epidérmicas, (se conoce desde hace años que actúan como CPA de antígenos convencionales), como los queratinocitos portadores en superficie de moléculas de clase II (Dai R, 1993; Nickoloff BJ, 1993; Tokura Y, 1994). Tanto los queratinocitos humanos como los murinos en cultivo, en presencia de enterotoxina B o exfoliatina estafilocócicas producen elevadas cantidades de citocinas capaces de estimular los timocitos y las células D10. Mediante técnicas de ELISA se ha comprobado que la enterotoxina B estimula a los queratinocitos a producir TNF- α y no IL-1, lo que sugiere que el TNF- α sea el responsable de la actividad proliferativa de los linfocitos T (Tokura Y, 1994). Investigaciones previas habían demostrado que las toxinas estafilocócicas superantigénicas estimulaban la secreción de citocinas por los monocitos (Ikejima T, 1988; Fast DJ, 1988; Parsonett J, 1988) y que la TSST-1 induce a los monocitos a secretar IL-1 (Ikejima T, 1988), TNF (Ikejima T, 1988; Fast DJ, 1988; Parsonett J, 1988) e IFN- γ (Jupin C, 1988)).

Los queratinocitos son inducidos a sintetizar y expresar moléculas de clase II en varias dermatosis inflamatorias (Volc-Platzer B, 1984; Breathnach SM, 1986) y tras la administración de IFN- γ exógeno. Estudios previos habían demostrado que los queratinocitos clase II+ eran incapaces de estimular a las células T alogénicas en las reacciones primarias de células

epidérmicas-linfocitos o de presentar Ag proteicos solubles a células T primadas específicas para el Ag (Breathnach SM, 1986; Gaspari AA, 1988), por lo que los queratinocitos clase II+ únicamente son capaces de presentar superantígenos a las células T.

En resumen, las toxinas bacterianas producen 3 alteraciones diferentes a nivel cutáneo: 1) la "reacción superantigénica" en la que las células T que infiltran la piel, portadoras de determinados V β , responden a las toxinas en presencia de células de Langerhans o de queratinocitos clase II+, 2) la inducción de la síntesis de mediadores solubles de la inmunidad y la inflamación y 3) la inducción de la separación intercelular a nivel de la capa granulosa, por un mecanismo no citológico no muy bien conocido. Esta última es propia de exotoxinas como la TEx y puede estar producida por la unión de dicha toxina a la demogleína I o bien por la secreción, por parte de los queratinocitos, de TNF- α u otras citocinas que se unirían a dicha molécula.

d2. El concepto de la "circulación preferente" o "homing" linfocítico

Los linfocitos de los animales adultos difieren de los recién nacidos por su tendencia, cuando se reinfunden en el torrente circulatorio, a circular por los ganglios linfáticos asociados al órgano de donde proceden. Esto sugiere que la activación o "cebado" de los linfocitos por determinados antígenos altera su fenotipo de superficie, lo que da lugar a que circulen preferentemente hacia el órgano linfático secundario en el que entraron en contacto por primera vez con el antígeno correspondiente (Yednock TA, 1989). Los linfocitos pasan del torrente circulatorio a los ganglios linfáticos uniéndose a unas células endoteliales especiales denominadas "altas" (high endothelial venules, HEV). Mediante experimentos *in vitro* con anti-

cuerpos de bloqueo de la unión se han detectado una serie de moléculas denominadas "adresinas", que se expresan selectivamente en el endotelio especializado de diversos tipos de ganglios linfáticos y constituyen el ligando específico de los receptores linfocíticos de recirculación (*homing*). Como receptores para dicho *homing* linfocitario se han implicado a diferentes moléculas de superficie como el CD44, LFA-1, VLA-4, Mel-14, de las cuales el Mel-14 parece ser el más importante, para los ganglios periféricos, y el VLA-4 para las placas de Peyer, que se uniría al VCAM-1 de las células endoteliales (Yednock TA, 1989).

Cada vez es más evidente que el pool de linfocitos T está compuesto por diferentes subpoblaciones, cada una de ellas con una predilección por migrar hacia un determinado tejido (placas de Peyer, intestino, bazo o piel). Además de emigrar del torrente circulatorio a los ganglios linfáticos a través de las células endoteliales altas, los linfocitos también emigran a sus órganos de recirculación preferente, y en concreto a la piel, a través del endotelio vascular. Esta es la vía predilecta de los linfocitos T de memoria (Mackay CR, 1990). Como hemos comentado al hablar de las selectinas, las células endoteliales de la microcirculación dérmica expresan determinados ligandos que permiten una recirculación o *homing* selectivo. Los linfocitos T memoria expresan CD45RO, CD44, LFA-1, VLA-4 y Mel-14. Como ya hemos comentado, la selectina-E es probablemente fundamental para el atrapamiento de leucocitos en los focos inflamatorios cutáneos, ya que se expresa casi exclusivamente en las células endoteliales de la microvascularización de la piel (Shimizu Y, 1991), y se une a un determinado subtipo de linfocito T caracterizado por la expresión del receptor denominado "cutaneous lymphocyte-associated antigen" -CLA- (Picker LJ, 1990), que los distingue de los linfocitos T que migran a otros tejidos. Dicho CLA probablemente sea el oligosacárido S_{Le}x (epitopo reconocido por el anticuerpo HECA-452), ligando

específico de la selectina-E. Los linfocitos T que expresan CLA comprenden un 15% del total de linfocitos T en sangre periférica, pero, a nivel de la piel, representan más de un 85% del infiltrado, tanto en dermatosis inflamatorias como en la piel normal (Picker LJ, 1993). Su presencia en la piel normal es indicativa de la vigilancia inmune rutinaria, y la presencia de niveles bajos de selectina-E es la que permite este tráfico en bajo grado (Bos JD, 1993). También se ha comprobado que los linfocitos T CLA+ (HECA-452+) están presentes en el 50-90% de los linfomas cutáneos de células T, mientras que representan menos del 5% de los linfomas extracutáneos, lo que indica la especificidad cutánea de dicho marcador.

Estas interacciones linfocito-célula endotelial podrían explicar la mayor adhesividad de los linfocitos psoriásicos a cultivos de células endoteliales (LeRoy F, 1991) e intervenir en la mayor adhesividad de dichos linfocitos a la microvasculatura dérmica (Chin YH, 1989). La adhesividad del linfocito al endotelio en esta enfermedad vendría mediada por un complejo receptor-ligando específico de tejido y en particular por la interacción LFA-1/ICAM-1, que es modulada terapéuticamente por la ciclosporina pero no por la PU-VA-terapia (Petzelbauer P, 1991).

d3. Papel de las moléculas de adhesión

Una de las principales funciones de las moléculas de adhesión en los procesos inflamatorios cutáneos consiste en captar hacia la dermis y activar a un infiltrado inflamatorio con mayor o menor grado de especificidad y, en determinadas circunstancias, facilitar que alcance la epidermis. Este proceso depende de las moléculas de adhesión, del tipo de las mismas y su orden de actuación. Para conseguir que un leucocito intervenga en el proceso inflamatorio se precisa que éste quede inmovilizado temporalmente por contacto con el endotelio, que atraviese su pared y la membrana basal del mismo, se desplace entre los elementos de la matriz extra-

celular dérmica siguiendo un gradiente quimiotáctico y, en algunos casos, que atravesase la membrana basal epidérmica y penetre en la epidermis hasta alcanzar la célula diana.

Muchas de las moléculas de adhesión endoteliales, que intervienen en el reclutamiento de leucocitos, no se expresan en el endotelio en condiciones basales (excepto la ICAM-1 y la ICAM-2). La síntesis de RNAm y la posterior expresión de estas moléculas es inducida por las citocinas primarias, especialmente la IL-1 y el TNF- α (Kupper TS, 1990). Esto ocurre con la selectina-E (ELAM-1), que se une a los neutrófilos, y con la VCAM-1, que se une a la VLA-4 de las células linfomononucleares, y con la ICAM-1, ampliamente distribuida, cuya expresión aumenta por efecto del IFN- γ , y que se une a la LFA-1 (Carlos TM, 1990).

La activación del endotelio por citocinas promovería la expresión de moléculas de adhesión, tales como la selectina-E o la ICAM-1, que determinarían la adhesión de los leucocitos. Estos se verían así sometidos al influjo local de diversas citocinas y otros factores quimiotácticos presentes en el lugar de la inflamación o de la respuesta inmune.

La liberación proteolítica de la Mel-14 (y del ligando de la selectina-E) (Gimbrone MA, 1989) en los neutrófilos poco después de su activación (p.e. por IL-8) sugiere que estas moléculas actúan de forma transitoria en una fase inicial de la adhesión de los neutrófilos al endotelio, antes de que se produzca la migración transendotelial. En cambio, la expresión de las integrinas aumenta en la superficie del neutrófilo por movilización a partir de los gránulos al cabo de pocos minutos de la estimulación quimiotáctica y se mantiene, lo que indica que las integrinas intervienen, asociadas o no a la liberación de enzimas proteolíticas, en la migración transendotelial subsiguiente a la adhesión transitoria de los neutrófilos al endotelio vascular.

Los leucocitos, después de atravesar la célula endotelial y la mem-

brana basal vascular, emigran direccionalmente siguiendo un gradiente de concentración de factores quimiotácticos, tales como la IL-8 o el factor de activación quimiotáctica del macrófago (MCAF), en busca de la señal que dio lugar a su adhesión focal. Tanto la IL-1 como el TNF- α (citocinas primarias), que aumentan la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular (y en los queratinocitos o fibroblastos, entre otros tipos celulares), potencian la expresión de IL-8 y MCAF por los propios queratinocitos y los fibroblastos, y por tanto actúan de forma simultánea atrayendo primero y activando eventualmente al neutrófilo o monocito (Kupper TS, 1990).

Posteriormente el desplazamiento de los leucocitos por la matriz extracelular se ve facilitado por la expresión e interacciones de las integrinas, que contribuyen asimismo a la movilidad de los leucocitos a través de su interacción con el citosqueleto. Por último, las moléculas de adhesión vuelven a intervenir cuando el leucocito atraviesa la membrana basal o la epidermis en su caso, así como en la adherencia a la célula diana, en su reconocimiento específico (linfocitos memoria) o no y, probablemente, también en la correspondiente lisis celular. Tal es el caso de la ICAM-1 y la LFA-1.

e. PAPEL DEL SISTEMA INMUNE CUTANEO EN DETERMINADAS DERMATOSIS

e1. Dermatitis alérgica de contacto (DAC)

La dermatitis alérgica de contacto es un ejemplo clásico de enfermedad cutánea que pone de manifiesto las relaciones entre la piel y el sistema inmune. El papel de las células epidérmicas en la iniciación y mantenimiento de la respuesta inmune ha sido bien establecido en la DAC. Las moléculas químicas desencadenantes de la reacción se denominan haptenos ya que no son inmunógenas por ellas mismas, poseen una buena reactividad química, un Pm bajo y buena solubilidad para lípidos. Estas 2 últimas características favorecen su paso por el estrato córneo. Tras penetrar en la epidermis interactúan con proteínas cutáneas y las transforman haciendo que éstas se hagan extrañas al sistema inmune. El complejo hapteno-proteína actúa como Ag completo y es el desencadenante de la respuesta inmune, al entrar en contacto con la célula de Langerhans. La célula de Langerhans analiza el complejo hapteno-proteína, lo digiere, lo procesa y lo presenta, sobre la molécula HLA-DR, a los linfocitos T. Las células de Langerhans recirculan para presentar el Ag en los ganglios linfáticos que drenan la piel. Los linfocitos T específicos frente al Ag proliferarán para dar lugar a los linfocitos efectores y a las células de memoria. Al ser reexpuestos al Ag, las células de Langerhans lo presentan de nuevo a las células memoria y las activan. Los linfocitos T activados secretan una serie de linfoquinas que atraen localmente a linfocitos efectores capaces de estimular su proliferación y más tarde abandonar la epidermis y captar leucocitos. Esta reacción es el origen del estado patológico que observamos clínicamente como eccema.

En el curso de la DAC los queratinocitos expresan en su superficie HLA-DR e ICAM-1. La expresión de ICAM-1 tiene una relación directa con la migración de los linfocitos desde la dermis a la epidermis (Lewis RE 1989) y parece jugar un importante papel en la patogenia de la DAC.

e2. Dermatitis atópica

En la dermatitis atópica se ha detectado un infiltrado dérmico constituido especialmente por linfocitos Th, mastocitos y células presentadoras de Ag. En su patogenia se ha implicado, junto a una determinada base genética, una respuesta alterada y autoperpetuante del sistema inmune cutáneo a alérgenos ambientales (neumoaérgenos ?) mediada por citocinas (Bos JD, 1992). Se ha observado un aumento de la IgE total, parte de la cual es específica para un nº reducido de Ag ambientales. Por otra parte se ha comprobado que la síntesis de IgE es regulada por citocinas derivadas de los linfocitos T: la IL4 que actúa como inductor de dicha síntesis, y el IFN- γ que actúa como inhibidor (Pene J, 1988). En la dermatitis atópica se ha visto que se acumulan linfocitos T CD4+ que secretan IL3, IL4 e IL5, pero no IFN- γ , en respuesta a Ag específicos, lo que sugiere que pueda tratarse de linfocitos Th2. La IL4 induce a los linfocitos B a sintetizar y secretar IgE (Finkelman FD, 1988) y sólo o sinérgicamente con la IL3 es un factor de crecimiento para los mastocitos. También aumenta la expresión de receptores específicos, aunque de afinidad débil, para la IgE en la superficie de la célula de Langerhans que gracias a esta Ig sería más sensible a pequeñas concentraciones de alérgeno ambiental (Schmied C, 1989). La combinación de estos mecanismos permitirían la amplificación de la reacción inflamatoria inducida por el alérgeno. Asimismo se ha comprobado que las clonas de linfocitos T específicos para *Dermatophagoides Pteronyssinus* presentan una producción aberrante de linfocinas (Wierenga EA, 1991). Otro hallazgo

característico de la dermatitis atópica lo constituye la presencia de IgE en las células dendríticas del infiltrado, particularmente en las células de Langerhans (Bruynzeel-Koomen C, 1986). En la dermatitis atópica los queratinocitos no expresan HLA-DR. Otro dato que apoya la patogenia inmunitaria de la dermatitis atópica es el hecho que dos de los tratamientos más efectivos son los corticoides y la Ciclosporina A.

e3. Liquen plano

El liquen plano es una dermatosis que se caracteriza clínicamente por pápulas eritematovioláceas, aplanadas, de forma poligonal, en cuya superficie se detecta con frecuencia una red blanquecina que denominamos "estrias de Wickham" (Boyd AS, 1991)). Las lesiones suelen ser pruriginosas y se localizan en la piel, las mucosas, el cuero cabelludo y las uñas y afecta del 0.4 al 0.8% de la población (Schmidt H, 1961). Suele iniciarse en la 5ª o 6ª década de la vida, aunque puede iniciarse a cualquier edad. El inicio en varones es más precoz y los niños representan un 2% de los pacientes (Brice SL, 1980).

Histológicamente se caracteriza, a nivel epidérmico, por una hiperqueratosis ortoqueratósica, hipergranulosis y acantosis. Las crestas interpapilares muestran el típico aspecto en "dientes de sierra" (Ellis FA, 1967; Lever WF, 1990). Se ha detectado un aumento en el número de células de Langerhans (Bahn AK, 1981) y la presencia de linfocitos e histiocitos de forma aislada. A nivel de la zona de la membrana basal se produce vacuolización y acúmulo de fluido lo que da lugar a hendiduras que se conocen con el nombre de espacios de Max Joseph (Lever WF, 1990). Si estas hendiduras son intensas se produce el denominado liquen plano ampolloso. También es característica la presencia de los cuerpos de Civatte o cuerpos coloides, queratinocitos basales disqueratósicos, que han sufrido queratinización

prematura y son enviados a la dermis papilar (Taaffe A, 1979). Están formados por una red de microfilamentos de 70A probablemente derivados de tonofilamentos intracelulares. El principal hallazgo a nivel de la dermis es un infiltrado inflamatorio en banda que afecta la interfase y consiste principalmente en linfocitos e histiocitos.

La causa del liquen plano es desconocida aunque en su patogénesis se han implicado mecanismos inmunes, especialmente ligados a la inmunidad celular. Se cree que los linfocitos T dérmicos son las células responsables que inician o estimulan los mecanismos patogénicos del liquen plano. Algunos autores (De Panfilis G, 1983) consideran que la interacción entre linfocitos T y queratinocitos se produce porque éstos actúan como célula "diana". Otros investigadores (Goiman-Yahr M, 1980) postulan que dicha interacción se produce cuando los linfocitos T quedan sensibilizados a Ag tumorales que presentan reacción cruzada con Ag epidérmicos. Recientemente se ha demostrado que el IFN- γ producido por las células T, puede inducir la expresión de LFA-1 por los monocitos, lo que facilita su unión a los queratinocitos (Shiohara T, 1988) dando lugar a la destrucción de éstas. Algún tipo de Ag (viral, farmacológico, celular) interactuaría con un queratinocito o una célula de Langerhans originando la síntesis de IL-1. La acción de ésta sobre los linfocitos T originaría su activación y un aumento en la producción de IL-2 (Morhenn VB, 1986), con la consiguiente proliferación de linfocitos. Los queratinocitos HLA-DR+ también sintetizarían el factor activador de timocitos derivado de queratinocitos (ETAF), una proteína IL1-like (Shiohara T, 1988), lo que daría lugar a que los linfocitos T activados aumentarían la síntesis de IFN- γ . Esto originaría expresión de ICAM-1 por los queratinocitos, dando lugar a atracción de linfocitos T LFA-1+ cuyas citocinas destruirían a los primeros (Ishii T, 1987). Otro mecanismo que se ha implicado en el inicio de la patogénesis es el de una adición de sustancias anti-

génicas en los queratinocitos epidérmicos (Lacy MF, 1983), lo que desencadenaría una citotoxicidad directa. La misma reacción inmunitaria que originaría la destrucción de los queratinocitos sería la responsable del daño sobre los hepatocitos que se ha detectado en algunos de estos pacientes.

4. LA TEORIA INMUNE EN LA PATOGENESIS DE LA PSORIASIS

La teoría inmune en la patogénesis de la psoriasis, es una teoría perfectamente factible (Cormane RH, 1981; Gottlieb AB, 1986; Grossman RM, 1989; Nickoloff BJ, 1991; Casanova JM, 1992), ya que, para muchos autores, en los cambios iniciales de las lesiones psoriásicas intervienen células inmunitarias. La presencia de inmunocitos activados (linfocitos T helper que expresan rIL2 y LFA-1 en superficie y macrófagos), la yuxtaposición de dichos inmunocitos a los queratinocitos proliferantes, los cambios detectados en las células de Langerhans, la aparición de un brote de psoriasis en gotas tras una amigdalitis (donde el estreptococo actuaría como un superantígeno) y la resolución de las lesiones tras el tratamiento con fármacos inmunomoduladores como la ciclosporina A vienen a confirmar el papel central del sistema inmune cutáneo en la patogénesis de la enfermedad.

4a. Antecedentes históricos de la teoría inmune.

A principios de los años 70 se realizaron los primeros trabajos sobre la inmunidad en la psoriasis, que se centraron en la autoinmunidad humoral. En las lesiones se detectaron autoanticuerpos antiestrato córneo (Krogh HK, 1973), antinúcleo de los queratinocitos basales (Cormane RH, 1981) y antirribonucleoproteínas U1 y U2 (Reeves WH, 1986). También se detectaron alteraciones en la inmunidad celular con disminución de los linfocitos T circulantes, presencia de inhibidores séricos de la formación de rosetas E (Glinski W, 1978), disminución de las reacciones de hipersensibilidad retardada *in vivo* (Krueger GG, 1978) y disminución de la función "*natural killer*" (Kaminski M, 1984). A finales de los años 70 se introdujeron los anticuerpos monoclonales, y con ellos se estudió la composición del infiltrado dérmico en las lesiones de psoriasis. Se comprobó el predominio de linfocitos T activados, monocitos y macrófagos (Bjerke JR, 1978; Baker BS, 1984; Gottlieb AB,

1986; Haffek M, 1989). Epstein en 1971 (Epstein WL, 1971) ya apuntó el posible papel del sistema inmune en la patogénesis de la psoriasis mientras que las primeras hipótesis fueron las formuladas por Cormane (Cormane RH, 1976), implicando un defecto en los linfocitos T, y por Beutner (Beutner EH, 1982), que defendía que un Ag oculto en el estrato corneo originaría la activación del complemento y la infiltración neutrofílica. Las hipótesis más recientes son las postuladas por Valdimarsson (Valdimarsson H, 1986) que profundiza en la interacción de los queratinocitos con los linfocitos T intraepidérmicos y las células dendríticas, por Bos (Bos JD, 1988), que defiende el papel preponderante de las células dendríticas en la alteración de la homeostasis inmune, y por Gottlieb (Gottlieb AB, 1988) que propone 2 mecanismos por los que los queratinocitos y las células de Langerhans HLA-DR+ en las placas de psoriasis podrían activar las células T dérmicas. Según este autor, dicha activación podría producirse directamente, mediante una reacción autóloga mixta leucocito-epidérmica o bien a través de la presentación de un Ag a los linfocitos T. Se había dicho que los queratinocitos HLA-DR+ podían presentar Ag y por tanto servían como estímulo en las reacciones mixtas leucocito-epidérmicas (Gaspari AA, 1987; Demidem A, 1987). La activación de los linfocitos conduciría a la liberación de mediadores de la inflamación y factores de crecimiento epidérmicos, que serían los responsables de la hiperproliferación epidérmica. Estudios más recientes demuestran que los queratinocitos clase II+ son incapaces de estimular a las células T alogénicas en las reacciones primarias de células epidérmicas-linfocitos o de presentar Ag proteicos solubles a células T primadas específicas para el Ag (Breathnach SM, 1986; Gaspari AA, 1988). Como comentaremos, los queratinocitos clase II+ únicamente son capaces de presentar superantígenos.

4b. Fundamentos de la teoría inmune

La teoría inmune se fundamenta en los siguientes hallazgos: **1)** la detección en las placas de psoriasis de linfocitos T activados, linfocinas y factores de crecimiento, (Cormane RH, 1981; Gottlieb AB, 1986; Grossman RM, 1989), **2)** la yuxtaposición de los queratinocitos proliferantes a las células inmunes (linfocitos T, monocitos-macrófagos y dendrocitos dérmicos), lo que sugiere la existencia de un intercambio de citocinas entre los queratinocitos que expresan moléculas de adhesión como el ICAM-1 e inmunocitos que expresan LFA-1 (Nickoloff BJ, 1991), **3)** en la aparición de psoriasis guttata tras una infección estreptocócica (Swerlick RA, 1986), (como la fiebre reumática o la glomerulonefritis, de probable origen autoinmune), **4)** en el aumento de frecuencia de los HLA anteriormente citados (Russell TJ, 1972; White SH, 1972) y, **5)** en el efecto inmunomodulador de la mayoría de antipsoriásicos, en especial la ciclosporina A (Ellis CN, 1986). Podrían actuar como inmunógenos, activando a los linfocitos T, antígenos ocultos en el estrato córneo (Beutner EH, 1982), proteínas no histonas (Ashgar SS, 1984), antígenos exógenos que originarían una reacción cruzada, como el estreptococo (Swerlick RA, 1986) u otros agentes infecciosos (micobacterianos y proteínas retrovirales) (Guilhou JJ, 1987; Duvic M, 1987).

De forma esquemática, la teoría inmune defiende que los linfocitos T infiltran la dermis, penetran en la epidermis y se unen a los queratinocitos ICAM-1+ por medio de su molécula de adhesión LFA-1. Una vez en contacto, se produce un intercambio de citocinas que conduce a la hiperproliferación epidérmica y al mismo tiempo convierte a los linfocitos T en autorreactivos. La atracción hacia la dermis de los linfocitos T circulantes se consigue gracias a moléculas de adhesión específicas situadas en la superficie de las células endoteliales. Desarrollaremos de forma sucesiva los hechos que

apoyan esta teoría, empezando por las características inmunes de las células implicadas en la patogénesis de la psoriasis (linfocitos T, queratinocitos, dendrocitos, células de Langerhans y células endoteliales), los mediadores intercelulares que intervienen (citocinas) y el modo de acción de los diferentes tratamientos.

5. CARACTERISTICAS DEL INFILTRADO DERMICO EN LAS LESIONES DE PSORIASIS

En una lesión de psoriasis establecida, en el infiltrado dérmico predominan los linfocitos y los macrófagos. También hay numerosas células de Langerhans (Gottlieb AB, 1986), raras en la dermis normal, pero frecuentes en otras dermatosis inmunes como la DAC y la Micosis Fungoide. La proporción CD4/CD8 está aumentada en las placas activas no tratadas (Baker BS, 1984). Predominan los linfocitos Th activados, que presentan en superficie HLA-DR y receptor para IL-2 (Gottlieb AB, 1986).

Comentaremos más ampliamente las características de las células que componen dicho infiltrado.

5a. Subpoblaciones linfocitarias

En el infiltrado dérmico de la psoriasis predominan los linfocitos T, especialmente los de tipo *helper* (Baker BS, 1984; Gottlieb AB, 1986; Placek W, 1988; Nikaein A, 1991) y los dendrocitos (Bjerke JR, 1982; Bos JD, 1983), aunque en lesiones establecidas también pueden detectarse neutrófilos, que se acumulan formando las pústulas de Kogoj y los microabscesos de Munro (Bjerke JR, 1978; Baker BS, 1984). En las placas activas, en fase de crecimiento, hay un aumento de la proporción linfocitos T CD4+/CD8+ (Baker BS, 1985), variable según el tipo de psoriasis estudiado (Ramirez-Bosca A, 1988). Cuando las lesiones de psoriasis en gotas involucionan, ya sea espontáneamente o por efecto del tratamiento, predominan los linfocitos Ts (Baker BS, 1984; Baker BS, 1985; Ramirez-Bosca A, 1988), mientras que se observa una reducción de los mismos en las placas crónicas (Bos JD, 1985). Por tanto, parece que la erupción y cronicidad de las lesiones de psoriasis está relacionada con el flujo y activación intraepidérmica de linfocitos Th (CD4+ y HLA-DR+), mientras que la resolución espontánea coincide con la penetración y activación epidérmica de linfocitos Ts (CD8+).

Recientes estudios demuestran que el infiltrado psoriásico está compuesto en un 74% por células CD4+, el 25% por células CD8+ y un 1% son CD4-/CD8- (Schlaak JF, 1994). El patrón de citocinas producidas por las células T CD4+ que componen dicho infiltrado se caracteriza por un perfil en el que predominan las citocinas primarias proinflamatorias IL-2 e IFN- γ (Uyemura K, 1993; Schlaak JF, 1994), mientras que no se ha detectado la presencia de citocinas antiinflamatorias como la IL-4 o la IL-10, que reducen la síntesis y la actividad de IFN- γ . La falta de éstas y la presencia de IFN- γ puede ser la causa de que los linfocitos T intraepidérmicos y los queratinocitos no sean capaces de interrumpir el proceso hiperqueratósico autoperepetuante que da lugar a la psoriasis. Dado el patrón de linfocinas detectado, parece probado que el subtipo de linfocitos T que infiltran las lesiones de psoriasis es el Th1. Determinadas condiciones que originasen la producción de citocinas derivadas de este subtipo de linfocitos podrían ser responsables de la inducción de lesiones de psoriasis. Por ejemplo, la dermatitis alérgicas de contacto que induce una respuesta tipo Th1 se sabe que pueden desencadenar lesiones de psoriasis, mientras que la dermatitis atópica, caracterizada por un perfil de citocinas tipo Th2 no es capaz de inducir dichas lesiones. Por otra parte, el efecto terapéutico de la luz ultravioleta en la psoriasis podría estar causado por un efecto selectivo de activación de linfocitos Th2 por parte de las células de Langerhans (Simon JC, 1990), lo cual daría lugar a la producción de IL-4 e IL-5 y éstas a su vez a la supresión de la síntesis de IFN- γ , con lo que se frenaría la reacción de citocinas derivadas de los linfocitos Th1.

