



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES PARA LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO
CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"

Medición de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+ en pacientes con psoriasis tratados con anti-TNF comparados con pacientes sin este tratamiento que acuden al servicio de dermatología del CMN "20 De Noviembre".

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:
DRA. LORENA DEL CARMEN ARAUJO AZPEITIA

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE POSGRADO EN:
DERMATOLOGÍA.

TUTORES DE TESIS: DRA. SAGRARIO HIERRO OROZCO
DRA. LUCÍA ACHELL NAVA

NÚM DE REGISTRO DE PROTOCOLO:

CIUDAD DE MÉXICO

JULIO DE 2016.





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AUTORIZACIÓN

DRA. AURA A. ERAZO VALLE SOLÍS
SUBDIRECTORA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN DEL I.S.S.S.T.E C.M.N “20
DE NOVIEMBRE”

DRA. SAGRARIO HIERRO OROZCO
JEFE DE SERVICIO DE DERMATOLOGÍA DEL I.S.S.S.T.E C.M.N “20 DE
NOVIEMBRE”

DRA. LUCÍA ACHELL NAVA
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE DERMATOLOGÍA DEL I.S.S.S.T.E C.M.N “20
DE NOVIEMBRE”

DRA. LORENA DEL CARMEN ARAUJO AZPEITIA
TESISTA PARA EL CURSO DE POSGRADO EN DERMATOLOGÍA I.S.S.S.T.E C.M.N
“20 DE NOVIEMBRE”

AGRADECIMIENTOS

A madre, mi hermano y mi padre que siempre han estado conmigo en todo momento y que siempre son mis ejemplos de valentía, coraje, inteligencia, amor y pasión por hacer nuestras labores.

A mis maestras titulares, la Dra. Sagrario Hierro Orozco y la Dra. Lucía Achell Nava, a quienes admiro por su excelencia en la dermatología, así como la gran pasión que siempre muestran al atender a los pacientes y enseñarnos dermatología. Gracias por la paciencia y por el gran apoyo que siempre me han brindado.

ÍNDICE

Resumen.....	5
Introducción.....	7
Antecedentes.....	7
Justificación.....	11
Hipótesis.....	12
Objetivos.....	12
Materiales y métodos.....	12
Resultados.....	18
Discusión.....	19
Conclusión.....	20
Bibliografía.....	21

Medición de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+ en pacientes con psoriasis tratados con anti-TNF comparados con pacientes sin este tratamiento que acuden al servicio de dermatología del CMN “20 De Noviembre”.

Resumen

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel. En cuanto a su patogenia, desde hace varias décadas se ha sugerido que es una enfermedad inmunitaria mediada principalmente por células T. Recientemente se han realizado investigaciones sobre las subpoblaciones de linfocitos T (CD4+, CD8+, relación CD4+/CD8+) en los compartimientos de la piel (epidermis-dermis) y sangre periférica en pacientes con Psoriasis. Sin embargo, hasta el momento los resultados no son concluyentes, por lo que continúa el estudio de estas células y su asociación con la severidad de la enfermedad, así como las modificaciones que sufren posterior al tratamiento con terapias biológicas (anti- Factor de necrosis tumoral alfa).

Objetivo:

Determinar el número de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+ en sangre periférica en pacientes con psoriasis tratados con anti-TNF y en aquellos con tratamiento tópico que acudan al servicio de Dermatología del CMN 20 de noviembre.

Material y Métodos:

Se realizó un estudio observacional, transversal y comparativo del primero de Abril del 2016 al 30 