5b. Activación de los linfocitos. Los superantígenos en la activación de los linfocitos psoriásicos.

En estudios *in vitro* se había comprobado que la activación de los linfocitos se asociaba a expresión de HLA-DR por parte de los mismos

(Hercend T, 1981). En las lesiones puntiformes de 2 días de evolución se detectaron linfocitos Th intraepidérmicos HLA-DR+ en estrecho contacto con las células de Langerhans HLA-DR+ (Baker BS, 1984; Baker BS, 1985), lo que indicaba una interacción entre ambas células en el inicio de la respuesta inmune en la psoriasis. En las placas en fase de crecimiento, predominaban los linfocitos Th HLA-DR+ y rIL-2+ (Baker BS, 1984; Gottlieb AB, 1986; Gottlieb AB, 1988), mientras que en las placas crónicas, tanto los linfocitos Th como los linfocitos Ts expresaban HLA-DR (Morhenn VB, 1982; Bos JD, 1983).

Por el contrario, otros autores, han detectado que los linfocitos T de la psoriasis no se encuentran activados y que su activación se produce al penetrar en la epidermis. Mediante estudio inmunohistoquímico con Ki-67, un anticuerpo monoclonal que marca las células en fase cíclica (G1, G2 y M) y no las células en reposo (Gerdes J, 1984), encuentran que los linfocitos T dérmicos en la psoriasis están en fase G0 o de descanso (son Ki67-) (Turbitt ML, 1986; Ralfkiaer E, 1986). Esto indicaría que los linfocitos T proliferan en los ganglios linfáticos, pasan posteriormente a la circulación general y finalmente llegan a la epidermis donde se activarían. En la psoriasis sólo se marcan con Ki-67, según dichos autores, los linfocitos intraepidérmicos, y no los dérmicos ni las células endoteliales (Turbitt ML, 1986; Ralfkiaer E, 1986; Nickoloff BJ, 1990). Lo mismo sucede en la micosis fungoide (Nickoloff BJ, 1990). La presencia de linfocitos T intraepidérmicos activados en la psoriasis, ha sido corroborado por la detección, mediante reacción en cadena de polimerasa, de RNAm de IFN- γ en piel afecta (Nickoloff BJ, 1990). Estos linfocitos T intraepidérmicos Ki-67+ coinciden con la zona de mayor expresión de ICAM-1 por los queratinocitos y además se sitúan encima de las papilas dérmicas que exudan células inflamatorias.

No se conoce con exactitud si el mecanismo de activación del linfocito psoriásico es o no de tipo antigénico (Baadsgaard O, 1990). La activa-

ción antigénica se produce al interaccionar el receptor CD3 del linfocito T con un Ag peptídico situado sobre el HLA-DR de una célula presentadora de Ag. La activación independiente de Ag se consigue por interacción con alguna de las siguientes moléculas de superficie: CD2, CD28 ó UM4D4. En recientes estudios se ha visto que la mayoría de células dérmicas y epidérmicas, en biopsias de psoriasis, muestran UM4D4 lo que sugiere que predomina la vía independiente de Ag.

Por otra parte se ha comprobado que la interacción de la molécula de adhesión linfocitaria LFA-1 con anticuerpos anti-LFA-1 origina la activación in vitro de los linfocitos T (Noesel C, 1988), por lo que se ha sugerido que, in vivo, otro modo de activación podría consistir en la interacción de dicha LFA-1 con la molécula de adhesión queratinocítica ICAM-1.

Uno de los mecanismos por el que los queratinocitos, las células T y los macrófagos alcanzan y mantienen su estado de activación en la psoriasis pudiera estar relacionado con infecciones bacterianas (Whyte JH, 1964; Marples RR, 1973; Rosenberg EW, 1982; Rosenberg EW, 1986) ya que se ha comprobado que el 50% de los pacientes con psoriasis son portadores cutáneos de *S Aureus* especialmente a nivel de las lesiones (Marples RR, 1973) y que en bastantes casos, las exacerbaciones agudas de una psoriasis han sido precedidas de infecciones por estreptococo y de un aumento de antiestreptolisinas séricas (Rosenber EW, 1986, Swerlick RA, 1986). Estos pacientes suelen mejorar con tratamiento antibiótico.

Recientemente se ha demostrado que algunas toxinas bacterianas, especialmente las derivadas de *S Aureus* y *Streptococcus*, pueden actuar como superantígenos (Marrack P, 1990), mecanismo por el cual podrían mediar en la activación de los queratinocitos HLA-DR+, las células T y los monocitos del infiltrado, al menos en un subtipo de pacientes con psoriasis. Según esta teoría (Leung YM, 1993), la psoriasis podría ser desencadenada

por superantígenos, toxinas de origen microbiano -bacteriano o micótico- que estimulan a las células T que expresan segmentos del gen de la cadena variable β ($V\beta$) del TCR. Esta teoría apoyaría la observación clínica de que la psoriasis guttata aguda se asocia a faringitis estreptocócica (Rosenber EW, 1986; Swerlick RA, 1986) y que es frecuente la presencia de psoriasis en el pliegue submamario e interglúteo que con frecuencia están colonizados por *Cándida* (Fergusson AG, 1990). Superantígenos bacterianos (de estreptococos o estafilococos) o micóticos (de *cándida*) actuarían como desencadenantes de una psoriasis en aquellos pacientes en los que la enfermedad se asocia con infección. Esto daría lugar a la activación de linfocitos T con determinada especificidad $V\beta$. Esta expansión selectiva de linfocitos T daría lugar a la secreción de linfocinas que promoverían la activación endotelial y la proliferación de queratinocitos en la psoriasis. Los superantígenos epicutáneos, subcórneos o circulantes podrían unirse a la molécula clase II del CMH de una CPA de la dermis o la epidermis (células de Langerhans, dendrocitos o macrófagos dérmicos). Si contactan con el linfocito portador del $V\beta$ apropiado, la interacción CPA/linfocito conducirá a la activación de la célula T por el superantígeno. Ello conducirá a la proliferación de la célula T, la liberación de citocinas y al fenotipo psoriásico característico. En la persistencia de las lesiones pueden intervenir los queratinocitos clase II+, ya que pueden mantener la activación de la célula T por superantígenos.

5c. Circulación intraepidérmica de leucocitos e interacción con el queratinocito.

Se ha demostrado *in vitro* que distintas clonas de linfocitos T psoriásicos poseen la capacidad de aumentar la proliferación de los queratinocitos (Baadsgaard O, 1989), lo que apoya que la interacción entre ambas células puede dar lugar a la hiperplasia epidérmica característica de la psoriasis.

Tras la proliferación en el ganglio linfático, los linfocitos T alcanzan las zonas de inflamación de la dermis al ser atraídos por sustancias quimiotácticas y captados por moléculas de adhesión del endotelio vascular. Posteriormente se desplazan hacia la epidermis debido al influjo que ejerce sobre ellos la molécula de adhesión del queratinocito, la ICAM-1. Esta molécula es expresada en la superficie del queratinocito bajo el estímulo del IFN- γ ó del TNF- α liberado por los propios linfocitos T activados (Griffiths CEM, 1989) y es el ligando específico de la molécula de adhesión linfocitaria LFA-1 (Nickoloff BJ, 1988; Nickoloff BJ, 1990). Una vez unidas ambas células se podría producir la presentación del Ag, situado sobre la molécula HLA-DR del queratinocito, lo que mantendrá al linfocito permanentemente activado.

Una vez activado, el linfocito secretará linfocinas que actuarán sobre el queratinocito (Nickoloff BJ, 1986). Una de las más importantes es el IFN- γ , el cual, al actuar sobre los queratinocitos, induce la expresión de ICAM-1 y la liberación de factores quimiotácticos. Estos son los iniciadores de los fenómenos inmunológicos en las papilas dérmicas. Los linfocitos también secretan otras linfocinas y factores de crecimiento autocrino como el TGF- α el cual se ha comprobado que es capaz de inducir la proliferación de los queratinocitos.

6. EL QUERATINOCITO PSORIASICO

6a. Hiperproliferación epidérmica

Una de las principales características de la epidermis psoriásica es la hiperproliferación (van Scott, 1963). En la psoriasis se ha comprobado que existe una reducción en la duración del ciclo celular del queratinocito a una octava parte de su valor normal (36 horas en epidermis psoriásica frente a 311 en la piel normal). Mediante estudios con timidina tritiada se ha comprobado que el número de células proliferantes es el doble del normal, y que el 100% de las células germinativas de la piel entran en fase proliferativa, mientras que en la piel normal están en esta fase únicamente el 60-70% de las mismas. Estas alteraciones dan lugar a una epidermis hiperplásica que genera 35000 células/mm² al día en un compartimento proliferativo que contiene aproximadamente 52000 células/mm². La piel normal produce sólo 1218 células/mm² desde un compartimento proliferativo de 26000 células/mm² (van Scott EJ, 1963). También se ha detectado en la piel normal de los pacientes con psoriasis una proliferación epidérmica de cerca del doble de lo normal (Hell E, 1966; Weinstein GD, 1983) y una respuesta regenerativa acelerada tras la prueba del celo.

Los estudios de trasplante de piel al ratón afímico demuestran que la proliferación epidérmica de la piel normal y lesionada de pacientes con psoriasis es más elevada que la de la piel normal (Krueger CG, 1981; Fraki JE, 1983), aunque no aparecen lesiones clínicas de psoriasis (eritema, descamación e infiltración), lo que indica que la hiperproliferación epidérmica no es suficiente para inducir la lesión psoriásica.

Recientemente se ha cuestionado la validez del test de la incorporación de la timidina tritiada en la valoración de la proliferación. Se ha visto que los queratinocitos son capaces de catabolizar la timidina (Davison P,

1979; Schwartz PM, 1988; Schwartz PM, 1988), por lo que la radioactividad observada en las células en fase de división podría originarse a partir del catabolismo de la misma y no a partir de la síntesis de DNA. Además la timidina exógena es capaz de estimular la síntesis de DNA (los medios de cultivo utilizados para el crecimiento óptimo de los queratinocitos contienen timidina) y con ello enmascarar los resultados (Schaer J-C, 1978). Otro problema añadido es que la síntesis de DNA puede originarse *de novo* a partir de bases libres, azúcares y fosfato, sin pasar por la timidina.

La hiperproliferación epidérmica en la psoriasis se consigue gracias a la entrada de células en fase latente (G0) a fase cíclica (Bauer FW, 1983; van Erp PEJ, 1989). La mayoría de células cíclicas se identifican mediante la tinción nuclear con Ki-67 (Gerdes J, 1983) y en la epidermis psoriásica se ha visto un aumento de núcleos Ki-67+ (van Erp PEJ, 1987; de Mare S, 1990). En la piel normal, el Ki-67 da lugar a una tinción citoplásmica esporádica, mientras que en la psoriasis se produce una tinción exclusivamente nuclear (de Mare S, 1990). Este marcaje aparece antes (más periféricamente) de que se haya desarrollado por completo la acantosis de la epidermis psoriásica pero un poco después (más centralmente) de que se haya iniciado ésta. Las capas suprabasales también captan marcadores que indican aumento del crecimiento epidérmico como el anticuerpo monoclonal Ks8.12 que se une a la keratina 16 (de Mare S, 1989).

El inicio de la hiperproliferación del queratinocito se produciría por acción de citocinas liberadas por células inmunes (linfocitos-dendrocitos-células de Langerhans), sobre los receptores de membrana de los queratinocitos. Esto daría lugar a los cambios del citoesqueleto celular que llevarían la señal al núcleo y se iniciaría la multiplicación celular. A partir de este momento podría producirse una multiplicación en cadena.

En condiciones normales la proliferación celular se inicia tras la acti-



vación de un receptor de membrana tirosin-cinasa (McCormick F, 1993; Marx J, 1993). Algunos factores de crecimiento y sus receptores son producto de conocidos oncogenes, como el oncogén *erbB*, que codifica el receptor del EGF, y el *sís* que produce una cadena proteica del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). Posteriormente se produce la activación de la proteína Ras, punto común para la transmisión de señales iniciadas por EGF, PDGF y otros factores de crecimiento, lo cual pone en marcha la cascada de las cinasas que finalmente hacen llegar la señal al núcleo.

En las células de los mamíferos el receptor del EGF activado transfiere sus señales a la Ras con la ayuda de 2 proteínas intermedias, llamadas Grb2 (Growth Factor Binding Protein) y mSOS1, contrapartida en el mamífero del producto del gen "son of sevenless" de la mosca *Drosophila*. El mSOS1 es una proteína liberadora de guanina que convierte a la Ras-GDP en Ras-GTP activa mediante un intercambio de nucleótidos. Estas interacciones proteína-proteína son el centro de control del crecimiento celular de los organismos eucariotes superiores. La Grb2 es una proteína adaptadora, que sirve para conectar entre sí otras proteínas implicadas en la transducción de señales, por medio de sus dominios SH2 (para fosfoproteínas tirosin específicas) y SH3 (para regiones ricas en prolina). La activación del receptor de EGF, que es una tirosincinasa, origina su autofosforilación, lo que permite a su segmento interno unirse a la Grb2 del complejo Grb2-mSOS1. La región rica en prolina de la mSOS1 se une al SH3 de la Grb2 y el mSOS1 a su vez activa a la proteína Ras mediante un intercambio de nucleótidos que da lugar a Ras-GTP.

Un grupo de enzimas citoplásmicas denominadas MAPcinasas (mitogen activated protein cinases) transmiten las señales desde la región anterior hasta el núcleo. Para realizar su trabajo, las MAPcinasas trabajan conjuntamente en una secuencia ordenada, denominada "cascada de las

cinastas", de forma que cada una fosforila -y así activa- al siguiente miembro de la serie. La primera proteína de la cascada parece ser la Raf-1, producto del oncogén Raf-1. La proteína Raf-1, que es una proteincinasa, fosforila y activa una enzima, llamada MEK, localizada en el inicio de la cascada, tras la activación de la Ras.

La última cinasa en la cascada fosforila varias proteínas celulares que pueden dar lugar a la respuesta celular. Algunas actúan en el citoplasma pero otras son factores de transcripción (proteínas que ayudan a abrir la expresión genética). La proteína codificada por el oncogén *myc* es un factor de transcripción y se ha observado que la MAP-cinasa fosforila Myc, por tanto aumenta su capacidad de estimular la actividad del gen. Otros factores de transcripción que pueden ser activados por la fosforilación de la MAP-cinasa incluyen los productos de los genes *jun* y *ets*. Todos estos datos refuerzan el concepto de que las vías de crecimiento celular están pavimentadas por productos de diferentes oncogenes, aunque en la conversión a carcinoma en el hombre sólo parece jugar un importante papel la activación anormal del *Ras*.

En resumen, la vía de transmisión de señales de crecimiento desde la membrana celular al núcleo parece claro: el EGF se une a su receptor, el receptor se une luego al complejo Grb2-mSos1, que a su vez activa el Ras. El Ras activa la Raf-1-cinasa y ésta al resto de la cascada de las MAP-cinasas, culminando finalmente en la fosforilación de factores de transcripción y otras proteínas celulares que conducen hacia la respuesta celular.

Se ha especulado a nivel molecular la hiperproliferación epidérmica estaría causada por una alteración en la expresión de determinados oncogenes, o bien en una mutación de los mismos, ya que, como hemos comentado antes, los productos de los oncogenes son los que controlan el crecimiento y diferenciación celular, aunque en la psoriasis no se ha detec-

tado un aumento en la expresión de los oncogenes *C-myc*, *C-fos*, *C-jun*, *C-erbB* ni *C-Ha-ras* (Elder JT, 1990).

6b. Moléculas de superficie

La activación del queratinocito parece ser una de las claves de la psoriasis. Dicha activación, al menos en parte, parece estar causada por la secreción de linfocinas desde las células T.

El inmunofenotipo del queratinocito psoriásico se caracteriza por la expresión en superficie de HLA-DR, ICAM-1, γ -IP-10 y UM4D4.

Las moléculas **HLA-DR** son glucoproteínas de membrana que pertenecen al complejo mayor de histocompatibilidad y actúan como Ag en las reacciones leucocitarias mixtas. En la respuesta inmune normal, la activación de los linfocitos T se consigue tras el reconocimiento del Ag, situado sobre las moléculas HLA-DR de las células presentadoras de antígeno (Babbit BP, 1985). En la epidermis normal, la única célula HLA-DR + es la célula de Langerhans CD1+ (Murphy GF, 1983). Sin embargo, en varias dermatosis inflamatorias caracterizadas por un infiltrado dérmico mononuclear, incluyendo la psoriasis (Gottlieb AB, 1986; Terui T, 1987), el HLA-DR también es sintetizado y expresado por los queratinocitos (Aiba S, 1984; Auböck J, 1986). Estos queratinocitos HLA-DR+ podrían presentar Ag, bajo determinadas condiciones, e inducirían de esta forma la activación de los linfocitos T (Baadsgaard O, 1988). El responsable de la expresión de dicho HLA-DR sería el IFN- γ secretado a su vez por los linfocitos T activados. Esto ha sido comprobado *in vitro* (al incubar biopsias cutáneas con IFN- γ) (Basham TY, 1984; Griffiths CEM, 1989), y también *in vivo* (la inyección subcutánea de IFN- γ origina dicha inducción en la superficie de los queratinocitos epidérmicos). Incluso se ha observado la aparición de lesiones clínicas de psoriasis en el lugar de inyección del mismo en una paciente afectada de dicha enfermedad

(Fierlbeck G, 1990).

Otra de las moléculas expresadas por el queratinocito psoriásico es la **ICAM-1**, molécula de adhesión perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas, responsable de la captación de los linfocitos T en la epidermis (Hynes RO, 1987). Al comprobarse que los queratinocitos expuestos a IFN- γ o a TNF- α se unían a los linfocitos T, se dedujo que debían participar activamente en la migración epidérmica de dichos linfocitos (Nickoloff BJ, 1987). Se comprobó que dicha unión se inhibía al preincubar los linfocitos T con un anticuerpo anti-LFA-1 (Nickoloff BJ, 1988) y no al preincubarlos con un anticuerpo anti-HLA-DR (Nickoloff BJ, 1988; Dustin ML, 1988), lo que indicaba que el HLA-DR no intervenía en dicha interacción. La LFA-1 se une normalmente a la citada ICAM-1, glucoproteína de 90-114 kD (Marlin SD, 1987), la cual se comprobó que podía ser expresada por los queratinocitos bajo el estímulo del IFN- γ . Con ello se vio que ICAM-1 y LFA-1 eran las 2 moléculas de adhesión entre el linfocito T y el queratinocito. Griffiths (Griffiths CEM, 1989) usando cultivos cortos de piel incubados con IFN- γ comprobó que la expresión de ICAM-1 por los queratinocitos se producía a las 24 horas y la de HLA-DR a las 48 horas, y que la presencia de linfocitos T intraepidérmicos se producía en las zonas de expresión de ICAM-1 y no en las de expresión de HLA-DR. Con ello concluyó que el IFN- γ , una vez liberado por los linfocitos T activados, podía ser importante en la circulación cutánea de los mismos al inducir la expresión de ICAM-1 por los queratinocitos. La interacción entre la ICAM-1 de los queratinocitos y la LFA-1 de los linfocitos T proporcionaría el anclaje estable entre las 2 células lo que permitiría que el Ag asociado al HLA-DR del queratinocito estimulase al receptor CD3 del linfocito T. La ICAM-1 sería una importante iniciadora de la interacción mientras que la molécula HLA-DR intervendría en la presentación del Ag a los linfocitos T activados tras la adherencia (Messadi DV, 1988).

Los queratinocitos psoriásicos también expresan en superficie γ -IP-10, la cual es característica de reacciones de inmunidad celular que cursan con hiperplasia epidérmica, como sucede en la prueba de la tuberculina, que da lugar a acantosis con queratinocitos HLA-DR+ y γ -IP10+ (Kaplan G, 1986). La γ -IP-10 es inducida exclusivamente por el IFN- γ y por tanto es un producto indirecto de la activación de los linfocitos T. Se ha detectado en las placas activas de psoriasis y no en la piel sana de los mismos enfermos. También se ha comprobado que el tratamiento reduce la expresión de la misma (Gottlieb AB, 1988).

Otra de las moléculas expresadas es la **UM4D4**, detectada en la superficie de los queratinocitos basales, adyacentes a las células T activadas (Baadsgaard O, 1990). El UM4D4 actúa como un receptor de factor de crecimiento y es inducido por acción de las linfoquinas.

6c. El queratinocito en el sistema inmune cutáneo

Algunos autores (Nickoloff BJ, 1991) consideran al queratinocito como la célula principal del sistema inmune cutáneo ya que puede dirigir el movimiento de las células inflamatorias dérmicas gracias su papel sobre la activación del endotelio, como comentaremos después. Los queratinocitos parecen jugar un importante papel en la iniciación y/o mantenimiento de la inflamación cutánea gracias a la producción de citocinas quimiotácticas y proinflamatorias y a la expresión de moléculas presentadoras de Ag como el HLA-DR (Nickoloff BJ, 1991; Wong R, 1993) lo cual, a su vez, puede ser puesto en marcha por citocinas derivadas del sistema inmune, como la IL-1 ó el IFN- γ y el TNF- α . El vértice de las papilas sería el camino para el transporte de señales inflamatorias siguiendo la red queratinocito-dendrocito dérmico-células endoteliales (Griffiths CEM, 1989) y la ICAM-1 sería la responsable de la atracción hacia la epidermis de los linfocitos T LFA-1+

(Nickoloff BJ, 1990).

La IL-8 podría ser la citocina queratinocitaria para el inicio de la señal ya que es quimiotáctica para los neutrófilos *in vivo* (Leonard EJ, 1991; Swenson O, 1991) y para linfocitos *in vitro* (Larsen CG, 1989) y tanto el RNA de la IL-8 como la proteína están aumentadas en las lesiones de psoriasis (Schroeder J, 1986; Nickoloff BJ, 1991; Gillitzer R, 1991). La IL-8 es un miembro de la familia de las intercrinas- α de las citocinas, que se caracterizan por su localización en el cromosoma 4q21 (Stoeckle MY, 1990; Oppenheim JJ, 1991). Las intercrinas son consideradas citocinas secundarias de la cascada de citocinas, ya que varias de ellas son inducibles por otras denominadas primarias como la IL-1 y el TNF- α en varios tipos celulares (Stoeckle MY, 1990; Oppenheim JJ, 1991). La IL-8 también actúa como una citocina secundaria en queratinocitos en cultivo, ya que su expresión es inducible por la IL-1 (Larsen CG, 1989) o por el TNF- α actuando simultáneamente con el IFN- γ (Barker JNWN, 1990).

7. LA CELULA DE LANGERHANS

Hay estudios que remarcan la importancia de la célula de Langerhans en la etiopatogenia de la psoriasis. Los cambios detectados en dicha célula son similares a las modificaciones que se ven en las reacciones de inmunidad celular (Platt JL, 1983), lo que sugiere que pueden jugar un importante papel en las fases iniciales de la psoriasis. Algunos autores han detectado un incremento de las mismas (Gottlieb AB, 1986) como sucede en otras dermatosis inmunes (dermatitis alérgica de contacto y micosis fungoide) (Marks JG, 1987; Bani D, 1987), aunque más recientemente se ha comprobado que el número depende del momento de la evolución de la lesión psoriásica (Hafték M, 1989) observándose un aumento inicial y una reducción posterior, coincidiendo con la disminución del infiltrado intraepidérmico. También se han apreciado herniaciones de los queratinocitos en íntima asociación con las células de Langerhans, lo que sugiere una interacción entre ellas. Las células de Langerhans sintetizan linfocinas y enzimas proteolíticas responsables de la activación de los queratinocitos y de cambios en la antigenicidad de las células epidérmicas, por lo que algunos autores las consideran fundamentales en la patogénesis de la psoriasis (Hafték M, 1989).

Por otra parte, muchos de los tratamientos efectivos para la psoriasis (retinoides, PUVA, corticoides, alquitranes, etc.) se ha comprobado que influyen en las células de Langerhans.

8. EL DENDROCITO DERMICO-MACROFAGO.

Otros autores proponen que la célula central en la etiopatogenia de la psoriasis es el DD-macrófago (Nickoloff BJ, 1991), ya que tiene capacidad para procesar una gran variedad de antígenos (bacterias, virus, inmunocomplejos) y sintetiza más de un centenar de potentes mediadores de la

inflamación incluyendo el TNF- α (Nathan C, 1987). Además se sitúan estratégicamente alrededor de los vasos de la dermis superior, entre los estímulos que llegan de la epidermis y los que llegan por vía hemática (Nickoloff BJ, 1990). En la dermis psoriásica se ha comprobado la presencia de células dendríticas capaces de presentar antígenos (Bos JD, 1983; Poulter LW, 1984; Bos JD, 1985), portadoras de inmunofenotipo de célula de Langerhans y de interdigitada (Bos JD, 1986), que se sabe que corresponden al DD-macrófago. El papel del DD como protagonista en la red inmunológica de la psoriasis viene determinado por ser una potente CPA e importante productor de citocinas. Esto se ha reforzado al reconocerse recientemente la importancia de los superantígenos como el estreptococo en la patogénesis de la psoriasis (Leung DYM, 1993). Tras una faringitis estreptocócica, los DD residentes, por su capacidad de captar superantígenos transportados por la sangre y de presentarlos a las células T, podrían iniciar la red de citocinas psoriásicas que dan lugar a la hiperproliferación de los queratinocitos en el compartimento epidérmico, probablemente al combinarse con un defecto genético en la puesta en marcha de dicha señal hiperproliferativa.

9. LA VASCULARIZACION EN LA PSORIASIS

Las células endoteliales se han convertido en objeto de creciente interés por múltiples investigadores, ya que están estratégicamente localizadas entre los elementos intravasculares y el parénquima de cada órgano. Los recientes estudios demuestran que no sólo proporcionan una superficie pasiva no trombogénica para el compartimento intravascular sino que intervienen activamente en la curación de las heridas, la angiogénesis, la producción de factores de la coagulación y citocinas, las metástasis de tumores, el tráfico de leucocitos, el tono vascular, etc. Juegan un papel muy activo en la creación, modulación y, probablemente, el final de la inflamación y participan integramente en la localización precisa de la respuesta inflamatoria, para lo cual secretan una serie de factores capaces de inducir la inflamación y captar leucocitos (Mantovani A, 1989; Pober JS, 1990). Entre dichos factores destaca la síntesis de 3 citocinas: IL-1, IL-6 e IL-8; 3 factores estimuladores de colonias: G-CSF, M-CSF y GM-CSF; y 2 factores quimiotácticos: el $\text{gro-}\alpha$ y el MCP (Oppenheim JJ, 1991).

En la psoriasis se ha detectado una alteración de las células endoteliales de la dermis papilar superior. Los vasos son tortuosos, hiperproliferantes y muestran un aumento de la permeabilidad (Braverman IM, 1977, Braverman IM, 1982). Uno de los primeros cambios detectados es un aumento en el flujo sanguíneo en el borde de la placa psoriásica el cual precede al infiltrado de linfocitos en la piel (Hull SM, 1989). Tanto los queratinocitos como las células mononucleares circulantes contienen factores angiogénicos (Majewski, 1987).

9a. Captación de leucocitos hacia el foco inflamatorio

La migración de los leucocitos hacia los diferentes órganos linfoides y hacia las lesiones inflamatorias crónicas es un proceso cuidadosamente

regulado por medio de moléculas de adhesión. Estas se expresan en la superficie de los leucocitos circulantes, con elevada afinidad órgano-específica por ligandos expresados en la luz de las células endoteliales (Woodruff JJ, 1987). También las células endoteliales poseen moléculas de adhesión leucocitaria (ICAM-1, Selectina E ó ELAM-1, VCAM-1), responsables de la captación de leucocitos hacia la dermis inflamada (Nickoloff BJ, 1990), y expresadas bajo la influencia de citocinas derivadas de los queratinocitos (Griffiths CEM, 1989; Nickoloff BJ, 1990). Ello hace que el queratinocito se convierta en la célula que inicia y dirige el movimiento de las células inflamatorias que infiltran la dermis. Las señales enviadas por el queratinocito se dirigen hacia el vértice de las papilas dérmicas donde contactan con los dendrocitos y las células endoteliales (Griffiths CEM, 1989). Una vez captados por el endotelio, los linfocitos T CD4+ LFA-1+ VLA-4+ y, probablemente, CLA+, son atraídos hacia la epidermis gracias a factores quimiotácticos y anclados al queratinocito por medio de la ICAM-1 expresada por los queratinocitos (Nickoloff BJ, 1990). La transformación del endotelio dérmico en uno con fenotipo receptor de linfocitos podría ser el mecanismo que promueve la migración de los linfocitos T a los lugares enfermos (Chin YH, 1990), mientras que la selectividad de las moléculas de adhesión del endotelio dérmico para las células CD4+ (Nickoloff BJ, 1990) explicaría el predominio de linfocitos T helper en la mayoría de procesos inflamatorios dérmicos. Al parecer el TGF- β puede reducir la adhesión de los linfocitos al endotelio psoriásico (Chin YH, 1989), mientras que otras citocinas, especialmente el IFN- γ , y en menor medida la IL-1 y el TNF y polisacáridos bacterianos la estimulan (Cai JP, 1991). El tratamiento con corticoides, con PUVA o con UVB y alquitranes impide esta adhesión (Chin YH, 1990).

Para que los leucocitos alcancen la piel deben unirse en primer lugar a las células endoteliales, atravesarlas transendotelialmente (diapédesis)

para llegar a la dermis y finalmente alcanzar la epidermis. Los primeros pasos se dan en las vénulas postcapilares, donde el flujo es más lento y vienen determinados por la expresión endotelial de selectina-P, que facilita el "enrollamiento" de los leucocitos y su marginación hacia la pared vascular. Este es un proceso corto que se sigue de cambios dictados por citocinas, con la expresión de la selectina-E y la posterior adherencia reversible, transitoria, de los leucocitos a las células endoteliales. Esta adherencia es simplificada y amplificada por la naturaleza rugosa de la superficie luminal de las células endoteliales, lo cual aumenta el área disponible para la unión y rompe la dinámica del flujo sanguíneo.

El segundo paso de la unión leucocito-célula endotelial es debido a la interacción entre integrinas y moléculas de la superfamilia de las inmunoglobulinas, lo cual origina el freno de la progresión de los leucocitos en el vaso. Las integrinas LFA-1 y VLA-4, expresadas en la superficie del linfocito T activado, se unen a las moléculas ICAM-1 y VCAM-1 de la superfamilia de las inmunoglobulinas, expresadas por las células endoteliales (Dustin ML, 1991). Esta unión es transitoria y permite la migración transendotelial del linfocito en respuesta a señales quimiotácticas.

En la atracción de los leucocitos hacia el foco inflamatorio en la psoriasis y otras dermatosis parece jugar un papel fundamental la Selectina E (ELAM-1), que no parece verse influida por el efecto del IFN- γ (Groves RW, 1991). En la psoriasis los neutrófilos se localizan alrededor de las células endoteliales selectina-E. Recientemente se ha comprobado que dicha Selectina-E interviene también como mediadora de la adhesión de las células mononucleares al endotelio vascular (Bevilacqua MP, 1989) actuando mediante un mecanismo diferente de la vía ICAM-1/LFA-1, como parece suceder en la psoriasis (Chin YH, 1990).

En la psoriasis se ha comprobado una elevada expresión endotelial

de ICAM-1, selectina-E y VCAM-1 (Griffiths CEM, 1989; Vejlsgaard GL, 1989; Osborn L, 1989) y la presencia de linfocitos T. La expresión de moléculas de adhesión es dinámica y funcional ya que se ha demostrado la unión de linfocitos T activados a la epidermis y al endotelio de biopsias de psoriasis pero no a la piel normal (Chin YH, 1990; Barker JNWN, 1992). Wakita (Wakita H, 1994) ha demostrado que la mayoría de los linfocitos T CD4+ del infiltrado de las lesiones de psoriasis son CD45RO+, LFA-1+ y VLA-4+, lo que corresponde a los linfocitos residentes en la piel. Falta comprobar si son CLA+, lo que confirmaría la existencia de un subtipo residente en la piel.

El nexo de unión entre la hiperplasia epidérmica y la inflamación dérmica puede conseguirse gracias a la acción de citocinas y factores de crecimiento.

10. CITOCINAS

Las citocinas (interleucinas, interferones y factores de crecimiento) son pequeños polipéptidos que sirven como mensajeros entre células e intervienen en procesos inmunológicos e inflamatorios (Balkwill FR, 1990). Actúan sobre la célula diana al unirse a receptores específicos de membrana a concentraciones picomolares. Son sintetizadas por los linfocitos y por otras células cutáneas como los queratinocitos, los fibroblastos y las células endoteliales, que además tienen receptores específicos para las mismas. La liberación de citocinas es direccional. Las linfocinas de los linfocitos T son secretadas hacia la célula que le ha presentado el antígeno y que la ha activado a través de su receptor CD3 (Poo W, 1988). La contigüidad entre ambas células (facilitada por la interacción entre sus moléculas de adhesión) hace que la concentración de linfocina que recibe sea extraordinariamente elevada, mientras que será baja en las células vecinas. Esto es importante en las interacciones linfocito T-queratinocito. Una vez se ha activado, el queratinocito se hace sensible a la IL-1 autocrina o exocrina debido a un aumento en la expresión del rIL-1 (Kupper TS, 1988). Al mismo tiempo es capaz de liberar IL-6 e IL-8, factor estimulador de colonias de granulocitos, macrófagos y granulocitos-macrófagos y quizá TNF, todos ellos muy importantes en la patogénesis de múltiples dermatosis.

10a. Las citocinas en la psoriasis

La importancia de las citocinas en la psoriasis se empezó a sospechar al comprobar que los sobrenadantes de células mononucleares tenían efectos tanto inhibitorios como estimulantes sobre cultivos de células HeLa (Krueger GG, 1980), mientras que los obtenidos de enfermos con psoriasis, tenían un menor efecto inhibitorio y un mayor efecto estimulador. De ello se dedujo que la hiperplasia epidérmica resultaría de un desequilibrio entre

estos mediadores. Korszun (Korszun AK, 1981) inyectó en la piel linfocinas, obtenidas de un sobrenadante de linfocitos estimulados de cobaya, observando un aumento de la actividad mitótica epidérmica y paraqueratosis. Estas linfocinas se denominaron factores de proliferación epidérmicos (EPF).

¿Que linfocinas han sido implicadas en la patogénesis de la psoriasis?.

Se ha comprobado que los queratinocitos psoriásicos expresan cantidades elevadas de IL-1, IL-6 (Ohta Y, 1991), IL-8 (Gillitzer R, 1991; Stricherling M, 1991) y TGF- α (Khandke L, 1991). Entre ellas, la IL-6 y el TGF- α podrían actuar como factores de crecimiento autocrino (Krueger JG, 1990), mientras que la IL-8 actuaría como quimiotáctica para linfocitos T y neutrófilos (Barker JNWN, 1991). La expresión de TGF- α parece estar inducida por IFN- γ , IL-1 α , IL-6 e IL-8 (Gottlieb AB, 1990; Lee SW, 1991; Valvy Nagy I, 1992).

La IL-1 es una citocina proinflamatoria y se había visto que la inyección subcutánea de la misma originaba migración de neutrófilos (Granstein RD, 1986). La mayoría de células la sintetizan, incluyendo los queratinocitos y las células de Langerhans, al parecer en respuesta al estímulo del IFN- γ . Al principio se consideró que era una de las citocinas básicas en la patogénesis de la psoriasis ya que podría ser la responsable de la captación de neutrófilos y de signos inflamatorios como eritema y edema (Dowd PM, 1987). También se comprobó que podía estimular el crecimiento de los queratinocitos (Ristow HJ, 1987; Sauder DN, 1988), inducir la activación de linfocitos en la epidermis y que había un acúmulo de la misma en placas y escamas de psoriasis (Konnikov N, 1987), especialmente el subtipo IL-1 α (Camp RDR, 1986). Se sabe que en la epidermis humana existen enormes cantidades de IL-1, que los queratinocitos pueden expresar un mayor número de rIL-1 que cualquiera de las células estudiadas hasta ahora (Kupper T, 1988) y que la

sensibilidad de una célula para la IL-1 es proporcional al número de receptores para la misma que expresa (Curtis B, 1989). En la epidermis sana dichos receptores están presentes en escasa cantidad, aunque se ha comprobado, *in vitro*, que diversos estímulos pueden aumentar la expresión de los mismos (forbolésteres, calcio, citocinas de los linfocitos T). En la psoriasis, la activación de los linfocitos T da lugar a la liberación de IFN- γ el cual induce la expresión de rIL-1 por el queratinocito facilitando con ello su activación. Es característico de la psoriasis un aumento de queratinocitos activados, (Kupper TS, 1989) ya sea por una mayor sensibilidad a la IL-1 o porque expresan un mayor número de receptores en superficie. Estudios recientes contradicen los anteriores, al haberse detectado que en la psoriasis, al contrario de lo que cabría esperar, existe una reducción de la actividad de IL-1 en las placas (Cooper KD, 1990), lo que ha puesto en duda la importancia de la misma en la patogénesis de la psoriasis.

Otra de las linfocinas que puede relacionar la hiperplasia epidérmica y el infiltrado inflamatorio dérmico es la **IL-6**. Esta citocina es sintetizada por varias células (fibroblastos, macrófagos, células endoteliales, linfocitos T y queratinocitos) (Sehgal PB, 1989) y se ha visto que está aumentada en las placas de psoriasis y en el suero de los pacientes (Grossman RM, 1989), que estimula la proliferación de los queratinocitos en cultivo, y que aumenta la proliferación y activación de linfocitos T y B y activa los macrófagos. Además es inductora de la proteína C reactiva y un potente pirógeno, lo que explicaría la fiebre y el aumento de proteína C reactiva en las formas graves de psoriasis como el von Zumbush o la eritrodermia (Nickoloff BJ, 1991).

La **IL-8**, un potente quimioattractante de neutrófilos, también está aumentada en la psoriasis (Camp RDR, 1989), lo mismo que su RNAm. La IL-8 puede ser expresada por las células T (Zipfel PF, 1991), los macrófagos (Mrowietz U, 1991) y los fibroblastos, aunque también se ha detectado una

expresión elevada en los queratinocitos psoriásicos (Gillitzer R, 1991). Esta IL-8 queratinocitaria podría ser expresada en respuesta a la IL-8 de los linfocitos T o bien de la derivada de los macrófagos (Stoof TJ, 1992). Se ha comprobado que la IL-8 puede estimular el crecimiento de queratinocitos en sistemas de cultivo organotípicos (Reusch MK, 1990).

También el **TNF- α** de los macrófagos puede ser importante ya que se ha comprobado un incremento del mismo en la lesión psoriásica y en el suero de los pacientes (Gomi T, 1991). Los signos indirectos de su importancia son el incremento de IL-6 y IL-8 en la epidermis y en las escamas de psoriasis (Gearin AJH, 1990) y la expresión focal de ICAM-1 (Gerdes J, 1984; Singer K, 1989). Los vasos dérmicos rodeados de dendrocitos expresan de forma simultánea ICAM-1, ELAM-1 y VCAM-1 lo cual únicamente se produce por acción de TNF- α (Nickoloff BJ, 1991). El TNF- α , al ser inyectado en piel de ratón, produce hiperplasia epidérmica (Piquet PF, 1990). Se ha detectado que los queratinocitos activados también pueden secretar TNF- α (Köck A, 1990).

Otra de las linfocinas básicas parece ser el **IFN- γ** . Bjerke (Bjerke JR, 1983) detectó IFN- γ y pequeñas cantidades de IFN- α en el líquido de ampollas por succión de las lesiones de psoriasis. El IFN- γ derivaría de linfocitos T activados y el IFN- α de monocitos-macrófagos. El IFN- γ puede inducir la expresión de HLA-DR en varias células incluyendo los queratinocitos, las células de Langerhans y las células endoteliales (Basham TY, 1984) y puede estimular la producción de IL-1. Induce la expresión del rIL-1 lo que origina la activación de los queratinocitos (Kupper TS, 1988), y de ICAM-1 (Griffiths CEM, 1989). La presencia de queratinocitos HLA-DR+, ICAM-1+ y γ -IP-10+ en las placas es una evidencia indirecta de la acción del IFN- γ (Gottlieb AB, 1986; Gottlieb AB, 1988). Como hemos dichos antes, la administración intradérmica de IFN- γ puede inducir lesiones en la piel sana de pacientes

con psoriasis (Fierlbeck G, 1990) y lesiones psoriasiformes en pacientes con lepra o queloides (Nathan CF, 1986; Granstein RD, 1990). Recientemente se ha detectado un aumento de IFN- γ en la epidermis psoriásica (Barker JNWN, 1991). El IFN- α 2 también puede exacerbar una psoriasis preexistente (Siohara T, 1988).

El TGF- α es un factor de crecimiento autocrino producido por los propios queratinocitos que está aumentado en las placas de psoriasis (Gottlieb AB, 1988). El 40% de los queratinocitos psoriásicos en cultivo se tiñen con anticuerpo anti-TGF- α . La tinción aumenta en intensidad si se añade al cultivo IL-6, sin aumentar el n° de queratinocitos teñidos. Si añadimos IFN- γ el 80-90% de los queratinocitos se hacen TGF- α + (Krueger GG, 1990), por lo que es posible que en las placas de psoriasis, el aumento de producción de IL-6 o IFN- γ conduzca a una hiperplasia epidérmica al causar un aumento de expresión de TGF- α .

De los hallazgos comentados podemos resumir que en una reacción inflamatoria como la psoriasis, se produce la síntesis y liberación de citocinas queratinocíticas en cascada de forma coordinada (IL-1, IL-6 e IL-8, TNF- α y TGF- α), quizá por compartir vías de transducción de señales en respuesta a las células T. Esto conduce a la migración de células inflamatorias y linfocitos T a la piel y a la activación de las mismas. Los linfocitos T activados liberan IFN- γ que induce la expresión de ICAM-1 y rIL-1 por los queratinocitos, lo que facilita su proliferación y la captación de linfocitos T en la epidermis (Dustin MI, 1986). Los linfocitos T LFA-1+ se unen a los queratinocitos por vía de la ICAM-1. Aunque no se conoce bien el estímulo inicial podría ser cualquiera de los inmunógenos mencionados previamente.

11. TRATAMIENTOS

11a. Ciclosporina A.

Muchos de los fármacos activos en la psoriasis tienen actividad inmunológica. La Ciclosporina A es un endecapéptido cíclico, derivado de unos hongos, que se usa como inmunosupresor, especialmente en casos de trasplante de órganos. Se considera un agente inmunosupresor relativamente específico (Kahan BD, 1982) por lo que su efectividad en la psoriasis se cita como evidencia del papel central del sistema inmune en la patogénesis de la psoriasis (Cooper KD, 1990; Barker JNWN, 1991). Su acción antilinfocitaria fue descrita por vez primera por Borel (Borel JF, 1986) y posteriormente se ha comprobado que es un agente eficaz y relativamente inocuo en el tratamiento de las formas graves de psoriasis vulgar (Haürper JI, 1984; Ellis CN, 1986; Marks JM, 1986; Wentzell JM, 1987; van Joost T, 1988), tanto a dosis elevadas (Ellis CN, 1986) como a dosis bajas (Ellis CN, 1991) y en la psoriasis pustulosa aguda (Meinardi MMHM, 1987). Se ha visto que *in vitro* tiene una fuerte actividad frente a linfocitos T y células presentadoras de antígeno (Shevach EM, 1985; Furue M, 1988). *In vivo*, a dosis bajas, da lugar a la desaparición de las células inmunes de la piel incluso antes de que mejore la clínica (Gupta AK, 1989), aunque a dosis elevadas (2-10 μ g/ml) tiene un efecto antiproliferativo sobre queratinocitos humanos y murinos en cultivo (Furue M, 1988; Kanikatis J, 1990; Wong R, 1993). Se ha comprobado que los niveles detectados en la piel, tras la administración oral de dosis antipsoriásicas efectivas se acercan a dicho rango (Ellis CN, 1991) por lo que también podría actuar en la psoriasis inhibiendo la proliferación de dichos queratinocitos. Otros autores opinan que a las dosis utilizadas, es poco probable que pueda tener un efecto directo sobre la proliferación de los queratinocitos (Kato N, 1987; Fisher GJ, 1988) ya que consideran que se

necesitaría una dosis 20-50 veces mayor de la alcanzable después de una dosis oral de 10 mg/kg/d. La Ciclosporina A no es citotóxica ni citostática y tampoco afecta la función de los neutrófilos (Kharazmi A, 1985), inhibe la función de las células presentadoras de antígeno, la activación y proliferación de las células T y la liberación de linfocinas, al interferir con la maquinaria transcripcional del gen de la IL-2. No se ha detectado una acción similar sobre los genes del crecimiento de los queratinocitos. Todos estos datos en conjunto sugieren que los efectos *in vivo* de la Ciclosporina A sobre la proliferación y diferenciación de los queratinocitos en la psoriasis están mediados por mecanismos inmunes. Recientemente Elder (Elder JT, 1993), con el fin de determinar si la CyA actúa sobre el queratinocito o bien sobre la célula T, estudia el efecto de dosis bajas de la misma (3-7.5 mg/kg) en tratamientos cortos (1 semana) sobre la expresión de IL-8 e IL-1 β en biopsias cutáneas de psoriasis. Antes del tratamiento la expresión de ambas citocinas fue muy variable y sin correlación con la severidad clínica. Al cabo de una semana, antes de iniciarse la mejoría clínica, se detectó una reducción significativa del RNAm de ambas citocinas y de la proteína IL-1 β , lo que sugiere que ambas citocinas de respuesta están afectadas por un estímulo proximal común, el cual es inhibido por la CyA. Todos los enfermos mejoraron, no sólo los que presentaban una elevada expresión de IL-8 y/o IL-1 β , lo que sugiere que la CyA inhibe diferentes vías de la inducción de señales. *In vitro* la CyA no inhibió la expresión de IL-8 por los queratinocitos, incluso a dosis mayores de las necesarias para inhibir la respuesta linfocitaria mixta, ni de RNAm de ICAM-1 y tampoco se modificó dicho RNAm en respuesta al IFN- γ y TNF- α . Esto sugiere que los queratinocitos epidérmicos responden a señales producidas por las células T activadas mediante la expresión coordinada de múltiples citocinas y que la CyA actúa primariamente bloqueando las células T y no los queratinocitos. Dado que la mejoría clínica se

alcanza al cabo de 6-8 semanas, mientras que los niveles de expresión de citocinas se redujo al cabo de 1 semana, se sugiere que el queratinocito psoriásico, una vez iniciado, sea capaz de mantener una respuesta hiperproliferativa gracias a una vía autocrina independiente de la CyA, tal como una sobreexpresión de receptores EGF-like TGF- α y antirregulina (Gottlieb AB, 1988; Elder JT, 1989; Gottlieb AB, 1992; Cook PW, 1992).

11b. Fototerapia y fotoquimioterapia

También actúan como inmunosupresores otros antipsoriásicos. Los rayos UV se ha demostrado que afectan el sistema inmune. Pueden modificar e inhibir la función de las células de Langerhans e inducir la aparición de células presentadoras de antígeno diferentes que activan los circuitos de las células T supresoras, cambiar la migración de los linfocitos, actuar sobre la producción y secreción de interleucinas, disminuir la respuesta a alérgenos de contacto y modular la inmunovigilancia de la aparición de tumores cutáneos. La PUVA-terapia es muy eficaz para el tratamiento de la psoriasis, induce la desaparición de los marcadores de superficie de las células de Langerhans (Tjernlund U, 1982), de los linfocitos T y de las células DR+ T6- de la epidermis lesionada (Baker BS, 1984; Czernilewski JM, 1984). También podrían actuar interfiriendo la proliferación epidérmica, el número y función de las células presentadoras de antígeno o induciendo la producción de células T inmunosupresoras. El primer cambio que se observa tras tratamiento con PUVA es una reducción importante en el número de linfocitos T epidérmicos, mientras que la normalización del número de células dendríticas HLA-DR+ sólo se produce después de iniciarse el blanqueamiento.

11c. Corticoides tópicos

Los corticoides tópicos hacen desaparecer los receptores CD1 y HLA-

DR de las células de Langerhans con lo que suprimen su función de presentación de antígeno (Baker BS, 1985). Por otra parte inhiben la secreción de linfocinas por las células T.

Otros tratamientos eficaces en la psoriasis (metotrexate, hipotermia, antralina) también inhiben la activación de las células T (Morhenn VB, 1983).

11d. Retinoides

Los retinoides, además de su efecto sobre la diferenciación de los queratinocitos, alteran las interacciones entre las células presentadoras de antígeno y las células T, inhiben la mitogénesis de los linfocitos T (Morhenn VB, 1983) y además reducen la síntesis de IL-1 epidérmica (Sherbany A, 1987).

III. HIPOTESIS DE TRABAJO

La teoría inmune en la patogénesis de la psoriasis se fundamenta en la presencia de LT activados y en la detección de linfocinas y factores de crecimiento en las placas. Se apoya en la aparición de lesiones "en gotas" tras una amigdalitis estreptocócica (como la glomerulonefritis o la fiebre reumática) y la asociación a determinados HLA. En las lesiones activas predominan los LT cooperadores, mientras que la resolución de las placas se caracteriza por un influjo de LTs. Una vez activados, los LT secretan IFN- γ que induce la expresión de ICAM-1 por el queratinocitos, lo cual a su vez facilita la captación de los linfocitos en la epidermis. En su localización intraepidérmica, los linfocitos T se sitúan en yuxtaposición a los queratinocitos. Esto sugiere que existe un intercambio de citocinas entre ambas células, unidas por sus respectivas moléculas de adhesión (ICAM-1 y LFA-1). Las citocinas linfocitarias darán lugar a la proliferación y diferenciación del queratinocito y las de éste mantendrán al linfocito T permanentemente activado. En la teoría inmune, la actividad de los fármacos antipsoriásicos se debería a su efecto inmunomodulador.

Siguiendo dicha teoría debería haber diferencias significativas entre las características del infiltrado dérmico y epidérmico en la neurodermitis (provocada principalmente por el efecto mecánico del rascado y perteneciente a la esfera de la dermatitis atópica), el liquen plano y la psoriasis.

Además, mediante una técnica de doble tinción, los queratinocitos en fase de proliferación, deberían verse en la proximidad de células inmunes que invadirían la epidermis y que expresarían moléculas de activación en superficie.

Con el fin de corroborar la hipótesis anterior, se proponen los objetivos siguientes, teniendo como metodología de trabajo, tanto en cuanto a población a estudiar como a material y métodos, la que se expone posteriormente.

Objetivos

IV. OBJETIVOS

Objetivos

1. Determinar la **actividad proliferativa** de los queratinocitos y de las células inmunes dérmicas en biopsias cutáneas de pacientes con psoriasis.

1a. Comparar dicha actividad proliferativa en el centro de las biopsias de psoriasis respecto a la zona de transición y el borde libre de las mismas.

1b. Comparar dichos resultados con los obtenidos tras 2 semanas de tratamiento con antralina.

1c. Comparar los resultados obtenidos en el centro de las biopsias de psoriasis con los obtenidos en biopsias de pacientes con liquen plano o neurodermitis.

2. Determinar las **subpoblaciones celulares, la expresión de antígenos de activación celular y la expresión de moléculas de adhesión** en el infiltrado dérmico y epidérmico de biopsias cutáneas de pacientes con psoriasis.

2a. Comparar dichos resultados con los obtenidos a las 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.

2b. Comparar dichos resultados con los obtenidos en biopsias de pacientes con una dermatitis clínica e histopatológicamente similar como es la neurodermitis (perteneciente al espectro de la dermatitis atópica) y con biopsias de pacientes con otra dermatitis de probable causa autoinmune como es el liquen plano.

3. En la **zona de transición** de las lesiones de psoriasis observar si la expresión de antígenos de activación linfocitarios se produce antes o después del inicio de la acantosis epidérmica.

3b. En dicha zona observar si es más precoz el inicio de la proliferación de los inmunocitos dérmicos o bien la de los queratinocitos.

4. Mediante una técnica **inmunohistoquímica de doble tinción secuencial**, determinar:

4a. La naturaleza de las células Ki-67+ en el infiltrado dérmico de

Objetivos

biopsias de pacientes con psoriasis (el tipo de subpoblaciones celulares en fase de proliferación y qué antígenos de activación y moléculas de adhesión expresan dichas células).

4b. Si existe relación espacial entre los queratinocitos que expresan Ki-67 y las células inmunitarias que invaden la epidermis.

4c. Si en la epidermis se produce proliferación de dichos inmunocitos.

4d. Si mediante esta técnica existe relación entre los linfocitos que expresan LFA-1 y los queratinocitos que expresan ICAM-1.

Objetivos

IV. PARTE EXPERIMENTAL

1. POBLACIÓN ESTUDIADA, MATERIAL Y MÉTODOS

a. Población estudiada

Durante el periodo comprendido entre junio de 1990 y agosto de 1993, se realizaron un total de 148 biopsias cutáneas en cuña a 148 pacientes, de las que fueron válidas para estudio anatomopatológico e inmunohistoquímico un total de 128.

90 de las biopsias correspondían a pacientes con psoriasis. 74 antes de iniciar el tratamiento (24 psoriasis en gotas y 50 psoriasis en placas), y 16 al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5% en vaselina. En 13 de las primeras 74 se incluyó un 50% de piel sana con el fin de comparar la proliferación celular en el centro de las lesiones con la de la zona de transición y la de los bordes.

También se realizaron 24 biopsias cutáneas en cuña a pacientes afectados de liquen plano y a 14 afectados de neurodermatitis, con el fin de comparar los resultados.

a1. De los 74 pacientes con **psoriasis** (tablas Va, b y fig 1), 24 padecían psoriasis en gotas y 50 psoriasis en placas, 28 fueron mujeres y 46 eran varones, con edades comprendidas entre los 9 y los 80 años, con una media de edad de 43.99 ± 18.26 años. En ningún caso habían recibido tratamiento en las 4 semanas antes de iniciar el estudio (excepto en aquellos casos escogidos con el fin de comparar los resultados). Los pacientes padecían psoriasis desde hacía 54.99 ± 98.03 meses (desde 1 mes hasta 50 años), mientras que las lesiones biopsiadas tenían un antigüedad de 30.38 ± 68.67 meses (desde 1 mes hasta 43 años). En 17 pacientes las biopsias fueron tomadas de lesiones en los brazos, en 34 en las piernas, en 18 en el tronco, en 3 en el cuero cabelludo, y en 2 en palmas y plantas.

En todos los casos de psoriasis el diagnóstico fue clinicopatológico, escogiendo como muestra para el estudio aquellos pacientes que presentaban lesiones típicas (placas eritematodescamativas, con descamación

blanco-nacarada en superficie, localizadas en codos, rodillas, y/o superficie de extensión de extremidades, o bien, pápulas de características similares y de distribución más dispersa) en los que la histología fue también típica. Aquellos casos en que existieron duda diagnóstica o bien no hubo una buena correlación clinicopatológica fueron excluidos del estudio.

TABLA Va . CARACTERISTICAS GENERALES. PSORIASIS EN PLACAS

Pac n°	Sexo	Lug biop	Ev Enf	Ev Les	Edad
3	1	1	12,0	5,0	29
6	2	1	24,0	24,0	40
9	1	2	120,0	2,0	62
10	1	1	144,0	144,0	36
17	1	2	84,0	84,0	65
18	2	2	36,0	36,0	43
20	1	3	1,0	1,0	45
21	2	2	1,0	1,0	42
27	1	2	12,0	3,0	23
29	2	2	60,0	12,0	39
33	1	1	240,0	3,0	29
37	2	4	156,0	156,0	25
39	1	2	120,0	120,0	39
40	1	2	84,0	24,0	42
41	1	3	6,0	6,0	56
45	1	2	132,0	24,0	58
48	2	2	72,0	24,0	48
49	1	2	48,0	12,0	46
60	2	5	12,0	12,0	29
62	2	3	7,0	7,0	74
63	1	2	24,0	24,0	57
68	1	2	72,0	72,0	52
70	2	1	516,0	516,0	57
72	1	1	36,0	36,0	47
76	2	1	24,0	6,0	47
77	1	5	6,0	6,0	71
78	1	2	36,0	36,0	59
79	2	1	12,0	12,0	80
81	2	1	36,0	36,0	24
82	2	2	48,0	48,0	29
83	2	3	36,0	8,0	76
89	2	2	12,0	12,0	59
94	1	2	156,0	156,0	53
106	2	2	120,0	120,0	23
108	1	4	24,0	24,0	23
110	2	1	8,0	8,0	52
112	2	4	24,0	24,0	27
113	2	1	1,0	1,0	60
114	2	2	144,0	6,0	63
115	1	3	60,0	12,0	66
121	1	2	12,0	3,0	56
123	1	2	1,0	1,0	24
128	1	1	36,0	36,0	75
130	1	2	120,0	120,0	53
136	1	2	12,0	3,0	34
137	1	2	36,0	6,0	57
138	2	1	24,0	24,0	40
142	1	2	72,0	72,0	52
144	1	2	24,0	24,0	57
145	1	3	12,0	12,0	65

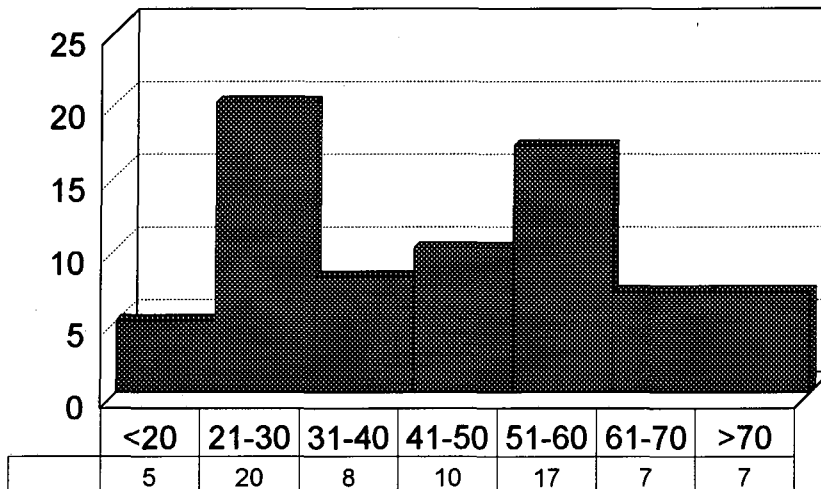
Abreviaturas: Sexo: 1=varón; 2=hembra. Lug biop=lugar donde se practicó la biopsia (1=brazos; 2=piernas; 3=tronco; 4=cuero cabelludo; 5=palmas y plantas). Ev Enf=Tiempo de evolución de la enfermedad, en meses. Ev Les=Tiempo de evolución de la lesión biopsiada, en meses

TABLA Vb. CARACTERISTICAS GENERALES. PSORIASIS EN GOTAS

Pac n°	Sexo	Lug biop	Ev enf	Ev les	Edad
1	2	2	84,0	7,0	32
7	1	3	2,0	2,0	57
16	1	3	12,0	1,0	26
19	1	3	1,0	1,0	45
22	2	2	600,0	1,0	62
31	2	2	72,0	6,0	27
36	2	3	1,0	1,0	20
38	2	3	4,0	4,0	21
42	1	2	4,0	4,0	58
44	1	3	60,0	2,0	15
51	1	3	1,0	1,0	42
56	1	3	3,0	3,0	9
65	1	3	1,0	1,0	18
75	1	1	60,0	1,0	15
85	1	1	12,0	12,0	76
88	1	3	1,0	1,0	23
92	2	2	1,0	1,0	29
93	1	2	1,0	1,0	32
96	1	3	2,0	2,0	23
97	1	1	3,0	3,0	23
101	1	2	2,0	2,0	22
111	1	2	24,0	24,0	75
116	1	3	2,0	2,0	69
125	2	1	1,0	1,0	28

Abreviaturas: Sexo: 1=varón; 2=hembra. Lug biop=lugar donde se practicó la biopsia (1=brazos; 2=piernas; 3=tronco; 4=cuero cabelludo; 5=palmas y plantas). Ev Enf=Tiempo de evolución de la enfermedad, en meses. Ev Les=Tiempo de evolución de la lesión biopsiada, en meses

Fig 1. Psoriasis. Distribución por edades.



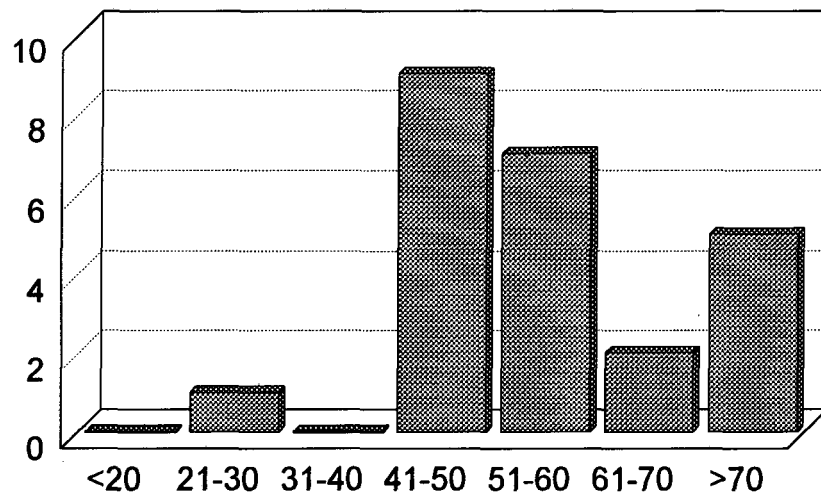
a2. El diagnóstico de **liquen plano** también fue clinicopatológico. Este grupo incluía 24 pacientes (tabla VI y Fig 2), de edades comprendidas entre los 25 y los 91 años, con una media de 55.13 ± 15.30 años. 10 pacientes eran varones y 14 mujeres. La evolución de las lesiones era de 0.5 hasta 120 meses, con un promedio de 14.94 ± 33.37 meses. En 8 casos las biopsias fueron tomadas de los brazos, en 13 de las piernas y 3 de lesiones del tronco.

TABLA VI. CARACTERÍSTICAS GENERALES. LIQUEN RUBER PLANO.

Pac n°	Sexo	Loc bio	Ev Eru	Ev les	Edad
5	2	2	36,0	36,0	55
8	1	1	3,0	3,0	41
12	1	2	4,0	4,0	43
26	2	2	10,0	10,0	57
32	2	2	6,0	6,0	65
46	2	1	3,0	3,0	52
47	2	1	2,0	2,0	73
53	2	1	1,0	1,0	53
54	2	3	1,0	1,0	54
55	2	2	24,0	24,0	44
57	1	2	4,0	4,0	41
66	1	1	2,0	2,0	25
71	2	2	,5	,5	55
74	2	1	1,0	1,0	45
80	2	3	1,0	1,0	91
99	2	2	120,0	120,0	81
102	1	2	1,0	1,0	44
127	1	2	1,0	1,0	49
129	1	1	36,0	1,0	59
132	2	1	4,0	4,0	77
134	2	2	1,0	1,0	44
135	1	2	120,0	120,0	62
143	1	2	4,0	4,0	41
146	1	3	8,0	8,0	72

Abreviaturas: Sexo: 1=varón; 2=hembra. Lug biop=lugar donde se practicó la biopsia (1=brazos; 2=piernas; 3=tronco; 4=cuero cabelludo; 5=palmas y plantas). Ev Enf=Tiempo de evolución de la enfermedad, en meses. Ev Les=Tiempo de evolución de la lesión biopsiada, en meses

Fig 2. Liquen plano. Distribución por edades



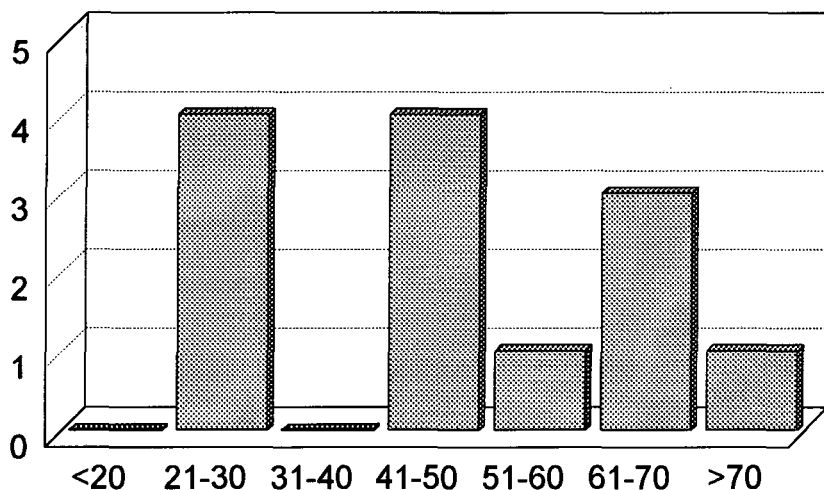
a3. El diagnóstico de **neurodermitis** (tabla VII y fig 3) también se realizó desde un punto de vista clinicopatológico. Este grupo incluía 14 pacientes (tabla VII y Fig 3), de edades comprendidas entre los 21 y los 80 años, con una media de 45.5 ± 18.21 años. 8 pacientes eran varones y 6 mujeres. La evolución de las lesiones era de 1 mes hasta 9 años con una media de 23.29 ± 28.49 meses. En 5 casos las biopsias fueron tomadas de lesiones de los brazos, en 8 de las piernas y en 1 caso de lesiones del tronco.

TABLA VII. NEURODERMITIS. CARACTERISTICAS GENERALES

Pac nº	Sexo	Lug biop	Ev enf	Ev les	Edad
11	1	2	6,0	6,0	21
15	1	2	6,0	6,0	25
24	1	2	48,0	48,0	68
67	2	3	1,0	1,0	21
69	1	2	12,0	12,0	53
95	1	1	6,0	6,0	49
98	2	2	108,0	108,0	42
104	2	2	96,0	6,0	25
105	1	1	36,0	36,0	43
120	1	1	1,0	1,0	80
133	2	1	24,0	24,0	61
141	2	1	24,0	24,0	61
147	2	2	12,0	12,0	45
148	1	2	36,0	36,0	43

Abreviaturas: Sexo: 1=varón; 2=hembra. Lug biop=lugar donde se practicó la biopsia (1=brazos; 2=piernas; 3=tronco; 4=cuero cabelludo; 5=palmas y plantas). Ev Enf=Tiempo de evolución de la enfermedad, en meses. Ev Les=Tiempo de evolución de la lesión biopsiada, en meses

Fig 3. Neurodermitis. Distribución por edades.



b. MATERIAL Y METODOS

Bajo anestesia local con mepivacaína realizamos biopsias en cuña de lesiones cutáneas, de aproximadamente 0.5 cm de largo, de 74 pacientes con psoriasis (24 psoriasis en gotas y 50 psoriasis en placas). En 13 de éstos se realizaron biopsias de aproximadamente 1 cm de longitud, que incluían un 50% de piel sana. También se practicaron biopsias a 16 pacientes al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.

Las biopsias cutáneas de pacientes con liquen plano y con neurodermitis fueron obtenidas incluyendo únicamente el centro de la lesión.

En todos los casos el diagnóstico fue clinicopatológico, y se excluyeron del estudio aquellos pacientes en los que existían dudas diagnósticas.

Todas las biopsias fueron cortadas en 2 partes iguales. 1 trozo fue incubado en formol para su procesamiento posterior en parafina y tinción con hematoxilina-eosina. La otra mitad fue colocada sobre un corcho, cubierta con OCT (Reichert Jung) e inmediatamente sumergida en un recipiente que contenía 2-metilbutano previamente congelado en nitrógeno líquido. Una vez congelada la pieza se almacenó a -80°C para su posterior procesamiento.

Mediante criostato se practicaron cortes de 5μ que sobre un portaobjetos gelatinizado se dejaron secar a T° ambiente durante 24 horas. Luego los cortes se fijaron en acetona durante 10 minutos, se dejaron secar nuevamente a T° ambiente durante 30 minutos y se almacenaron nuevamente en el congelador a -80°C .

La gelatinización de los portaobjetos se realizó mediante la inmersión de los mismos durante 5 minutos en una solución de agua destilada a 20°C con gelatina (DIFCO Ref 0143-01) al 1/200 y cromo sulfato potásico (PANREAC cod 141284) al 1/2000.

b1. Técnica de inmunohistoquímica

El procesamiento de las piezas congeladas se inició con una hidratación en PBS de 10 min, seguida de un baño en peróxido de hidrógeno al 3% de unos 5 minutos con el fin de inhibir la peroxidasa endógena. Tras un nuevo lavado y baño en PBS de 5 min se realizó el bloqueo de los antígenos inespecíficos mediante incubación durante 10 min en suero normal de carnero (no inmune) prediluido con Tris 0.05M a pH 7,6. Posteriormente las piezas fueron incubadas durante 10 min con los diferentes anticuerpos monoclonales de ratón, diluidos con PBS, a las concentraciones que se indican en la tabla VIII. Tras un nuevo lavado en PBS de 5 min, se realizó la incubación con un anticuerpo secundario de carnero anti-ratón, biotinado, prediluido con Tris 0.05M a pH 7,6, durante 10 min. Se lavó de nuevo en PBS y se añadió estreptavidina conjugada con peroxidasa, durante 10 min, con el fin de amplificar la reacción. El procedimiento se realizó con el Kit DAKO LSAB K680 basado en una técnica de estreptavidina-biotina (Hsu SM, 1981). Finalmente se puso de manifiesto la reacción mediante el uso de tetracloruro de 3,3'-diaminobencidina (DAB) (Dako, Cod S3000) al 0.10% como cromógeno y peróxido de hidrógeno al 0.02% seguido de un lavado rápido con agua destilada. Después de realizar el contraste con hematoxilina durante 5", las secciones se deshidrataron mediante baños sucesivos en etanol 95%, etanol 100%, xilol (2 baños) y xilol-eucaliptol. El montaje de las mismas se realizó con DPX. Todas las incubaciones y manipulaciones se efectuaron a T° ambiente. Los controles para cada biopsia consistían en una sección en la que se habían realizado todos los procedimientos anteriores excepto la adición del anticuerpo monoclonal.

En resumen la técnica empleada consistía en los siguientes pasos:

1. Hidratación de las piezas en PBS 10 min
2. Baño en peróxido de hidrógeno al 3% durante 3 minutos
3. Lavado con PBS durante 5 min
4. Incubación durante 10 min en suero normal de carnero (no

Población estudiada, material y métodos

inmune) prediluido con Tris 0.05M a pH 7,6

5. Lavado con PBS durante 5 min

6. Incubación con anticuerpo monoclonal prediluido en PBS, a las concentraciones indicadas en la tabla VIII, durante 10 min.

7. Lavado en PBS durante 5 min.

8. Incubación con un anticuerpo secundario de carnero anti- ratón, biotinado, prediluido con Tris 0.05M a pH 7.6, durante 10 min.

9. Lavado en PBS durante 5 min.

10. Incubación con estreptavidina conjugada con peroxidasa, durante 10 min.

11. Lavado con PBS durante 5 min.

12. Revelado con tetracloruro de 3,3'-diaminobencidina (DAB) (DAKO Cod S3000) al 0.10% como cromógeno y peróxido de hidrógeno al 0.02%.

13. Baño con agua destilada durante 5 min.

14. Contraste con hematoxilina de Harris mediante baño de 5 seg.

15. Deshidratación mediante alcoholes y xiloles

16. Montaje con DPX

TABLA VIII. ANTICUERPOS MONOCLONALES UTILIZADOS Y DILUCION DE LOS MISMOS

AMC	Dil	Laboratorio	Especificidad
OKT11 (CD2)	1/50	Universal Dako	Células T
Leu-2a (CD8)	1/10	Beckton Dickinson	" T citotóxico/supr
Leu-3a (CD4)	1/10	" "	" T cooperad
Anti-HLA-DR	1/20	Universal Dako	Cels B y T activadas Histiocitos, cls endotel QC activados
OKT-6 (CD1)	1/10	Ortho-Diagnostics	Cls de Langerhans, timocitos activados
EMB-11 (CD68)	1/80	Universal Dako	Macrófagos
anti-rIL2 (CD25)	1/20	Beckton -Dickins	Linf activados y macróf
ICAM1 (CD54)	1/40	Bender+Co Ges	Mol de adh intercel-1
LFA-1 (CD11a)	1/25	" "	Ag asoc a func linf-1
Ki-67	1/20	Universal Dako	Células proliferativas

Abreviaturas: AMC=anticuerpo monoclonal, Dil=Dilución

b2. Técnica de la doble tinción secuencial

La técnica aplicada es una modificación de la practicada por Mason DY (Mason DY, 1982), van Erp (van Erp PEJ, 1989) y Groves (Groves RW, 1993).

En los casos de tinción doble, el primer anticuerpo monoclonal utilizado siempre fue el Ki-67, (excepto en aquellos casos en los que se pretendió ver la relación entre ICAM-1 y LFA-1, en cuyo supuesto el primero fue ICAM-1 y el segundo el LFA-1). Para el procesamiento de las piezas se seguían los pasos 1 al 12 igual que para la inmunohistoquímica simple. Tras el revelado con DAB los cortes fueron lavados nuevamente en PBS y posteriormente fueron incubados, durante 30' con uno de los siguientes anticuerpos monoclonales: Leu-3a/CD4, Leu-2a/CD8, EMB-11/CD-68, OKT6/CD1, HLA-DR, rIL2/CD25, ICAM-1/CD54 y LFA-1/CD11a cuyas equivalencias y diluciones en PBS se exponen en la tabla VIII. Posteriormente se realizó un baño y lavado con TRIS 0.1M a pH 7.6 durante 10 min, seguido de una incubación con inmunoglobulinas de antisuero de conejo anti-inmunoglobulinas de ratón prediluido con TRIS 0.05M a pH de 7.6 durante 30'. Más adelante se realizó un nuevo baño y lavado con TRIS durante 10 min y se incubó con inmunocomplejo fosfatasa alcalina-antifosfatasa alcalina de ratón prediluido con TRIS 0.05M a pH 7.6, durante 30'. Este procedimiento se realizó con el kit DAKO APAAP Kit K670. Finalmente se realizó un revelado con Neofucsina (DAKO), y se montaron los portaobjetos en medio acuoso Aquatex (Merck), sin practicarse contraste con Hematoxilina ni con otros colorantes como el verde brillante o el azul alcian, dado que en las pruebas practicadas previamente habíamos comprobado que dificultaba la interpretación de los resultados.

En resumen la técnica comprendía los siguientes pasos:

1-12. Inmunomarcado con estreptavidina-biotina-peroxidasa como en el procedimiento anterior. El primer anticuerpo monoclonal era siempre Ki-67, (excepto en los casos en que se buscó la relación entre ICAM-1 y LFA-1, en cuyo caso el primero, revelado con DAB era ICAM-1 y el segundo el

LFA-1).

13. Lavado y baño en PBS durante 5 min.

14. Incubación con el segundo anticuerpo monoclonal (Leu-3a/CD4, Leu-2a/CD8, EMB-11/CD-68, OKT6/CD1, HLA-DR, rIL2/CD25, ICAM-1/CD54 y LFA-1/CD11a) durante 30'.

15. Lavado y baño en TRIS 0.1M, pH 7.6, durante 10 min.

16. Incubación con antisuero de conejo anti-inmunoglobulinas de ratón prediluido con TRIS 0.05M a pH de 7.6 durante 30'.

17. Baño y lavado con TRIS durante 10 min .

18. Incubación con inmunocomplejo fosfatasa alcalina-antifosfatasa alcalina de ratón prediluido con TRIS 0.05M a pH 7.6, durante 30'.

19. Revelado con Neofucsina (DAKO)

20. Montaje en medio acuoso Aquatex (Merck)

(no se practicó contraste con hematoxilina ni otros colorantes)

c. CUANTIFICACION DE RESULTADOS

En las lesiones de psoriasis, la tinción nuclear con **Ki-67**, para la detección de células proliferantes, se realizó de forma **cuantitativa** con la lente de 40 aumentos (x 400), tanto a nivel de las células que componían el infiltrado dérmico como a nivel de la epidermis, en la que valoramos de forma separada la capa basal del resto de la epidermis. A nivel de la capa basal se contaron el nº de células positivas de cada 20 queratinocitos basales, mientras que a nivel del resto de la epidermis se contabilizaron el total de células positivas. En 13 de los pacientes, en los que la cuña cutánea comprendía aproximadamente un 50% de piel sana perilesional, dicho conteo se practicó no sólo en el centro de la lesión sino también en el zona de transición (región imaginaria que corresponde al area de inicio de la acantosis y donde se empieza a acumular el infiltrado ya que fuimos incapaces de determinar con exactitud la zona exacta de inicio de la psoriasis) y en el borde perilesional (piel clínica e histológicamente normal en la periferia de la placa de psoriasis).

En 16 pacientes se realizó la biopsia al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina y se contabilizó la proliferación celular en el centro de la lesión.

El mismo tipo de valoración se aplicó a las biopsias de liquen plano y neurodermitis, aunque únicamente se registraron los datos del centro de las lesiones.

La tinción de las subpoblaciones celulares del **infiltrado dérmico** con los anticuerpos monoclonales OKT11, que corresponde al CD2, Leu-3a -CD4, Leu-2a -CD8-, EMB-11 -CD68- y OKT-6 -CD1-, de las moléculas de activación celular HLA-DR y anti-rIL2 y las moléculas de adhesión LFA-1 e ICAM-1 se valoró, en las biopsias de psoriasis, **semicuantitativamente** por 2 de los investigadores al microscopio, con la lente de 40 aumentos (x400), escogiendo los campos de mayor intensidad de infiltrado, valorando en una escala de 0 a 4 el porcentaje de células teñidas en dicho infiltrado dérmico

(0=no tinción, 1=0-25% del total de células, 2=25-50%, 3=50-75%, 4=75-100%). La **infiltración de la epidermis** por células OKT11 (CD2), Leu-3a (CD4), Leu-2a (CD8), células OKT-6 (CD1a) y EMB-11 (CD68), así como por aquellas que expresaban marcadores de activación como HLA-DR, anti-rIL2 (CD25), o la molécula de adhesión LFA-1 (CD11a) se valoró **cuantitativamente** con la lente de 40 aumentos (x400), escogiendo en cada biopsia un campo significativo. La valoración de la tinción con ICAM-1 (CD54) a nivel de la epidermis se realizó semicuantitativamente (0=no tinción; 1=células aisladas, 2=focos aislados de queratinocitos que adoptan un patrón en "panal de abeja", 3=tinción multifocal muy evidente en varios grupos de queratinocitos que adoptan dicho patrón).

Los resultados se compararon con los de 16 biopsias de pacientes con psoriasis, al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina.

El mismo tipo de valoración se aplicó a las biopsias de liquen plano y neurodermitis, con el fin de comparar los resultados.

El estudio estadístico se realizó con ordenador, mediante el programa SPSS, comparando las medias mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

c1. Técnica de la doble tinción secuencial:

Para determinar el tipo de células proliferantes se determinó en 2 campos significativos a 1000 aumentos (10x100), con el objetivo de inmersión, la cantidad de células dérmicas que expresan Ki-67 y uno de los monoclonales de superficie anteriormente citados, respecto al total de células Ki-67 de dicho campo. Se calcula la media de dicho cociente para todas las piezas y el resultado se expresa en porcentaje.

A nivel de la epidermis se determina si existen áreas donde de forma aislada o en grupos de células exista contacto entre queratinocitos proliferantes y alguna de las células inmunes que invaden la epidermis. También determinamos si alguna de los inmunocitos que invaden la epidermis está

Población estudiada, material y métodos

en fase de proliferación (si expresa simultáneamente Ki-67 y alguno de los monoclonales de superficie citados).

A nivel epidérmico también determinamos si existe relación espacial entre las áreas ICAM+ y la exocitosis por células LFA-1+.

Los resultados de la doble tinción son principalmente de tipo descriptivo.



(043) "1994" Cas

RESULTADOS

UNIVERSITAT DE LLEIDA
Biblioteca



1600116329



A. VALORACION DE LA PROLIFERACION MEDIANTE KI-67

A1. En la psoriasis (tablas IXa, b y figs 4 a 8)

Tomando en conjunto los datos de la psoriasis en gotas y en placas antes de iniciar el tratamiento, hemos detectado proliferación de las células del infiltrado dérmico en 72 de los 74 casos. En 23 casos se detectaron 10 o menos células en un campo significativo de 400 aumentos, en 25 casos se detectaron entre 11 y 20 células, en 19 casos entre 21 y 30 y los 7 restantes presentaron más de 30 células proliferantes en el infiltrado. Como promedio se tiñeron con Ki-67 17.19 ± 11.83 células del infiltrado dérmico, en un campo de 400 aumentos.

De cada 20 queratinocitos basales eran Ki-67+ 4.12 ± 3.31 como promedio. En la mayoría de los casos se tiñeron 5 o menos células (59 casos), aunque en 1 caso expresaron Ki-67 18 y en otro 19 células.

La mayor proliferación en la psoriasis se detectó a nivel de los queratinocitos suprabasales. Como promedio se tiñeron con Ki-67 61.18 ± 33.46 , con límites entre 16 y 222. Se tiñeron 30 o menos células en un campo de 400 aumentos en 15 de los casos, entre 31 y 60 en 25 de los casos, entre 61 y 90 en 27 casos y más de 90 en 7 casos.

La mayor proliferación se dió en las áreas donde confluían varias crestas interpapilares para formar una cresta de base ancha y allí pudimos detectar en varios casos 5 y 6 hileras de queratinocitos Ki-67+.

Valoración de la proliferación con Ki-67

TABLA IXa. VALORACION DE LA PROLIFERACION CON KI-67. PSORIASIS EN PLACAS.

Pac nº	Dermis	QCB	QCSB
3	17	3	65
6	24	1	20
9	40	5	73
10	8	7	58
17	22	2	80
18	2	4	48
20	6	1	23
21	4	4	29
27	5	3	75
29	2	4	89
33	21	4	58
37	16	4	43
39	4	4	90
40	3	3	21
41	16	1	52
45	17	3	76
48	5	5	27
49	6	2	16
60	35	9	84
62	19	7	73
63	0	8	43
68	1	5	52
70	30	1	45
72	25	1	42
76	0	1	60
77	34	3	28
78	21	1	35
79	12	4	26
81	10	9	33
82	22	7	64
83	16	3	60
89	18	3	27
94	9	5	30
106	26	4	113
108	12	2	28
110	21	2	26
112	19	4	74
113	11	8	69
114	20	19	83
115	45	9	222
121	6	9	34
123	13	2	54
128	64	6	105
130	12	10	76
136	25	5	78
137	16	1	116
138	32	3	102
142	5	3	82
144	23	2	36
145	28	2	37

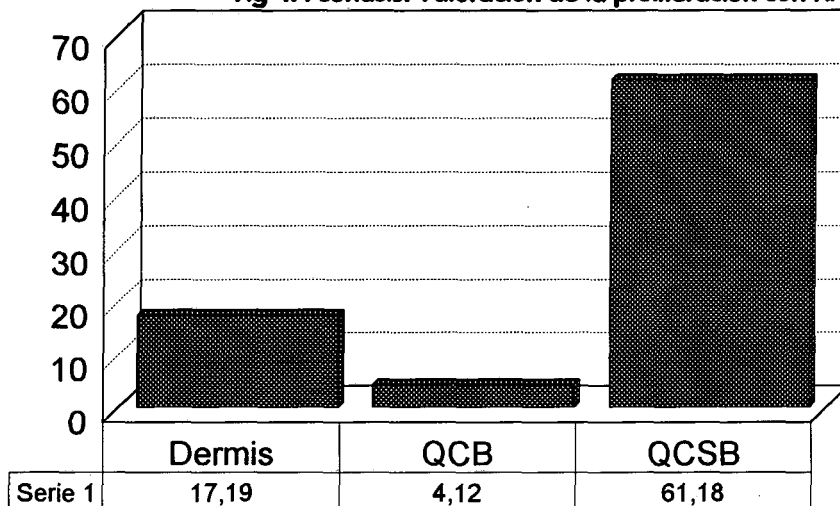
Abreviaturas: QCB=nº de queratinocitos basales que se marcan con Ki-67, sobre un total de 20 queratinocitos basales. QCSB=nº de queratinocitos suprabasales que se marcan con Ki-67.

TABLA IXb. VALORACION DE LA PROLIFERACION CON KI-67. PSORIASIS EN GOTAS.

Pac nº	Dermis	QCB	QCSB
1	12	2	60
7	20	4	71
16	19	18	160
19	17	1	19
22	4	2	32
31	24	2	66
36	10	2	30
38	16	2	49
42	19	6	43
44	14	2	68
51	45	3	120
56	29	2	30
65	4	4	76
75	30	2	85
85	5	2	55
88	8	2	49
92	6	2	66
93	24	4	73
96	21	3	81
97	24	5	73
101	14	6	69
111	29	4	51
116	17	5	76
125	13	2	45

Abreviaturas: QCB=nº de queratinocitos basales que se marcan con Ki-67, sobre un total de 20 queratinocitos basales. QCSB=nº de queratinocitos suprabasales que se marcan con Ki-67.

Fig 4. Psoriasis. Valoración de la proliferación con Ki-67.



A1.1. Comparación de la zona central con la zona de transición y el borde de las lesiones (tablas Xa y b y fig 9).

Tomando el subgrupo de 13 pacientes en los que se practicó biopsia en cuña que incluía un 50% de piel sana (fig), a nivel de la dermis se tiñeron con Ki-67 26.85 ± 16.60 de las células del infiltrado en el centro de la lesión, 10.15 ± 6.34 en la zona de transición y 1.62 ± 1.85 a nivel del borde perilesional. De cada 20 queratinocitos basales, se tiñeron como promedio 4.62 ± 4.96 en el centro, 3.38 ± 3.40 en la zona de transición y 1.08 ± 0.76 en el borde perilesional. Respecto a los queratinocitos suprabasales, captaron Ki-67 82.38 ± 53.34 a nivel del centro de la placa de psoriasis, 47.38 ± 32.98 en la zona de transición y 7.69 ± 3.84 en la piel sana perilesional.

En la mayoría de los casos la proliferación es mayor en el centro que en la zona de transición, tanto en lo que se refiere al infiltrado dérmico como a la epidermis, excepto en el caso 1º (paciente nº 36 de la serie) que a nivel de la dermis el nº de inmunocitos en fase proliferativa es más del doble en la zona de transición (22 vs 10) y en los casos 3, 6 y 13 (pacientes 56, 6 y 145 de la serie).

Existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las 3 áreas estudiadas (centro, zona de transición y borde) respecto al nº de células en fase de proliferación, tanto a nivel de la dermis, como en cuanto a los queratinocitos basales como los suprabasales.

Tabla Xa. Proliferación en la psoriasis. Comparación del centro de la lesión con la zona de transición y el borde.

Pac n°	Dermis			QCB			QCSB		
	Centro	Z Trans	Borde	Centro	Z Trans	Borde	Centro	Z Trans	Borde
36	10	22	4	2	3	1	30	23	10
51	45	12	3	2	5	1	120	78	12
56	29	11	0	4	3	1	30	46	9
65	4	4	0	2	0	0	76	0	5
75	30	5	1	2	2	2	85	33	7
6	24	16	0	1	1	0	20	24	0
45	17	1	2	3	11	2	76	75	7
115	45	15	0	19	1	1	222	90	14
128	64	11	4	2	1	0	105	37	12
130	12	2	0	6	2	1	76	38	8
136	25	6	0	10	2	1	78	16	6
137	16	10	2	5	10	2	116	116	7
145	28	17	5	2	3	2	37	40	3

Abreviaturas: QCB=n° de queratinocitos basales que se marcan con Ki-67, sobre un total de 20 queratinocitos basales. QCSB=n° de queratinocitos suprabasales que se marcan con Ki-67.

Fig 9. Proliferación en el centro, la zona de transición y el borde.

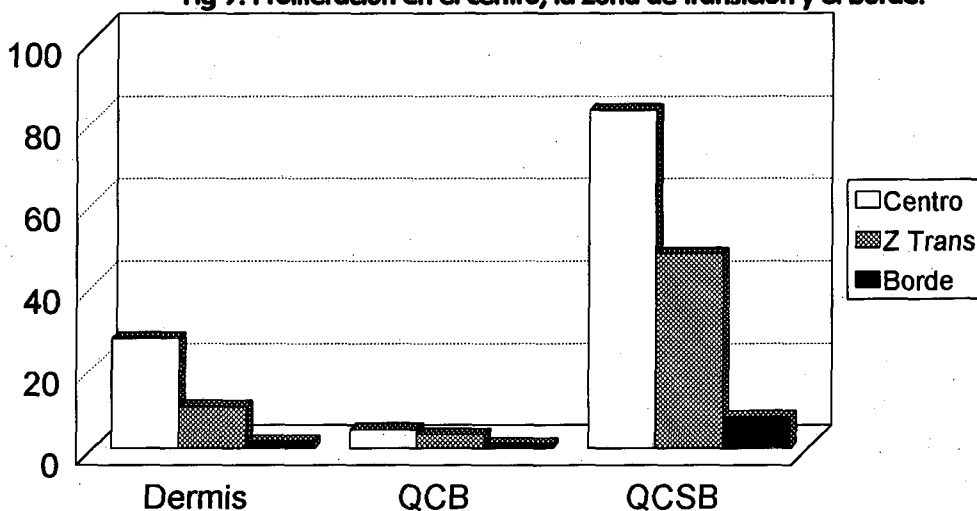


Tabla Xb. Comparación de la proliferación del centro de la lesión con la zona de transición y el borde. Medias±DE

	Dermis	QCB	QCSB
Centro	26.85±16.6	4.62±4.96	82.38±53.34
Z Transic	10.15±6.34	3.38±3.4	47.38±32.98
Borde	1.62±1.85	1.08±0.76	7.69±3.84
	p=0.0000	p=0.0019	p=0.0000

A1.2. Tras tratamiento con antralina durante 2 semanas (tabla X1a y b y fig 10)

Al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina la proliferación de las células del infiltrado dérmico se redujo a 6.68 ± 5.75 como promedio. También redujo el nº de células basales que se tiñeron con Ki-67 de cada 20, que en este caso eran 2.56 ± 1.78 como promedio. Captaron Ki-67 36.93 ± 27.32 queratinocitos suprabasales como promedio, en un campo de 400 aumentos, al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina.

TABLA X1a. PROLIFERACION EN LA PSORIASIS CON KI-67 A LAS 2 SEMANAS DE TRATAMIENTO CON ANTRALINA.

Pac nº	Dermis	QCB	QCSB
2	4	2	24
86	1	2	29
87	3	4	30
103	8	6	14
126	2	1	18
131	3	1	10
4	14	0	42
23	6	4	19
34	9	2	46
50	8	3	47
52	18	2	75
84	0	5	6
122	0	0	0
124	3	5	66
139	12	2	85
140	16	2	80

Abreviaturas: QCB=nº de queratinocitos basales que se marcan con Ki-67, sobre un total de 20 queratinocitos basales. QCSB=nº de queratinocitos suprabasales que se marcan con Ki-67.

Existen diferencias estadísticas ($p < 0.05$) en cuanto a la proliferación de las células del infiltrado dérmico y también respecto a la cantidad de queratinocitos suprabasales proliferantes, si comparamos dichos parámetros antes de iniciar el tratamiento con los obtenidos al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5% en vaselina.

Valoración de la proliferación con Ki-67

Fig 10. Ki-67 en la psoriasis, antes y después de 2 semanas de antralina al 0.5%.

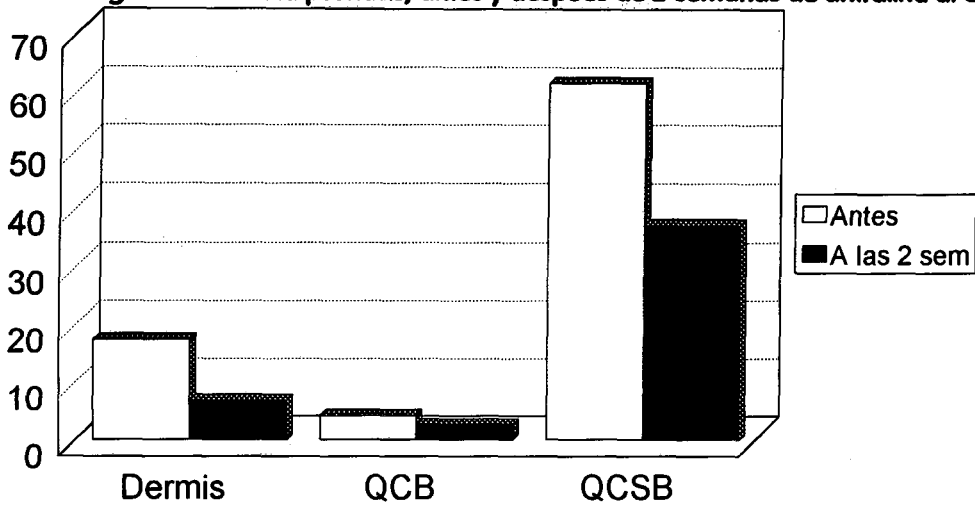


Tabla Xlb. Comparación de la proliferación antes del tratamiento y a las 2 semanas

	Dermis	QCB	QCSB
Antes	17.19±11.83	4.12±3.31	61.18±33.46
A las 2 semanas	6.68±5.75	2.56±1.78	36.93±27.32
	p=0.0002	p=0.0591	p=0.0054

A2. En el liquen plano (tabla XII y figs 11 a 14)

En las 24 biopsias de pacientes con liquen plano, como promedio se tiñeron con Ki-67 52.83 ± 30.97 células del infiltrado dérmico, tomando un campo de 400 aumentos. En 4 casos el nº de células proliferantes fue menor de 30, en 12, entre 30 y 60, en 6, entre 60 y 90 y en 2 casos fueron positivas más de 120 células del infiltrado. Al principio del estudio nos costó discernir entre los melanófagos de la dermis superficial y las células Ki-67 positivas pero posteriormente vimos que la diferenciación era fácil por el caracter grumoso del contenido de los melanófagos.

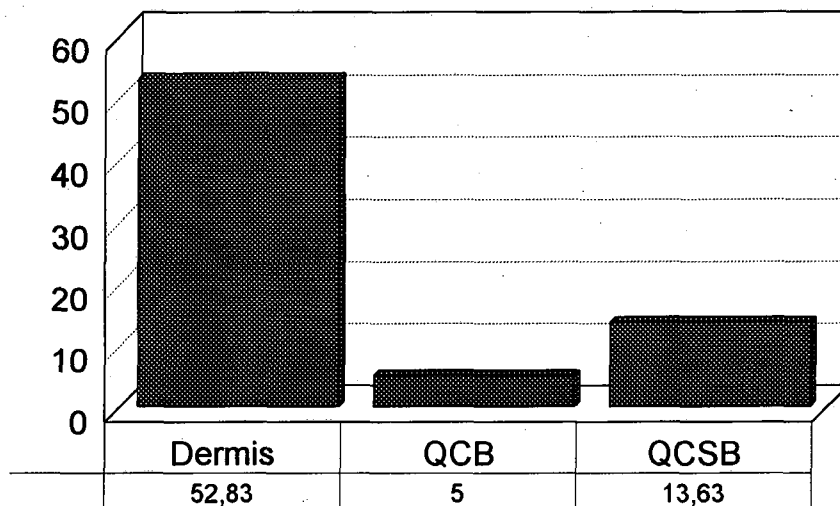
De cada 20 queratinocitos basales se tiñeron con Ki-67 5 ± 2.36 como promedio. En 16 casos fueron Ki-67+ 5 ó menos células mientras que en los 8 restantes el nº es de 6 a 10. En varios de los casos, dado la morfología de las células, parecen teñirse queratinocitos necróticos, por lo que el significado de esta cifra creemos que no es comparable a la de las otras dermatosis.

A nivel de la epidermis, la tinción con Ki-67 fue escasa. Se tiñeron como promedio 13.63 ± 7.93 queratinocitos suprabasales. En 9 casos captaron Ki-67 10 ó menos células, en 11 entre 11 y 20 células y únicamente en 4 casos se tiñeron más de 21 células.

TABLA XII. VALORACION DE LA PROLIFERACION EN EL LIQUEN PLANO CON KI-67.

Pac nº	Dermis	QCB	QCSB
5	45	4	17
8	18	2	0
12	3	9	13
26	63	5	17
32	135	5	7
46	70	2	18
47	15	10	14
53	51	8	6
54	43	9	16
55	57	6	15
57	79	2	21
66	40	8	24
71	32	6	9
74	48	4	6
80	57	4	14
99	61	3	13
102	73	6	7
127	122	3	10
129	40	4	4
132	43	4	13
134	15	2	33
135	42	4	31
143	34	5	8
146	82	5	11

Fig 11. Proliferación en el liquen plano con Ki-67



A3. En la neurodermitis (tabla XIII y figs 15-17)

En las 14 biopsias de pacientes con neurodermitis, como promedio se tiñeron con Ki-67 11 ± 9.72 células del infiltrado dérmico, tomando un campo significativo de 400 aumentos. En 8 casos el nº de células proliferantes fue menor de 10, en 4, entre 10 y 20, y únicamente en 2 casos se detectaron más de 20 células positivas.

De cada 20 queratinocitos basales se tiñeron con Ki-67 2.64 ± 2.10 como promedio.

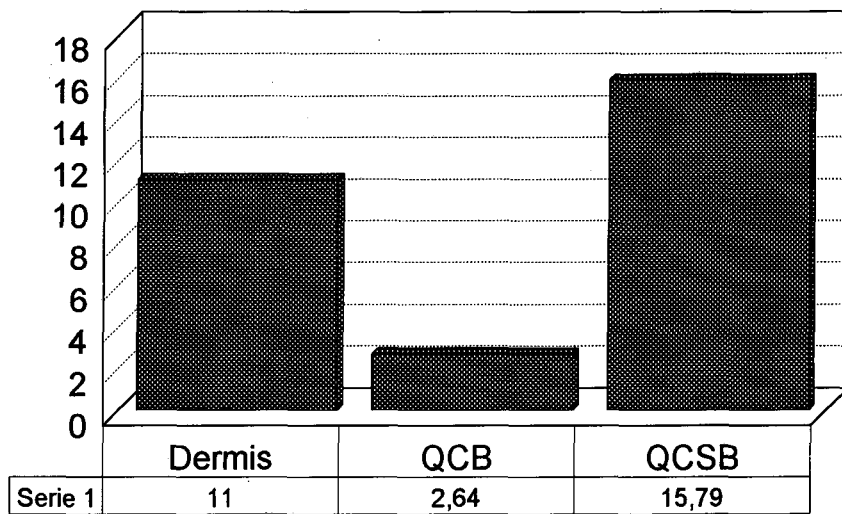
A nivel de la epidermis, se tiñeron como promedio 15.79 ± 10.27 queratinocitos suprabasales. En 6 casos fueron Ki-67+ 10 ó menos células, en 4 entre 11 y 20 células y en 4 casos más de 21 células.

TABLA XIII. VALORACION DE LA PROLIFERACION EN LA NEURODERMITIS CON KI-67.

Pac nº	Dermis	QCB	QCSB
11	12	2	17
15	14	3	16
24	3	2	29
67	22	2	36
69	4	1	5
95	0	1	14
98	8	5	8
104	12	4	17
105	8	1	8
120	8	6	30
133	6	0	7
141	6	7	23
147	12	2	6
148	39	1	5

Abreviaturas: QCB=nº de queratinocitos basales que se tiñen con Ki-67, sobre 20 queratinocitos basales, en un campo de 400 aumentos. QCSB=nº de queratinocitos suprabasales que se tiñen con Ki-67 en un campo de 400 aumentos.

Fig 15. Neurodermitis. Proliferación con Ki-67.



A4. Comparación de resultados (tabla XIV y fig 18).

En la psoriasis existe una elevada captación de Ki-67 a nivel de la epidermis, especialmente a expensas de los queratinocitos suprabasales. También hemos detectado una moderada captación de Ki-67 a nivel de la dermis.

En el liquen plano se detecta una mayor captación de Ki-67 a nivel de la dermis, mientras que en la neurodermitis la captación de Ki-67 es baja, tanto a nivel de la dermis como de la epidermis.

Existen diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre las 3 enfermedades, tanto a nivel del número de células que se tiñen con Ki-67 en la dermis (en el liquen plano se tiñen un mayor nº de células), como a nivel de los queratinocitos basales, como a nivel de los queratinocitos suprabasales (en la psoriasis la tinción es mayor).

Fig 18. Ki-67 en psoriasis, liquen plano y neurodermitis. Comparación de resultados.

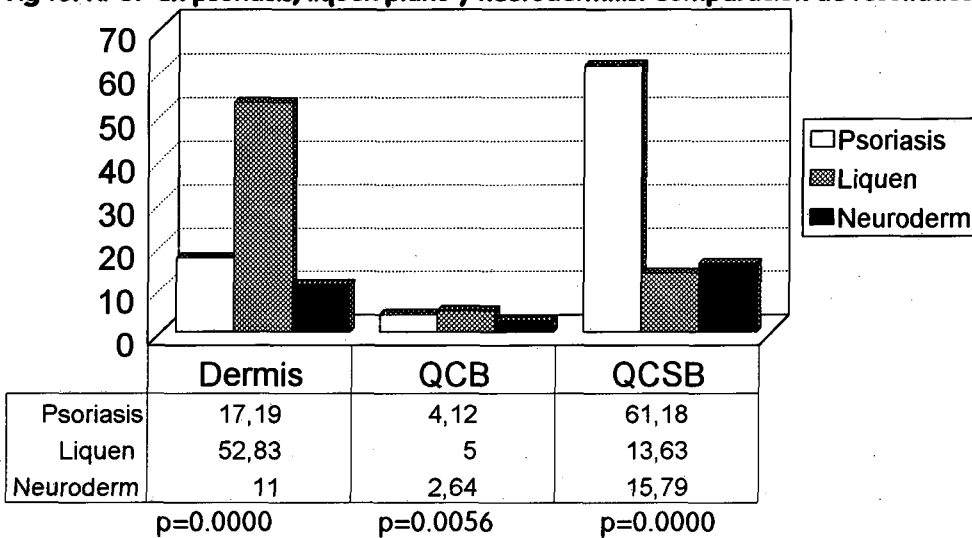


Tabla XIV. Comparación de resultados

	Dermis	QCB	QCSB
Ps	17.19±11.83	4.12±3.31	61.18±33.46
LRP	52.83±30.97	5±2.36	13.63±7.93
ND	11±9.72	2.64±2.10	15.79±10.27
	$p=0.0000$	$p=0.0056$	$p=0.0000$

Abreviaturas: QCB = Queratinocitos basales; QCSB = Queratinocitos suprabasales.

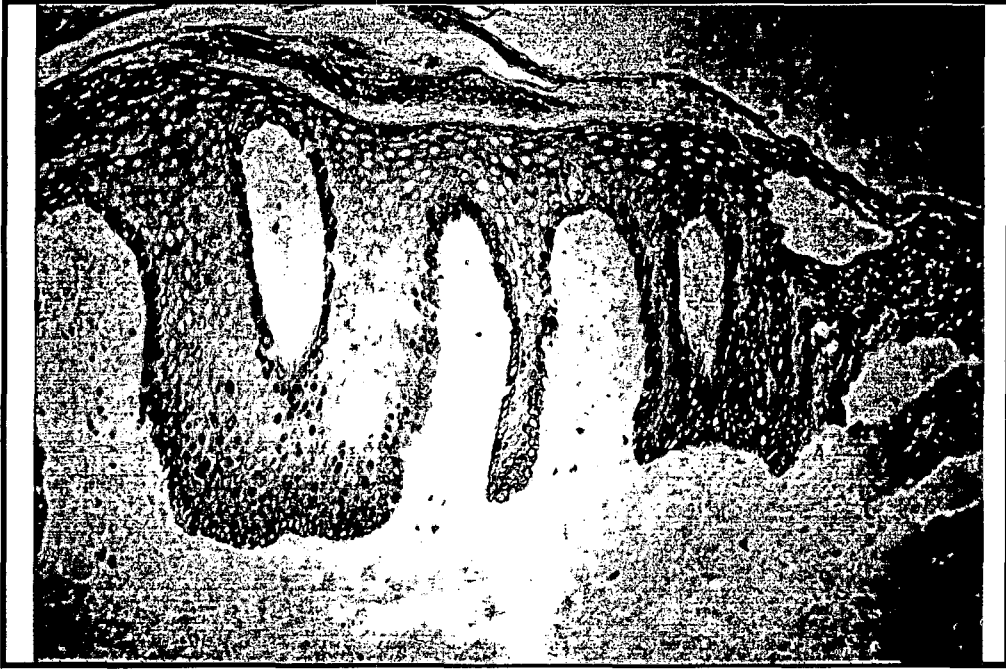


Fig 5. Psoriasis. Proliferación con Ki-67. La mayoría de las células Ki-67+ se sitúan en el compartimento suprabasal, a nivel del fondo de las crestas interpapilares. También se aprecia proliferación de inmunocitos a nivel de la dermis (x100). Sin contratinción con H-E.



Fig 6. Psoriasis. Tinción nuclear con Ki-67 a nivel de queratinocitos basales y suprabasales. Algunas células dérmicas también son positivas. (x200).

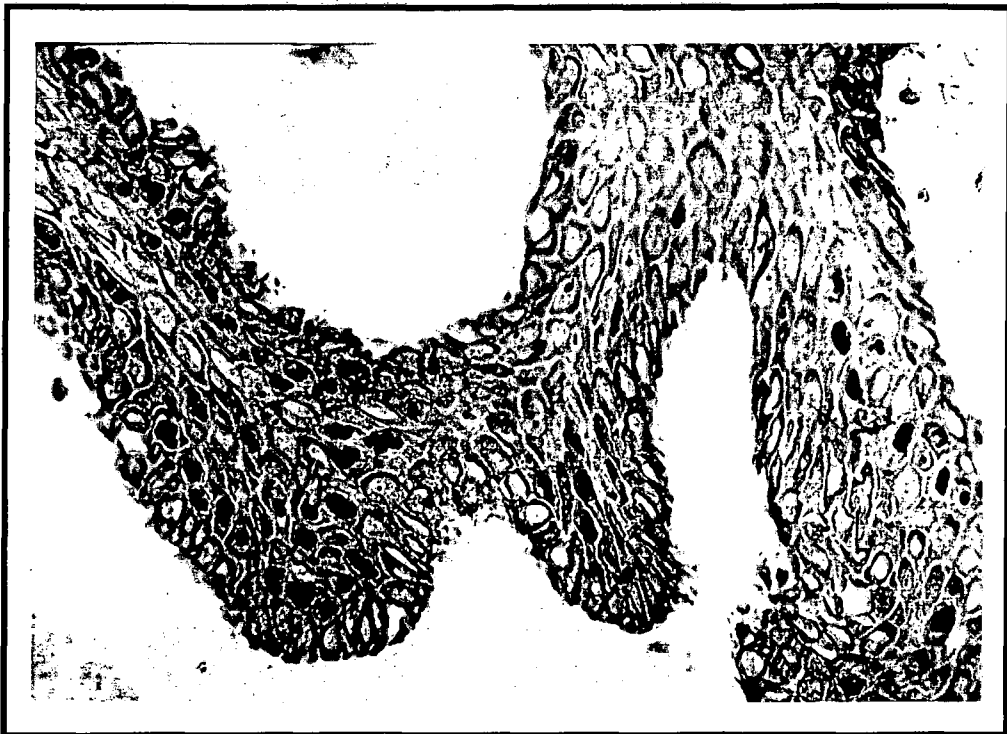


Fig 7. Psoriasis. Tinción nuclear con Ki-67 muy abundante a nivel suprabasal. (x400).



Fig 8. Psoriasis. Tinción nuclear con Ki-67 a nivel de queratinocitos suprabasales. (x400)

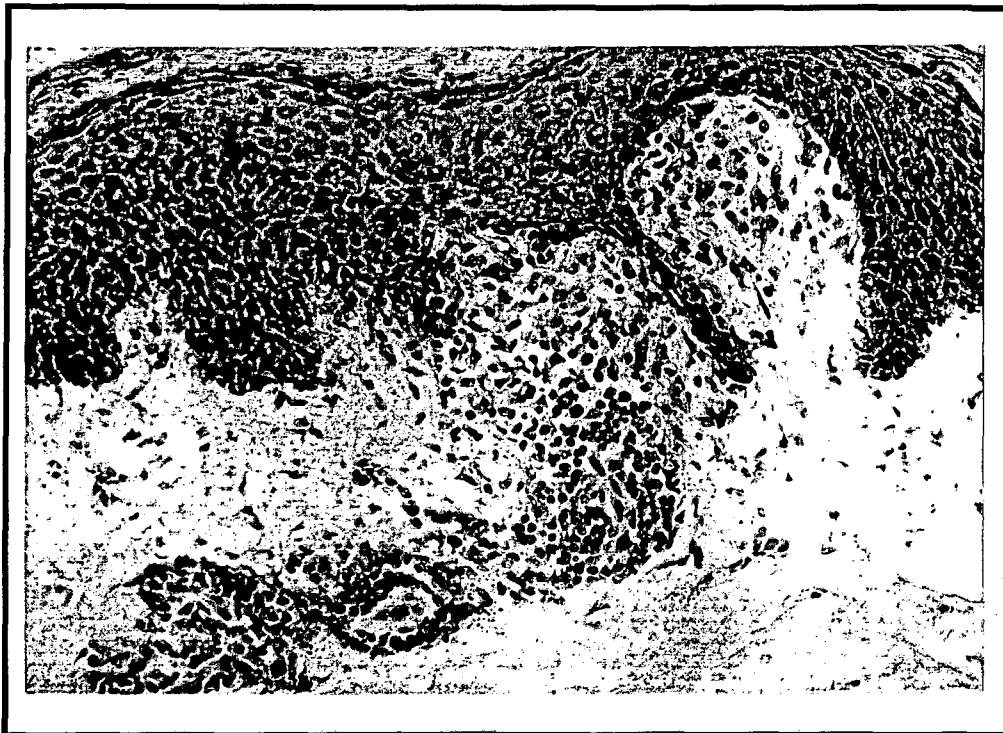


Fig 12. Liquen plano. Ki-67+ en un n° moderado de células del infiltrado dérmico. A nivel epidérmico tinción de algunos queratinocitos basales, (probablemente necróticos) y suprabasales. H&E. (x100).

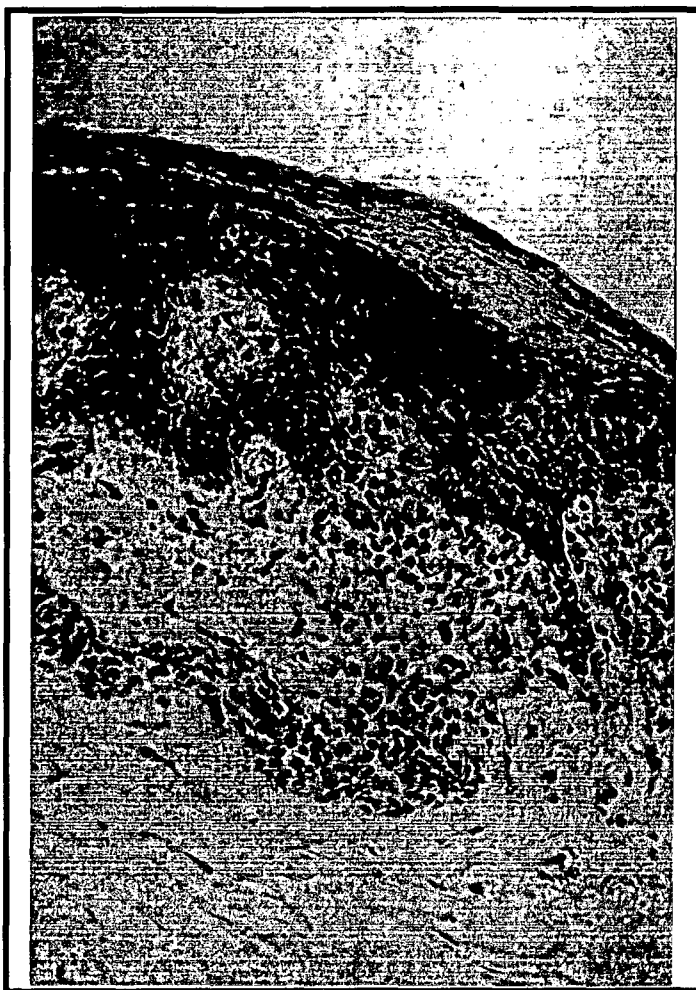


Fig 13. Liquen plano. Tinción nuclear con Ki-67 a nivel de la epidermis y a nivel de la dermis. (x100).

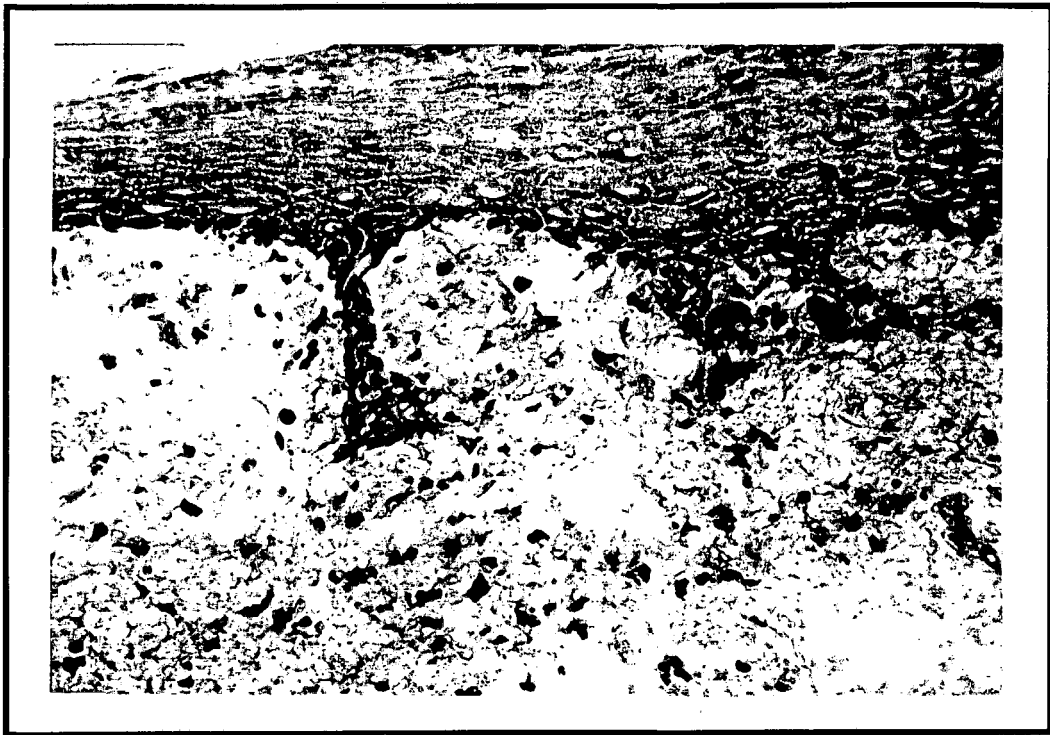


Fig 14. Liquen plano. Ki-67+ en un nº importante de células del infiltrado dérmico. En la epidermis tinción de algunos queratinocitos basales, (probablemente necróticos). (x200).



Fig 16. Neurodermitis. Tinción nuclear con Ki-67 de algunos queratinocitos suprabasales y cantidad moderada de inmunocitos dérmicos +. (x100).

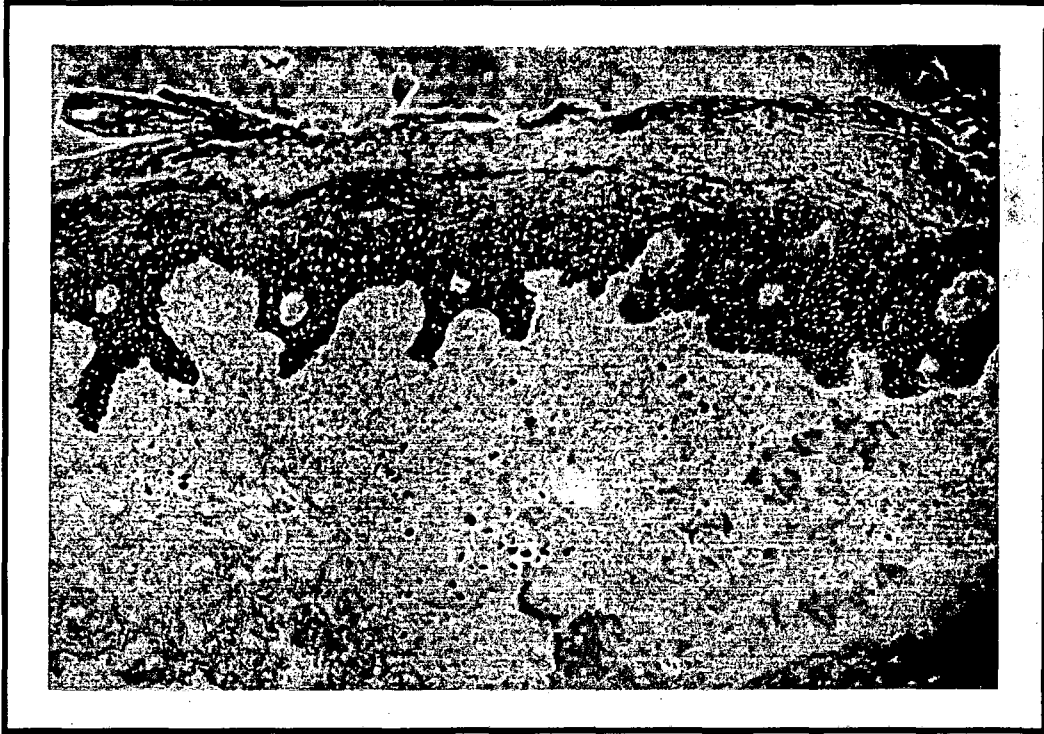


Fig 17. Neurodermitis. Ki-67. En este caso ausencia de núcleos positivos a nivel epidérmico y cantidad moderada de células Ki-67+ en la dermis (x100).

b. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO DERMICO

Tal como hemos comentado, la evaluación se realizó de forma semi-cuantitativa, valorando como "1" la positividad en 0-25% de células del infiltrado, "2" del 25 al 50%, "3" del 50 al 75% y "4" más del 75%.

b1. En la psoriasis (tablas XVa y b y fig 19)

OKT11/CD2 (Figs 20 y 21). En la psoriasis, el promedio de células que se teñían con este marcador fue de 2.99 ± 0.69 , o sea que se marcaba como promedio el 50-75% de las células del infiltrado. En 18 de las biopsias fueron Ki-67+ el 25-50% del infiltrado, en 39 de un 50 a un 75% y en 17 más del 75%.

Leu-3a/CD4 (Fig 22). El promedio de células que se teñieron con este marcador, que corresponde a los linfocitos T helper CD4+, a nivel de la dermis fue de 3.15 ± 0.72 , o sea ligeramente superior al de OKT11. En 38 de las biopsias se marcaron con Leu-3a del 50 al 75% de las células del infiltrado, en 24 la tinción fué mayor del 75%, en 11 del 25 al 50% y únicamente en 1 caso se marcó menos del 25% de las células del infiltrado.

Leu-2a/CD8 (Fig 23). Este Ac monoclonal marca los linfocitos T supresores. Fue el Ac que teñió con menor intensidad el infiltrado dérmico, marcándose como promedio 1.46 ± 0.58 de las células del infiltrado, lo que corresponde a algo más de un 25% del total. En 43 casos se teñieron con Leu-2a menos del 25% de las células, en 28 entre un 25 y un 50% y únicamente en 3 casos la tinción fue superior al 50%.

EMB-11/CD68 (Figs 24-26). Este es un marcador de sistema monocito/macrófago. Con este marcador se teñieron a nivel de la dermis un promedio de 2.32 ± 0.78 de las células, lo que corresponde a más del 50% del infiltrado. En 40 casos se teñieron con EMB-11 del 25% al 50% de las células, en 20 entre un 50 al 75%, en 8 menos del 25% y en 6 casos más del 75%. La tinción fue difusa en todo el espesor de la dermis, incluyendo células fusiformes situadas entre los haces de colágeno, aunque era más

pronunciada a nivel de los vasos de la dermis superior y media y las células adoptaban morfología dendrítica a medida que se iban acercando a la epidermis.

OKT-6/CD1 (Figs 27 y 28). Este es el Ac monoclonal que marca las células de Langerhans. A nivel de la dermis se tiñeron con OKT-6, como promedio 1.65 ± 0.63 de las células, lo que corresponde al grupo del 25 al 50% del infiltrado. En 32 de los casos se marcaron menos del 25% de las células del infiltrado, en 36 del 25 al 50% y únicamente en 6 casos más del 50%. En 23 de los 74 pacientes el infiltrado detectado a nivel de la dermis formaba un patrón nodular.

Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico

TABLA XVa. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO DERMICO. PSORIASIS EN PLACAS.

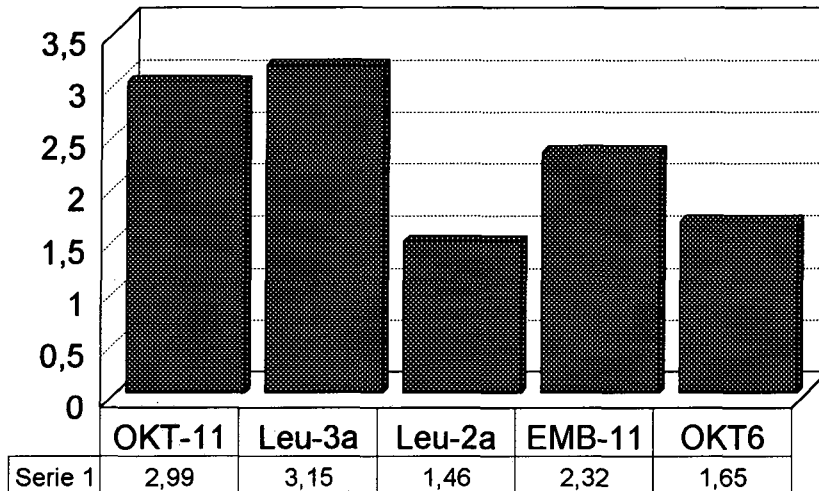
Pac nº	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
3	3	3	1	3	1
6	3	3	2	3	1
9	4	3	1	2	2
10	4	3	2	2	2
17	3	3	1	3	1
18	2	2	1	3	1
20	3	4	1	1	1
21	3	3	2	1	2
27	3	4	2	4	1
29	4	2	1	3	1
33	3	4	1	2	2
37	2	2	1	2	1
39	2	3	1	1	1
40	3	4	1	3	2
41	3	3	2	2	3
45	3	1	1	3	1
48	3	4	1	2	1
49	4	4	2	2	2
60	3	2	2	2	1
62	3	3	2	2	1
63	2	2	1	2	3
68	2	3	1	2	1
70	3	3	2	4	1
72	3	3	2	1	2
76	3	3	1	2	1
77	3	3	2	2	1
78	2	3	2	2	2
79	4	4	1	3	2
81	2	3	1	2	2
82	3	4	1	2	2
83	2	2	1	2	1
89	3	2	1	4	2
94	3	3	1	2	2
106	3	2	2	3	1
108	3	3	2	2	1
110	4	4	2	2	2
112	3	2	1	1	3
113	3	4	1	2	2
114	3	4	2	2	2
115	4	3	1	2	1
121	4	3	1	4	2
123	4	4	2	2	2
128	3	4	1	2	3
130	2	4	1	2	1
136	3	3	2	3	3
137	3	3	1	2	1
138	2	4	2	2	2
142	4	4	1	1	2
144	3	2	2	2	2
145	3	3	1	2	1

Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico

**TABLA XVb. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO DERMICO
PSORIASIS EN GOTAS**

Pac nº	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
1	3	3	1	3	2
7	3	3	1	3	2
16	4	4	2	2	1
19	2	4	2	2	1
22	2	3	3	4	2
31	3	4	1	3	3
36	4	3	2	3	1
38	2	2	3	1	2
42	4	4	2	2	2
44	2	4	1	1	1
51	3	3	1	2	1
56	3	3	1	3	2
65	2	3	1	2	1
75	2	3	1	3	2
85	4	4	2	2	2
88	2	3	1	2	1
92	3	3	2	3	2
93	3	3	3	3	2
96	4	3	2	4	2
97	4	4	2	2	1
101	2	3	1	3	2
111	3	4	1	3	2
116	3	3	1	2	2
125	4	3	1	2	2

Fig 19. Psoriasis. Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico.



b1.1. Infiltrado dérmico en la psoriasis al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5% (tabla XVIa y b y fig 29)

En 11 de los 16 pacientes pudimos valorar la cantidad de células del infiltrado que fueron OKT-11+/CD2 y fueron como promedio 2.45 ± 0.93 (50-75% del infiltrado), significativamente menor que el obtenido antes del tratamiento ($p=0.0373$). También se había reducido el nº de células Leu-3a/CD8, que comparamos en los mismos 11 pacientes y cuyo promedio fue de 2.63 ± 1.12 (50-75% de las células del infiltrado), sin que hubiesen diferencias significativas. El resto de Ac monoclonales se aplicaron a los 16 pacientes. La variación en cuanto a las células Leu-2a/CD8 fue mínima marcándose 1.43 ± 0.51 (del 25 al 50% del infiltrado) sin diferencia respecto a los valores pretratamiento ($p=0.9951$). El Ac monoclonal EMB-11/CD68 dio como resultado 2.06 ± 0.68 , sin hallar diferencias ($p=0.2625$) y el OKT-6/CD1 dio como promedio 1.18 ± 0.40 con diferencias estadísticas respecto a los valores pretratamiento ($p=0.0188$).

Tabla XVIa. Infiltrado dérmico en la psoriasis al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.

Nº Pac	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	EMB11	OKT6
2	NR	NR	1	2	1
86	NR	NR	1	2	1
87	NR	NR	2	1	2
103	2	2	1	1	1
126	NR	NR	2	2	1
131	NR	NR	1	2	1
4	4	3	2	3	1
23	2	4	2	2	1
34	2	4	1	1	1
50	3	4	2	2	2
52	4	3	1	2	1
84	2	3	1	2	1
122	2	2	1	3	1
124	3	1	1	3	2
139	1	2	2	2	1
140	2	1	2	3	1

Fig 29. Subpoblaciones celulares en la dermis psorísica. Antes del tratamiento y al cabo de 2 semanas de antralina.

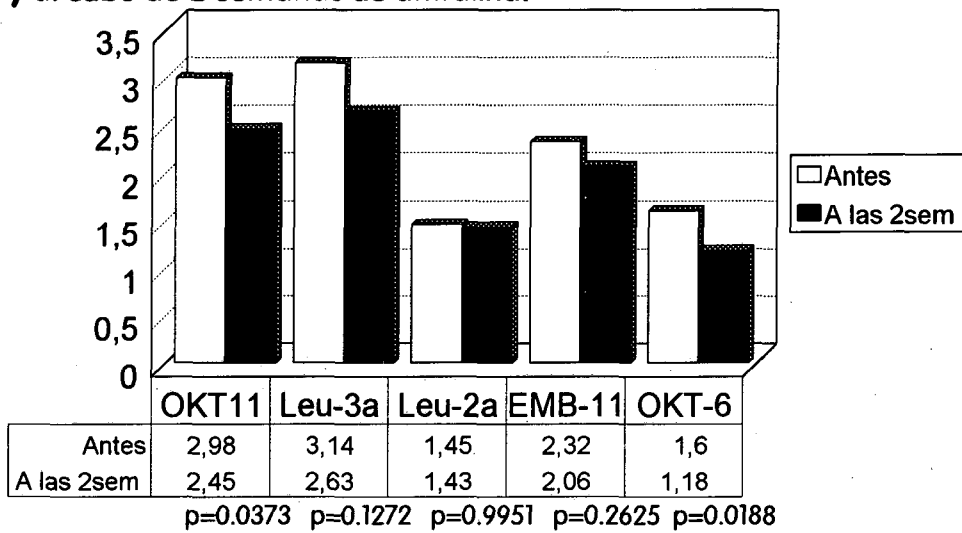


Tabla XVlb. Comparación de resultados

	OKT-11	Leu-3a	Leu-2a	EMB-11	OKT-6
Antes	2.98±0.69	3.14±0.71	1.45±0.57	2.32±0.77	1.60±0.67
A las 2 sem	2.45±0.93	2.63±1.12	1.43±0.51	2.06±0.68	1.18±0.40
	p=0.0373	p=0.1272	p=0.9951	p=0.2625	p=0.0188

b2. En el liquen plano (tabla XVII y fig 30)

OKT11/CD2. En el liquen plano, el promedio de células que se tiñeron con este marcador fue de 3.37 ± 0.65 , o sea que se marcaba como promedio más del 75% de las células del infiltrado. En 11 de las biopsias se tiñeron más de un 75% de las células del infiltrado, en 11 entre un 25 y un 50% y únicamente en 2 menos del 25%.

Leu-3a/CD4. El promedio de células que se tiñeron con este marcador, a nivel de la dermis, fue de 2.96 ± 0.86 , o sea entre un 50 y un 75% de las células del infiltrado. En 13 de las biopsias se marcó con Leu-3a del 50 al 75% de las células del infiltrado, en 6 la tinción fué mayor del 75%, en 3 del 25 al 50% y únicamente en 2 casos se marcó menos del 25% de las células del infiltrado.

Leu-2a/CD8. También en el liquen plano fue el marcador que tiñó con menor intensidad el infiltrado dérmico, marcándose como promedio 1.75 ± 0.61 de las células del infiltrado, lo que corresponde al grupo entre un 25% y un 50% del total. En 14 de los casos se tiñeron con Leu-2a del 25 al 50% de las células, en 8 menos de un 25 y únicamente en 3 casos la tinción fue superior al 50%.

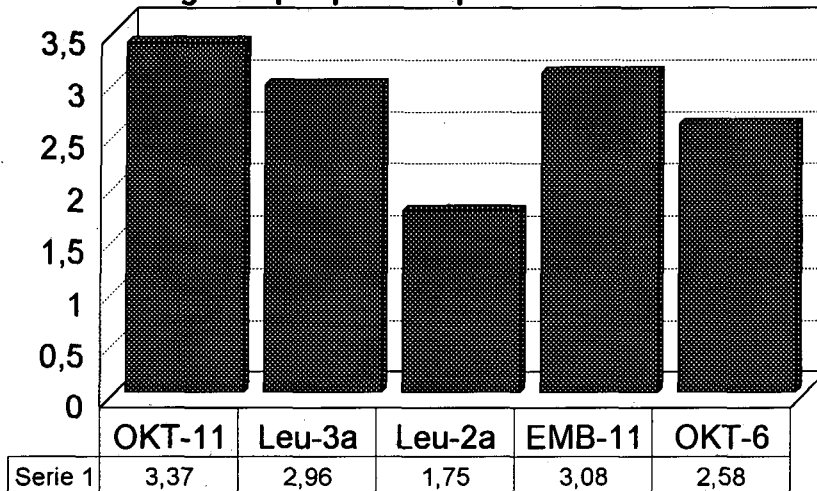
EMB-11/CD68. (Fig 31) Con este marcador se tiñeron a nivel de la dermis un promedio de 3.08 ± 0.50 de las células, lo que corresponde al grupo del 50 al 75% del infiltrado. En 18 de los casos se tiñeron con EMB-11 del 50% al 75% de las células, en 4 más del 75% y en 2 del 25% al 50% de los casos.

OKT-6/CD1. (Fig 32 y 33) A nivel de la dermis se tiñeron con OKT-6, como promedio 2.58 ± 0.5 de las células, lo que corresponde al grupo del 25 al 50% del infiltrado. En 14 casos se marcaron del 50% al 75% de las células del infiltrado mientras que en los 10 restantes se marcaron del 25 al 50%. En 12 de los 74 pacientes el infiltrado detectado a nivel de la dermis formaba nódulos, de forma similar a lo ocurrido en la psoriasis.

TABLA XVII. LIQUEN PLANO. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO DERMICO

Pac nº	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
5	4	3	2	3	2
8	3	4	2	3	2
12	3	3	2	3	3
26	3	3	2	4	3
32	4	3	2	3	2
46	4	3	1	2	3
47	3	2	3	3	3
53	3	1	1	4	2
54	4	4	2	4	2
55	2	3	2	3	3
57	4	3	2	2	2
66	3	3	1	3	3
71	4	2	2	3	2
74	4	4	1	4	3
80	3	2	1	3	3
99	4	4	1	3	2
102	3	3	2	3	2
127	4	3	1	3	3
129	4	3	2	3	2
132	3	3	3	3	3
134	3	3	2	3	3
135	4	4	2	3	3
143	3	4	1	3	3
146	1	2	3	3	2

Fig 30. Liquen plano. Subpoblaciones celulares a nivel de la dermis.



b3. En la neurodermitis (tabla XVIII y fig 34)

OKT11/CD2. En la neurodermitis, el promedio de células que se tiñeron con este marcador fue de 3.14 ± 0.66 , o sea que marcaba como promedio más del 75% de las células del infiltrado. En 8 de las biopsias se tiñeron entre un 50 y un 75% de las células del infiltrado, en 4 más de un 75% y únicamente en 2 entre el 25 y el 50%.

Leu-3a/CD4. El promedio de células que se tiñeron con este marcador, a nivel de la dermis, fue de 3 ± 0.68 , o sea entre un 50 y un 75% de las células del infiltrado. En 8 de las biopsias se marcaron con Leu-3a del 50 al 75% de las células del infiltrado, en 3 la tinción fué mayor del 75% y en las 3 restantes del 25 al 50%.

Leu-2a/CD8. También en la neurodermitis fue el marcador que tiñó con menor intensidad el infiltrado dérmico, marcándose como promedio 1.71 ± 0.47 de las células del infiltrado, lo que corresponde al grupo entre un 25% y un 50% del total. En 10 de los casos se tiñeron con Leu-2a del 25 al 50% de las células y en los 4 restantes menos de un 25%.

EMB-11/CD68. Con este marcador se tiñeron a nivel de la dermis un promedio de 2.64 ± 0.63 de las células, lo que corresponde al grupo del 50 al 75% del infiltrado. En 7 de los casos se tiñeron con EMB-11 del 50% al 75% de las células, en 6 de un 25 a un 50% y en 1 más del 75%.

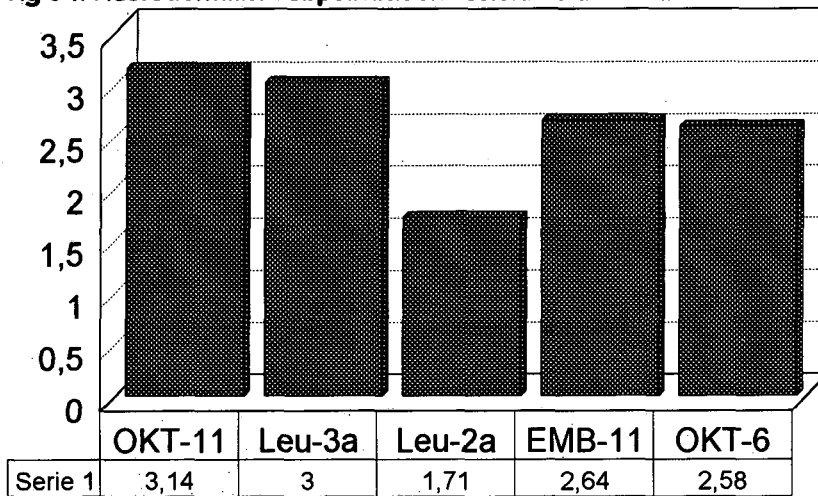
OKT-6/CD1. A nivel de la dermis se tiñeron con OKT-6, como promedio 2.58 ± 0.5 de las células, lo que corresponde al grupo del 25 al 50% del infiltrado. En 14 de los casos se marcaron del 50% al 75% de las células del infiltrado mientras que en los 10 restantes se marcaron del 25 al 50%. En 12 de los pacientes el infiltrado detectado a nivel de la dermis formaba nódulos.

Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico

TABLA XVIII. NEURODERMITIS. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO DERMICO

Pac n°	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
11	3	3	2	3	3
15	3	3	2	3	3
24	2	4	2	2	2
67	4	4	2	2	2
69	4	4	2	3	4
95	3	2	2	2	2
98	3	2	1	3	3
104	4	3	1	3	3
105	4	3	2	4	3
120	2	3	2	3	2
133	3	2	2	2	3
141	3	3	1	3	3
147	3	3	2	2	2
148	3	3	1	2	3

Fig 34. Neurodermitis. Subpoblaciones celulares a nivel de la dermis.

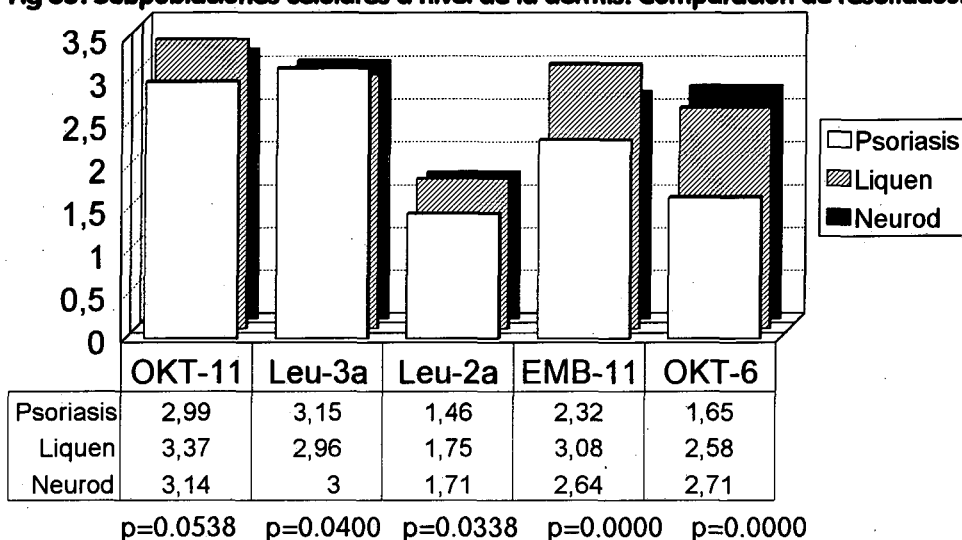


b4. Comparación de resultados (tabla XIX y fig 35)

En la psoriasis la célula predominante es la que expresa Leu-3a mientras que las células Leu-2a son las más escasas. En el liquen plano la célula predominante es la OKT-11, siendo también las células Leu-2a las menos detectadas. En la neurodermitis los hallazgos son similares al liquen plano.

Las diferencias entre las 3 enfermedades respecto a la composición celular del infiltrado son estadísticamente significativas ($p < 0.05$), tanto en la expresión de Leu-3a como de Leu-2a aunque la diferencia es mucho mayor respecto al EMB-11 (macrófagos), que predominan en el infiltrado del liquen plano, y las que expresan OKT-6, cuya expresión es mayor en la neurodermitis.

Fig 35. Subpoblaciones celulares a nivel de la dermis. Comparación de resultados.



Subpoblaciones celulares en el infiltrado dérmico

TABLA XIX. SUBPOBLACIONES CELULARES EN LA DERMIS. COMPARACIÓN DE RESULTADOS

	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	EMB-11	OKT-6
Ps	2.99±0.69	3.15±0.72	1.46±0.58	2.32±0.78	1.65±0.63
LRP	3.37±0.65	2.96±0.86	1.75±0.61	3.08±0.50	2.58±0.50
ND	3.14±0.66	3±0.68	1.71±0.47	2.64±0.63	2.71±0.61
	p=0.0538	p=0.0400	p=0.0338	p=0.0000	p=0.0000

c. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO EPIDERMICO

Como hemos comentado el nº de células que infiltraban la epidermis se contabilizó de forma cuantitativa tomando un campo significativo de 400 aumentos para cada uno de los monoclonales estudiados.

c1. En la psoriasis (tablas XXa y b y fig 36)

OKT11/CD2 (Figs 20 y 21). En la psoriasis, el promedio de células que se tiñeron con este marcador fue de 36.15 ± 26.02 , con unos límites entre 4 y 125 células y son las que en mayor nº infiltraban la epidermis. En 25 de las biopsias se tiñeron 20 o menos células, en 23 se tiñeron entre 20 y 40 células, en 15 se tiñeron de 40 a 60 células y en las 11 restantes se tiñeron más de 60 células por campo de 400 aumentos.

Leu-3a/CD4 (Fig 22). El promedio de células que se tiñeron con este marcador, a nivel de la epidermis fue de 22.16 ± 18.18 por campo, con límites entre 0 y 145 células. En 39 de las biopsias se marcaron con Leu-3a 20 o menos células del infiltrado epidérmico, en 30 entre 20 y 40 células, en 4 entre 40 y 60 y únicamente en 1 se tiñeron más de 60 células. Este Ac monoclonal marcaba también algunas de las células dendríticas intraepidérmicas.

Leu-2a/CD8 (Fig 23). El nº de células que se tiñeron con Leu-2a a nivel de la epidermis fue ligeramente superior al de células EMB-11. Se tiñeron como promedio 17.91 ± 15.54 células por campo, con límites entre 0 y 80 células. En 53 de los casos se tiñeron con Leu-2a 20 o menos células, en 16 entre 20 y 40, en 3 entre 40 y 60 y en 2 más de 60 células fueron positivas con este monoclonal. Aunque el promedio de células Leu-2a+ es casi la mitad del de células Leu-3a+, no fue infrecuente una infiltración epidérmica por un nº mayor de células Leu-2a+ que Leu-3a+, lo cual ocurría en 25 de los casos.

EMB-11/CD68 (Figs 24-26). Con este marcador se tiñeron a nivel de la epidermis psoriásica un promedio de 16.53 ± 10.26 células por campo,

Subpoblaciones celulares en la epidermis

con límites entre 2 y 43 células. En 53 de los casos se tiñeron con EMB-11 20 o menos de las células de dicho infiltrado, en un campo de 400 aumentos, en 18 entre 20 y 40 células y en únicamente 3 entre 20 y 40 células. Muchas de las células adoptaban morfología dendrítica.

OKT-6/CD1 (Figs 27 y 28). A nivel de la epidermis se tiñeron con OKT-6, como promedio 23.8 ± 8.58 células, con un rango entre 8 y 50 células. En 28 de los casos se marcaron 20 o menos de las células del infiltrado, en 43 entre 21 y 40 células y en las 3 restantes se marcaron entre 40 y 60.

Las células CD68+ fueron las menos abundantes, entre las que nosotros hemos comprobado, en el total del infiltrado epidérmico y las CD2 las más numerosas.

Subpoblaciones celulares en la epidermis

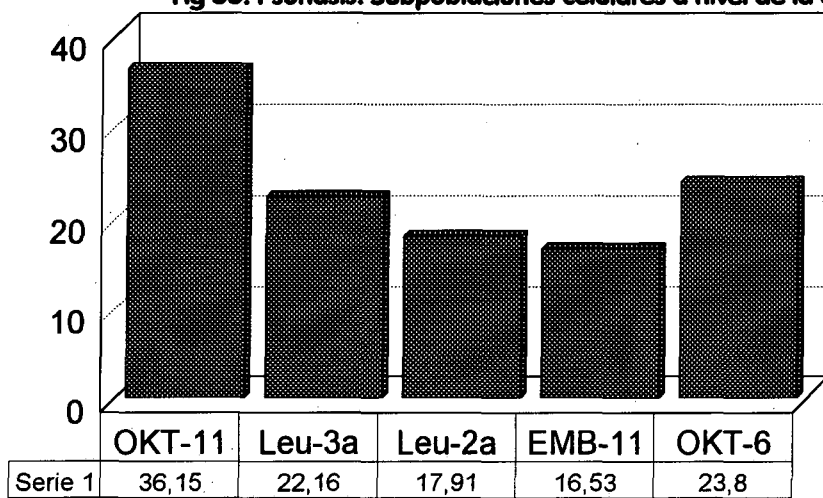
TABLA XXa. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO EPIDERMICO. PSORIASIS EN PLACAS.

Pac n°	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
3	23	3	0	13	23
6	52	15	18	16	20
9	17	14	4	19	30
10	60	25	24	6	33
17	31	18	50	21	21
18	18	16	15	4	20
20	30	41	28	2	17
21	42	24	29	4	24
27	29	35	7	21	19
29	49	17	15	10	28
33	35	25	7	15	41
37	112	35	23	4	32
39	4	27	0	4	40
40	45	34	16	8	16
41	43	20	14	19	44
45	27	0	14	9	14
48	32	29	17	24	29
49	82	30	19	13	37
60	60	26	39	16	31
62	75	25	56	14	32
63	49	0	22	13	18
68	50	9	12	15	19
70	83	26	16	29	22
72	25	4	8	6	18
76	17	29	31	11	30
77	125	44	80	10	26
78	49	20	13	11	21
79	9	28	4	17	14
81	53	18	7	14	20
82	37	38	19	12	14
83	18	17	16	8	13
89	37	16	3	26	28
94	35	20	31	4	30
106	49	14	9	16	12
108	80	36	72	9	16
110	33	17	23	15	50
112	26	12	33	4	28
113	31	27	13	10	22
114	41	45	47	16	21
115	78	6	6	9	14
121	25	12	10	40	37
123	21	43	19	18	10
128	65	39	33	7	31
130	40	145	14	16	22
136	73	22	21	20	25
137	77	29	18	17	30
138	37	31	40	11	14
142	48	26	12	8	10
144	43	0	38	21	26
145	95	27	34	26	24

TABLA XXb. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO EPIDERMICO. PSORIASIS EN GOTAS.

Pac n°	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
1	15	23	10	28	18
7	28	21	12	34	21
16	22	12	18	15	17
19	12	32	17	8	13
22	10	8	13	40	14
31	17	7	14	28	24
36	21	6	6	24	38
38	8	6	12	16	15
42	17	29	22	4	23
44	9	22	4	23	22
51	15	18	12	19	19
56	18	15	2	43	28
65	10	7	3	43	27
75	14	14	4	41	24
85	29	16	17	9	34
88	8	9	0	18	11
92	15	12	15	35	24
93	18	20	7	28	20
96	14	24	5	31	31
97	31	31	15	12	27
101	7	8	3	10	26
111	8	16	9	21	30
116	8	12	4	6	31
125	6	13	2	6	8

Fig 36. Psoriasis. Subpoblaciones celulares a nivel de la epidermis.



c1.1. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico en la psoriasis, al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5% (tablas XXIa y b y fig 37)

A las 2 semanas de tratamiento con antralina las células OKT11/CD2 en la exocitosis epidérmica se han reducido a más de la mitad y son positivas para este Ac monoclonal 14.09 ± 6.93 por campo, con diferencias estadísticamente significativas respecto a los valores pretratamiento ($p=0.018$). Asimismo ha habido reducción de las células Leu-3a/CD4, tiñéndose 15.63 ± 10.68 , aunque no existen diferencias significativas respecto a los valores pretratamiento. Las células Leu-2a/CD8 se han reducido a 5.31 ± 2.54 , significativamente inferior a los datos iniciales ($p=0.0001$). El nº de células EMB-11/CD68+ fue de 11.87 ± 6.52 , sin diferencias estadísticas con los datos pretratamiento y el de OKT-6+ de 21.56 ± 12.81 , sin que tampoco se detectaran diferencias importantes.

Tabla XXIa. El infiltrado epidérmico de la psoriasis tras 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5

Nº pac	OKT11	Leu-3a	Leu2a	EMB11	OKT6
2	NR	NR	7	16	9
86	NR	NR	5	7	12
87	NR	NR	3	20	7
103	4	8	0	12	14
126	NR	NR	4	14	11
131	NR	NR	2	27	4
4	18	8	8	16	25
23	13	29	7	3	27
34	12	21	2	7	41
50	21	40	9	18	31
52	27	12	7	10	30
84	16	16	5	7	12
122	10	10	5	12	20
124	19	4	7	3	50
139	5	15	6	6	27
140	10	9	8	12	25

Fig 37. Subpoblaciones celulares en la exocitosis epidérmica antes y al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.

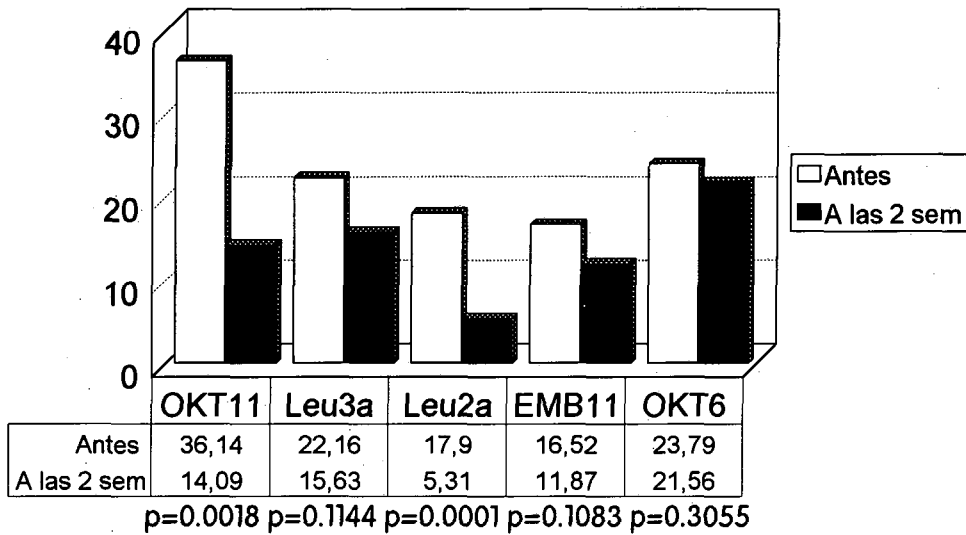


Tabla XXIb. Comparación del infiltrado epidérmico en la psoriasis antes y al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.

	OKT-11	Leu-3a	Leu-2a	EMB-11	OKT-6
Antes	36.14±26.02	22.16±18.17	17.90±15.53	16.52±10.25	23.79±8.57
A las 2 sem	14.09±6.93	15.63±10.68	5.31±2.54	11.87±6.52	21.56±12.81
	p=0.0018	p=0.1144	p=0.0001	p=0.1083	p=0.3055

c2. En el liquen plano (tablas XXII y fig 38)

OKT11/CD2. En el liquen plano, el promedio de células por campo que se tiñeron con este marcador fue de 25.08 ± 11.18 , con unos límites entre 0 y 52 células. En 9 de las biopsias se tiñeron 20 o menos células, en 14 se tiñeron entre 20 y 40 células y únicamente en 1 se tiñeron de 40 a 60 células.

Leu-3a/CD4. El promedio de células por campo que se tiñeron con este marcador, a nivel de la epidermis fue de 17.33 ± 5.88 , con un rango entre 6 y 29 células. En 16 de las biopsias se marcaron con Leu-3a 20 o menos células y en las 8 restantes se tiñeron entre 20 y 40 células.

Leu-2a/CD8. El nº de células por campo que se tiñeron con Leu-2a a nivel de la epidermis fue ligeramente superior al de células EMB-11. Se tiñeron como promedio 13.63 ± 6.21 células del infiltrado, con un rango entre 4 y 28 células. En 21 de los casos se tiñeron con Leu-2a 20 o menos células y en las 3 restantes entre 20 y 40.

EMB-11/CD68. (Fig 31) Con este marcador se tiñeron a nivel de la epidermis del liquen un promedio de 13.38 ± 4.24 células, con un rango entre 3 y 22 células, lo que representa también el menor nº de células entre las que infiltran la epidermis. En 23 de los casos se tiñeron con EMB-11 20 o menos células y en el caso restante entre 20 y 40 células. La mayoría de las células CD68 intraepidérmicas adoptaban morfología dendrítica.

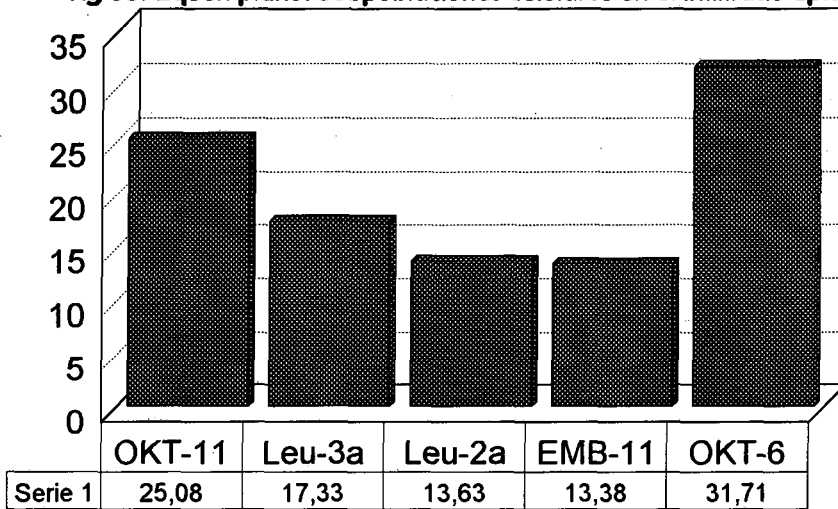
OKT-6/CD1. (Fig 32 y 33) A nivel de la epidermis se tiñeron con OKT-6, como promedio 31.71 ± 8.00 células por campo, con un rango entre 14 y 46 células. En 2 de los casos se marcaron 20 o menos de las células del infiltrado, en 19 entre 21 y 40 células y en las 3 restantes se marcaron entre 40 y 60. En el liquen plano la célula más común del infiltrado epidérmico, en nuestra serie, es la que expresa CD1/OKT-6 o sea la célula de Langerhans.

Subpoblaciones celulares en la epidermis

TABLA XXII. LIQUEN PLANO. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO EPIDERMICO.

Pac n°	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
5	18	20	18	14	30
8	7	22	8	18	35
12	33	18	16	10	28
26	31	21	13	16	37
32	37	15	19	11	30
46	22	12	12	8	14
47	19	7	27	10	44
53	16	14	12	18	24
54	31	22	19	19	29
55	17	21	22	8	46
57	25	12	12	10	22
66	52	17	17	16	45
71	24	20	28	12	28
74	20	19	12	22	33
80	16	6	8	17	30
99	0	23	7	3	32
102	25	13	6	14	20
127	34	27	12	15	27
129	32	23	11	12	25
132	29	17	4	14	29
134	21	15	15	10	38
135	36	14	12	17	37
143	40	29	8	14	40
146	17	9	9	13	38

Fig 38. Liquen plano. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico.



c3. En la neurodermitis (tabla XXIII y fig 39)

OKT11/CD2. En la neurodermitis, el promedio de células por campo que se tiñeron con este marcador fue de 18.79 ± 6.90 , con un rango entre 6 y 32 células. En 9 de las biopsias se tiñeron un 20 o menos células y en las 5 restantes entre 20 y 40 células.

Leu-3a/CD4. El promedio de células que se tiñeron con este marcador, a nivel de la epidermis, fue de 17 ± 10.96 por campo, con un rango entre 2 y 40 células. En 9 de las biopsias se marcaron con Leu-3a 20 o menos células del infiltrado epidérmico y en las 5 restantes se tiñeron entre 20 y 40 células.

Leu-2a/CD8. El n° de células que se tiñeron con Leu-2a a nivel de la epidermis, como promedio, fue de 9.93 ± 7.11 por campo, con un rango entre 0 y 24 células. En 12 de los casos se tiñeron con Leu-2a 20 o menos células y en las 2 restantes entre 20 y 40.

EMB-11/CD68. Con este marcador se tiñeron a nivel de la epidermis de la neurodermitis un promedio de 9.79 ± 4.92 células por campo, con un rango entre 3 y 20 células, lo que representa también la célula más escasa entre las que componen la exocitosis epidérmica. En los 14 casos se tiñeron con EMB-11 20 o menos de las células por campo. La mayoría de las células CD68 intraepidérmicas adoptaban morfología dendrítica.

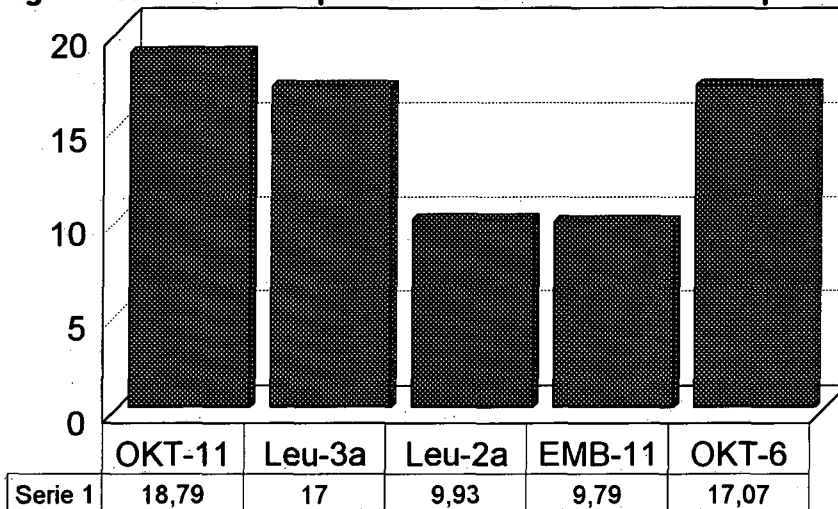
OKT-6/CD1. A nivel de la epidermis se tiñeron con OKT-6, como promedio 17.07 ± 7.23 células por campo, con un rango entre 6 y 32 células. En 8 de los casos se marcaron 20 o menos células y en las 6 restantes entre 21 y 40 células.

Subpoblaciones celulares en la epidermis

TABLA XXIII. NEURODERMITIS. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO EPIDERMICO

Pac n°	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	CD68	OKT6
11	22	22	12	10	18
15	28	17	9	11	14
24	16	8	3	6	8
67	22	21	10	8	12
69	24	14	24	8	20
95	12	2	11	9	21
98	15	12	15	16	23
104	32	29	24	14	12
105	19	40	9	20	27
120	10	33	5	14	8
133	20	4	0	4	23
141	19	12	7	10	21
147	6	14	5	3	5
148	18	10	5	4	27

Fig 39. Neurodermitis. Subpoblaciones celulares en el infiltrado epidérmico.

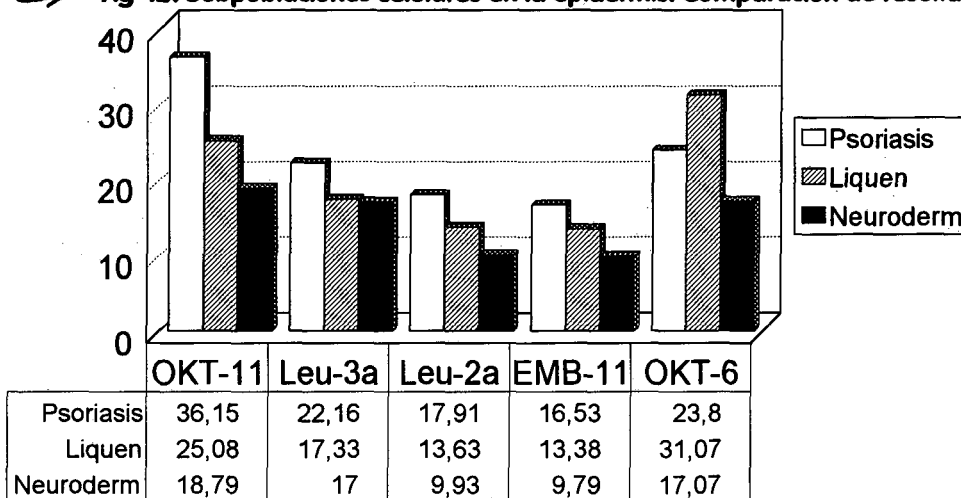


c4. Comparación de resultados (tabla XXIV y fig 40)

En la psoriasis, la célula predominante entre las que infiltran la epidermis es la que expresa OKT-11/CD2 y la menos detectada la EMB-11/CD68. En el liquen plano en la epidermis predominan las células OKT6/CD1 y las EMB-11/CD68 son también las más escasas. La exocitosis en la neurodermitis es menor, predominando las células OKT-11/CD2 y siendo asimismo las células EMB-11/CD68 las menos detectadas.

Existen diferencias estadísticas entre las 3 enfermedades ($p < 0.05$) en cuanto a la cantidad de células intraepidérmicas que expresan OKT-11/CD2 y EMB-11/CD68, pero especialmente en las OKT-6/CD1, que predominan claramente en el liquen plano.

→ **Fig 42. Subpoblaciones celulares en la epidermis. Comparación de resultados.**



$p=0,0281$ $p=0,2454$ $p=0,0907$ $p=0,0318$ $p=0,0000$

TABLA XXIV. SUBPOBLACIONES CELULARES EN EL INFILTRADO EPIDERMICO EN LA PSORIASIS, EL LIQUEN PLANO Y LA NEURODERMITIS. COMPARACION DE RESULTADOS.

	OKT11	Leu-3a	Leu-2a	EMB-11	OKT-6
Ps	36.15±26.02	22.16±18.18	17.91±15.54	16.53±10.26	23.80±8.58
LRP	25.08±11.18	17.33±5.88	13.63±6.21	13.38±4.24	31.07±8
ND	18.79±6.90	17±10.96	9.93±7.11	9.79±4.92	17.07±7.23
	$p=0.0281$	$p=0.2454$	$p=0.0907$	$p=0.0318$	$p=0.0000$

d. MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ACTIVACION CELULAR A NIVEL DE LA DERMIS.

Tal como hemos comentado, la valoración se realizó de forma semi-cuantitativa, valorando como "0" la ausencia de tinción en el infiltrado, "1" del 0 al 25% del infiltrado, "2" del 25 al 50%, "3" del 50 al 75% y "4" más del 75%.

d1. En la psoriasis (tablas XXVa y b y fig 41)

HLA-DR (Figs 42 y 43). En la psoriasis, el promedio de células que se tiñeron con este marcador fue de 3.18 ± 0.63 , o sea que marcaba como promedio más del 75% de las células del infiltrado. El HLA-DR es un Ag de superficie expresado, a nivel de la dermis, por los linfocitos, los macrófagos y por las células endoteliales, cuando se hallan activados. 22 de las biopsias tuvieron una tinción superior al 75%, en 43 la tinción afectaba del 50 al 75% del infiltrado y en las 9 restantes la tinción fue de un 25 a un 50%.

rIL-2 (CD25) (Fig 44). El promedio de células que se tiñeron con este marcador, propio de linfocitos activados y macrófagos, a nivel de la dermis fue de 1.20 ± 0.55 , y por tanto era expresado por un porcentaje bajo de células en nuestra serie (algo más del 25% de las células del infiltrado). En 58 de las biopsias se marcaron con rIL-2 del 0 al 25% de las células del infiltrado, en 11 la tinción fué del 25 al 50%, en 3 fue mayor del 75% y en 2 pacientes la tinción fue negativa.

ICAM-1/CD54 (Fig 45-47). La molécula de adhesión intercelular 1 es expresada de forma constitutiva por las células endoteliales, aunque en procesos inflamatorios también pueden expresarla, a nivel de la dermis, los fibroblastos y las células de Langerhans y probablemente otros inmunocitos. En nuestra serie hemos detectado una infiltración difusa de toda la dermis, marcándose células redondas, fusiformes y dendríticas, además de las células endoteliales. Se han marcado, como promedio, 2.42 ± 0.66 de las células de la dermis, entre un 25 y un 50% del total, con un marcaje intenso a nivel de las células endoteliales pero no exclusiva de

ellas. En 38 de los casos se tiñeron con ICAM-1 del 25 al 50% de las células de la dermis, en 29 del 50 al 75%, en 4 menos del 25% de las células y en las 3 restantes más del 75% de las células del infiltrado.

LFA-1/CD11a (Figs 48). El antígeno de función linfocitaria 1 es un marcador de superficie de todos los leucocitos, en especial de los linfocitos T memoria, y es la molécula por la que dichos leucocitos circulantes se unen a las células endoteliales ICAM-1 positivas. Con este marcador se tiñeron a nivel de la dermis un promedio de 3.01 ± 0.65 de las células, lo que representa de un 50 a un 75% del infiltrado. En 46 de los casos se tiñeron del 50% al 75% de las células, en 15 más del 75%, en 12 entre el 25% y el 50% de las células del infiltrado y únicamente en 1 de los casos la tinción fue menor del 25%. Con este marcador pudimos detectar en 12 biopsias una exocitosis epidérmica por células LFA-1+ en la zona del borde de la biopsia, antes del inicio de la acantosis psoriásica, aunque en la mayoría de casos el inicio de la acantosis coincide con el inicio del infiltrado, sin que podamos determinar cual de los 2 es más externo.

Moléculas de adhesión y activación celular en la dermis

TABLA XXVa. MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ACTIVACION CELULAR A NIVEL DE LA DERMIS. PSORIASIS EN PLACAS.

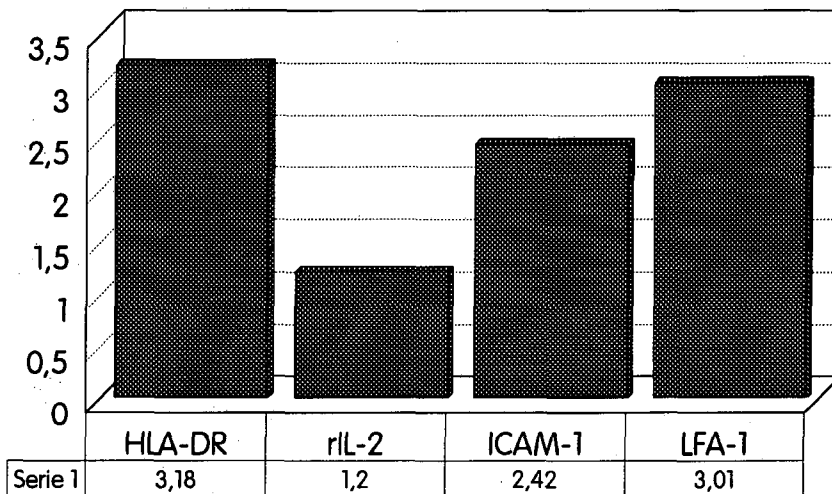
Pac nº	HLA-DR	r-IL2	LFA-1	ICAM-1
3	3	1	3	3
6	3	1	4	3
9	3	2	3	2
10	3	1	3	2
17	4	1	3	2
18	2	1	3	2
20	3	1	3	2
21	3	1	4	3
27	3	1	4	3
29	2	1	3	3
33	3	1	3	3
37	4	2	3	3
39	3	1	3	3
40	3	1	2	2
41	3	1	3	3
45	3	1	3	2
48	3	2	4	2
49	4	3	3	4
60	3	1	3	2
62	4	1	3	3
63	2	2	3	3
68	2	1	3	2
70	4	3	3	2
72	3	1	2	3
76	3	1	3	2
77	3	1	4	3
78	4	1	4	1
79	3	2	2	2
81	3	1	4	3
82	3	2	4	3
83	3	1	3	3
89	4	1	3	2
94	3	3	3	2
106	4	1	3	2
108	2	1	3	3
110	3	1	3	3
112	3	2	3	2
113	3	2	3	3
114	3	1	4	2
115	4	1	3	2
121	4	2	4	4
123	3	1	3	3
128	4	1	4	2
130	3	1	3	3
136	3	1	3	2
137	3	1	2	2
138	4	1	4	3
142	3	1	4	4
144	2	1	3	3
145	4	1	4	3

Moléculas de adhesión y activación celular en la dermis

TABLA XXVb. MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ACTIVACION CELULAR A NIVEL DE LA DERMIS. PSORIASIS EN GOTAS.

Pac n°	HLA-DR	r-IL2	LFA-1	ICAM-1
1	3	1	3	2
7	3	1	3	3
16	4	1	3	2
19	2	0	2	2
22	3	0	3	2
31	2	1	3	1
36	3	1	3	3
38	2	1	2	3
42	4	2	2	3
44	3	1	3	2
51	3	1	2	2
56	4	1	2	3
65	4	2	3	2
75	3	1	2	2
85	3	1	1	1
88	3	1	3	2
92	4	1	3	2
93	4	1	3	2
96	4	1	2	1
97	4	1	4	2
101	3	1	3	2
111	3	1	3	2
116	4	1	2	2
125	3	1	3	2

Fig 41. Psoriasis. Moléculas de activación y adhesión a nivel de la dermis.



d1.1. Moléculas de adhesión y activación celular en la dermis psoriásica, al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5% (tabla XXVla y b y fig 49)

A las 2 semanas de tratamiento, el porcentaje de células HLA-DR a nivel de la dermis, se mantenía estable respecto a los valores pretratamiento. El valor promedio era de 3.06 ± 0.57 , o sea, entre el 50 y el 75% del infiltrado. En nuestra serie, el valor del rIL-2 había aumentado siendo de 2.6 ± 0.51 , o sea alrededor del 50% del mismo. Asimismo había aumentado el nº de células que se teñían con ICAM-1, cuyo valor fue de 3.8 ± 0.42 , cifra que significa un porcentaje superior al 75% y el de células LFA-1, cuyo valor fue de 3.4 ± 0.51 o sea alrededor del 75%. No existen diferencias estadísticas respecto al HLA-DR ni al LFA-1, pero sí muy claras si tenemos en cuenta los valores de rIL-2 y de ICAM-1 (en ambos $p=0.0000$).

Tabla XXVla. Moléculas de adhesión y de activación celular en la dermis psoriásica, al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.

Nº Pac	HLA-DR	rIL-2	LFA-1	ICAM-1
2	3	NR	NR	NR
86	3	NR	NR	NR
87	2	NR	NR	NR
103	3	NR	NR	NR
126	2	NR	NR	NR
131	3	NR	NR	NR
4	3	2	3	3
23	3	3	3	4
34	3	3	4	4
50	4	2	4	4
52	3	2	3	4
84	4	3	3	3
122	4	3	4	4
124	3	3	3	4
139	3	2	3	4
140	3	3	4	4

NR=No realizado

Fig 49. Moléculas de adhesión y de activación en la dermis de la psoriasis, antes y al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5%.

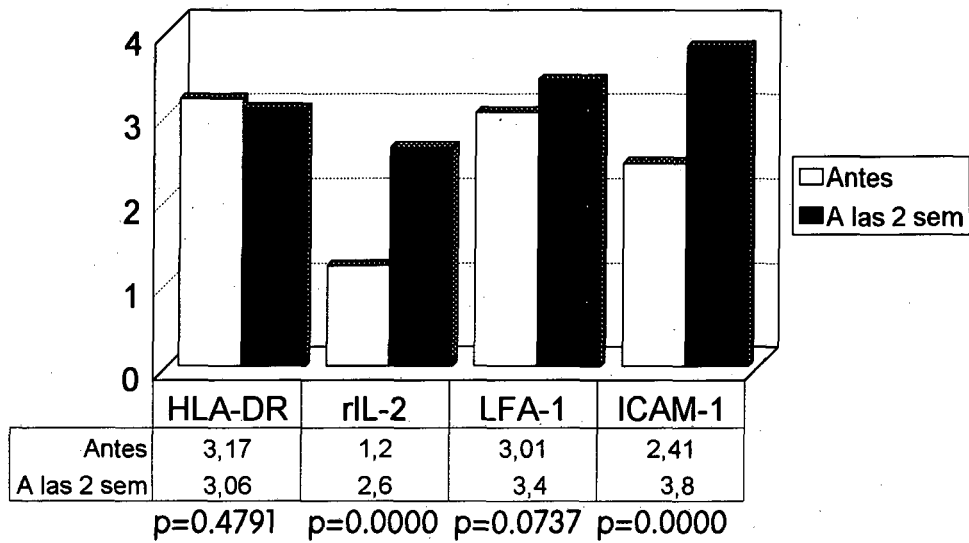


Tabla XXVib. Comparación de resultados. Moléculas de adhesión y activación en la dermis

	HLA-DR	rIL-2	LFA-1	ICAM-1
Antes	3.17±0.62	1.2±0.54	3.01±0.65	2.41±0.66
A las 2 sem	3.06±0.57	2.6±0.51	3.4±0.51	3.8±0.42
	p=0.4791	p=0.0000	p=0.0737	p=0.0000

d2. En el liquen plano (tabla XXVII y fig 50)

HLA-DR. En el liquen plano, la expresión de HLA-DR en la superficie celular fue como promedio 3.50 ± 0.59 , o sea eran HLA-DR+ más del 75% de las células del infiltrado. Este es un marcador de superficie expresado, a nivel de la dermis, por los linfocitos y los macrófagos activados y por las células endoteliales. 13 de las biopsias tuvieron una tinción superior al 75%, en 10 la tinción afectaba del 50 al 75% del infiltrado y únicamente en 1 biopsia la tinción fue de un 25 a un 50%.

rIL-2 (CD25). El promedio de células que se tiñeron con este marcador, propio de linfocitos activados y macrófagos, a nivel de la dermis fue de 2.21 ± 0.72 , y por tanto era expresado por algo más de un 50% de las células del infiltrado. En 14 de las biopsias se marcaron con rIL-2 del 25 al 50% de las células del infiltrado, en 6 la tinción fué del 50 al 75%, en 3 fue menor del 25% y en la restante hubo una tinción por encima del 75%.

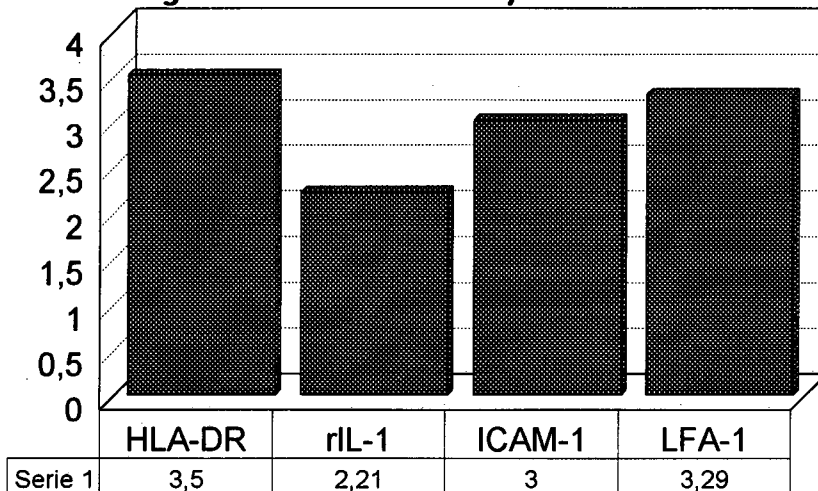
ICAM-1/CD54. (Fig 51) En el liquen plano también hemos detectado una infiltración difusa de toda la dermis, marcándose tanto células redondas como fusiformes y dendríticas, además de las células endoteliales. Se han marcado, como promedio, 3.00 ± 0.66 de las células de la dermis, alrededor de un 75% del total del infiltrado, con un marcaje más intenso a nivel de las células endoteliales. En 14 de los casos se tiñeron con ICAM-1 del 50 al 75% de las células de la dermis, en 5 la tinción fue mayor del 75%, y en las 5 restantes menos del 25% de las células del infiltrado.

LEA-1/CD11a (Figs 52 y 53). Con este marcador se tiñeron a nivel de la dermis un promedio de 3.29 ± 0.46 de las células, lo que representa más de un 75% del infiltrado. En 17 de los casos se tiñeron del 50% al 75% de las células y en las 7 restantes más del 75%.

TABLA XXVII. LIQUEN PLANO. EXPRESION DE MARCADORES DE ACTIVACION CELULAR Y MOLECULAS DE ADHESION A NIVEL DE LA DERMIS

Pac n°	HLA-DR	r-IL2	LFA-1	ICAM-1
5	3	1	3	3
8	3	2	4	3
12	3	2	4	3
26	4	2	3	3
32	4	3	3	2
46	3	2	3	3
47	3	3	4	4
53	3	2	4	4
54	4	1	3	4
55	2	1	3	2
57	4	2	4	3
66	4	4	4	3
71	4	2	3	3
74	4	2	3	3
80	3	2	3	2
99	3	2	4	3
102	4	3	3	3
127	3	3	3	2
129	3	2	3	4
132	4	3	3	3
134	4	2	3	3
135	4	2	3	2
143	4	2	3	3
146	4	3	3	4

Fig 50. Moléculas de adhesión y activación en la dermis. Liquen plano.



d3. En la neurodermitis (tabla XXVIII y fig 54)

HLA-DR. En la neurodermitis, a nivel de la dermis, el promedio de expresión de HLA-DR en la superficie de las células del infiltrado fue de 3.79 ± 0.43 , o sea que se marcaban más del 75% de las mismas. En 11 de las biopsias la tinción fue superior al 75% mientras que en las 3 restantes se tiñeron entre un 50 y un 75%.

rIL-2 (CD25). El promedio de células que se tiñeron con este marcador fue de 1.36 ± 0.5 , y por tanto era expresado por algo más de un 25% de las células del infiltrado dérmico. En 9 biopsias se marcaron con rIL-2 menos del 25 de las células del infiltrado y en las 5 restantes la tinción fué de un 25 a un 50%.

ICAM-1/CD54. (Fig 55) En la neurodermitis también se apreciaba una tinción difusa de la dermis con ICAM-1, que marcaba tanto las células fusiformes como las células redondas, además de las células endoteliales. Como promedio la presencia de ICAM-1 a nivel de la dermis fue de 2.43 ± 0.51 , entre un 50 y un 75% del total del infiltrado, con un marcaje más intenso a nivel de las células endoteliales. En 6 casos se tiñeron con ICAM-1 del 25 al 50% de las células de la dermis, en 4 entre un 50 y un 75% de las mismas, en 2 la tinción fue mayor del 75%, y, en las 2 restantes, la tinción fue inferior al 25%.

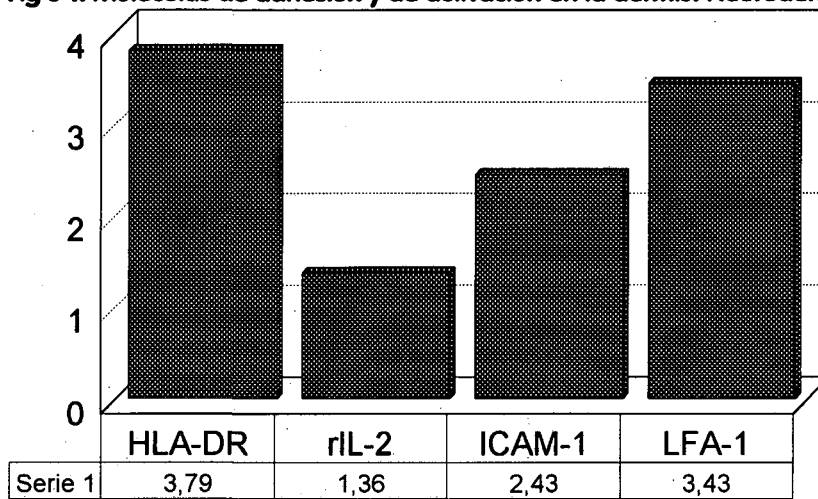
LFA-1/CD11a. Con este marcador la tinción a nivel de la dermis fue como promedio de 3.43 ± 0.51 , lo que representa más de un 75% del infiltrado. En 8 de los casos se tiñeron del 50% al 75% de las células y en las 6 restantes más del 75%.

Moléculas de adhesión y activación celular en la dermis

TABLA XXVIII. NEURODERMITIS. MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ACTIVACION A NIVEL DE LA DERMIS

Pac n°	HLA-DR	r-IL2	LFA-1	ICAM-1
11	4	1	4	2
15	4	1	4	2
24	3	1	4	3
67	4	2	4	3
69	4	2	3	4
95	4	1	3	2
98	3	1	3	4
104	4	1	3	3
105	4	1	3	1
120	4	2	4	1
133	4	2	3	2
141	3	1	4	2
147	4	1	3	2
148	4	2	3	3

Fig 54. Moléculas de adhesión y de activación en la dermis. Neurodermitis.



d4. Comparación de resultados (tabla XXIX y fig 56)

En la psoriasis más del 75% de las células del infiltrado, como promedio, expresaban HLA-DR, mientras que la expresión de rIL2 era mucho más baja. Dichos hallazgos coincidían en el liquen plano y en la neurodermitis. Entre las 3 enfermedades encontramos diferencias estadísticas: la neurodermitis era la que presentaba mayor expresión de HLA-DR y de LFA-1 y el liquen plano de rIL2 y de ICAM-1.

Fig 56. Moléculas de adhesión y activación en la dermis. Comparación de resultados.

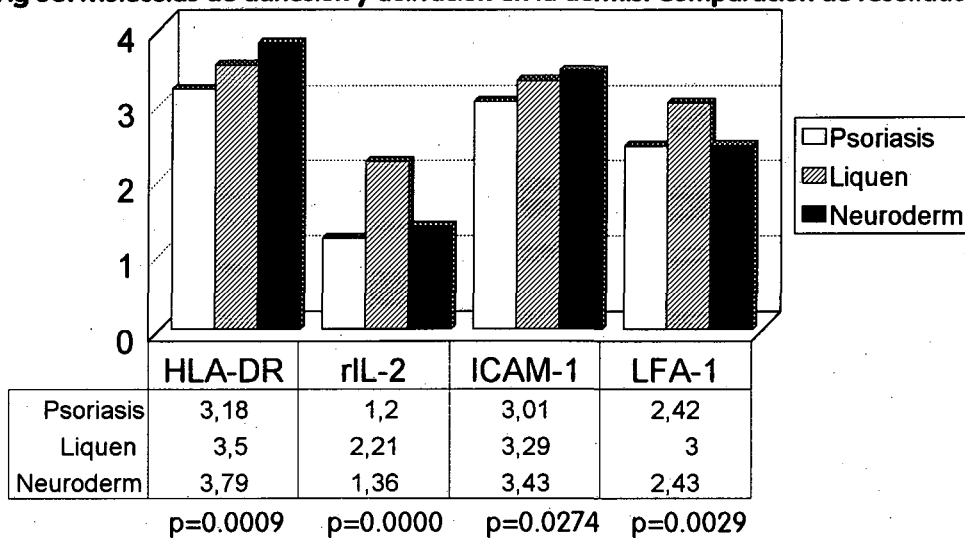


TABLA XXIX. MOLÉCULAS DE ACTIVACION Y DE ADHESION EN LA DERMIS. COMPARACION DE RESULTADOS.

	HLA-DR	r-IL2	LFA-1	ICAM-1
Ps	3.18±0.63	1.20±0.55	3.01±0.65	2.42±0.66
LRP	3.5±0.59	2.21±0.72	3.29±0.46	3±0.66
ND	3.79±0.43	1.36±0.5	3.43±0.51	2.43±0.94
	$p=0.0009$	$p=0.0000$	$p=0.0274$	$p=0.0029$

e. MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ACTIVACION CELULAR A NIVEL DE LA EPIDERMIS.

Como hemos comentado el nº de células del infiltrado epidérmico que expresaban en superficie los marcadores de activación celular (HLA-DR y rIL-2) o bien la molécula de adhesión LFA-1 se valoraron de forma cuantitativa en un campo de 400 aumentos. La expresión de ICAM-1 en la epidermis fue valorada de forma semicuantitativa de la siguiente forma: "0"=ausencia de células intraepidérmicas que expresen ICAM-1; "1"=expresión por células aisladas; "2"=expresión en focos aislados formando la típica imagen en "panal de abeja" y "3"=expresión multifocal y muy evidente.

c1. En la psoriasis (tablas XXXa, b y fig 57)

HLA-DR (Figs 42 y 43). En la epidermis psoriásica el HLA-DR es expresado por las células de Langerhans, otras células dendríticas accesorias, inmunocitos activados y por los propios queratinocitos (ver comentario). El promedio de células por campo que se tiñen con este marcador de superficie fue de 24.99 ± 9.41 , con un rango entre 5 y 48 células, observándose marcaje tanto de células redondas como de células dendríticas, siendo menor un marcaje en forma de "panal de abeja" característico de la tinción de los queratinocitos (no contabilizado). Las áreas donde se producía este tipo de tinción solían ser las suprapapilares y coincidían con las zonas de mayor infiltración. En 24 de las biopsias se tiñeron 20 o menos células, en 48 se tiñeron entre 20 y 40 células y en las 2 restantes se tiñeron de 40 a 60 células.

rIL-2 (CD25) (Fig 44). En la psoriasis hemos encontrado pocas células rIL-2+ en el infiltrado epidérmico. Esta molécula es característica de los linfocitos activados y los macrófagos. El promedio de células que se tiñeron con este marcador de superficie fue de 8.34 ± 8.21 , con un rango entre 0 y 65 células. En 73 biopsias se tiñeron 20 o menos células y únicamente en 1 se

tiñeron más de 60. En 17 casos pudimos apreciar una exocitosis de células rIL-2 + en la zona correspondiente al borde de la lesión, por fuera del inicio de la acantosis.

LFA-1/CD11a (Figs 48). El n° de células por campo que se tiñeron con LFA-1 a nivel de la epidermis como promedio de 33.93 ± 14.69 , con un rango entre 8 y 78 células. En 14 de los casos se tiñeron con LFA-1 20 o menos células, en 40 entre 20 y 40, en 15 entre 40 y 60 y en las 4 restantes más de 60 células. La LFA-1 es una molécula de adhesión que pertenece a la familia de las integrinas y es expresada por todos los leucocitos, en especial por los linfocitos T memoria.

ICAM-1/CD54 (Fig 45-47). A nivel de la epidermis la ICAM-1 es expresada por los queratinocitos activados y también por las células dendríticas accesorias (células de Langerhans y dendrocitos-macrófagos). Prácticamente en todas las biopsias producía tinción alrededor de las células de la capa basal. En 33 casos detectamos imagen "en panal de abeja" en múltiples focos intraepidérmicos, en 21 hemos detectado focos aislados, en 8, células positivas aisladas y en las 12 biopsias restantes no hemos detectado tinción ICAM-1 intraepidérmica. La imagen en panal de abeja se situaba en 45 casos predominantemente a nivel suprapapilar, en 21 predominantemente a nivel del fondo de las crestas y en los 8 restantes el patrón era mixto. Cuando se situaba a nivel suprapapilar solía coincidir con las áreas de "exudación" papilar (áreas de donde parte el infiltrado y se produce la exocitosis).

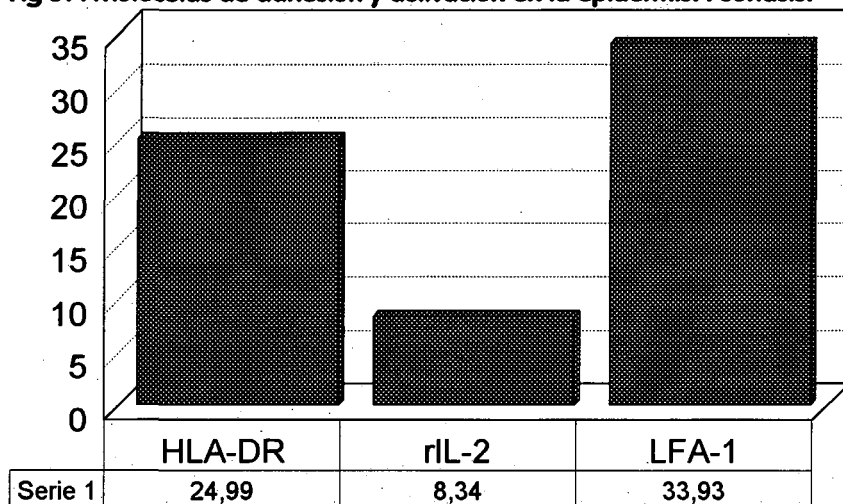
TABLA XXXa. MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ACTIVACION CELULAR EN LA EPIDERMIS. PSORIASIS EN PLACAS.

Pac n°	HLA-DR	r-IL2	LFA-1	ICAM-1
3	9	12	45	3
6	29	10	61	3
9	13	4	16	0
10	22	4	19	1
17	16	6	21	3
18	25	18	39	2
20	31	9	43	0
21	22	7	44	0
27	23	2	57	3
29	11	9	44	1
33	34	8	27	0
37	18	17	27	1
39	37	5	40	1
40	33	5	39	3
41	31	4	36	3
45	14	10	49	3
48	18	12	54	3
49	11	11	25	0
60	28	5	78	3
62	35	12	60	1
63	33	18	29	3
68	12	3	31	3
70	41	9	36	2
72	30	18	15	2
76	27	4	28	3
77	18	3	20	2
78	29	0	39	3
79	13	9	12	3
81	30	4	66	3
82	48	4	71	2
83	28	6	35	2
89	26	11	39	3
94	31	15	42	2
106	33	5	31	0
108	20	10	39	3
110	37	65	30	2
112	24	10	60	1
113	34	12	35	3
114	39	6	31	2
115	25	4	34	2
121	22	11	22	2
123	12	0	8	2
128	14	4	52	3
130	25	20	29	3
136	23	5	44	2
137	17	6	52	3
138	22	4	39	3
142	5	5	51	2
144	10	5	35	3
145	33	20	22	2

TABLA XXXb MOLECULAS DE ADHESION Y MARCADORES DE ACTIVACION CELULAR A NIVEL DE LA EPIDERMIS. PSORIASIS EN GOTAS.

Pac n°	HLA-DR	r-IL2	LFA-1	ICAM-1
1	28	8	30	3
7	32	6	38	3
16	38	6	42	0
19	11	4	22	3
22	18	7	29	2
31	9	5	17	3
36	24	5	8	2
38	18	5	19	2
42	31	4	16	1
44	35	12	20	0
51	22	11	33	3
56	37	4	17	3
65	33	4	21	3
75	29	5	22	2
85	19	18	18	3
88	9	12	35	2
92	35	7	33	0
93	31	4	29	1
96	30	4	22	0
97	38	2	41	3
101	36	0	27	2
111	18	8	28	0
116	21	7	23	0
125	26	3	20	3

Fig 57. Moléculas de adhesión y activación en la epidermis. Psoriasis.



e1.1. Moléculas de adhesión y de activación celular en la epidermis psoriásica al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5% (tablas XXXIa y b y fig 58).

A las 2 semanas de tratamiento con antralina se habían reducido el nº de de células que expresaban moléculas de adhesión y marcadores de activación celular a nivel de la epidermis. La expresión de HLA-DR tenía lugar en 15.37 ± 5.35 células por campo, la de rIL-2 en 2.7 ± 1.7 células y la de LFA-1 en 21.5 ± 5.21 . Se detectaron diferencias estadísticamente significativas respecto a los 3 marcadores ($p=0.0002$ con HLA-DR y rIL-2 y de 0.0044 con LFA-1). La tinción con ICAM-1, valorada semicuantitativamente, fue positiva, con imagen en panal de abeja multifocal en 3 pacientes, en 4 se detectaron focos aislados de panal de abeja, en 1 hubo tinción celular aislada y en 2 pacientes la tinción fue negativa.

Tabla XXXIa. Moléculas de adhesión y de activación celular en la psoriasis al cabo de 2 semanas de tratamiento con antralina al 0.5

Nº Pac	HLA-DR	rIL-2	LFA-1	ICAM-1
2	12	NR	NR	NR
86	14	NR	NR	NR
87	17	NR	NR	NR
103	9	NR	NR	NR
126	7	NR	NR	NR
131	6	NR	NR	NR
4	16	2	23	3
23	19	2	18	2
34	16	4	17	3
50	13	3	31	3
52	22	3	22	0
84	21	4	28	0
122	25	1	24	2
124	20	2	14	2
139	13	6	20	2
140	16	0	18	1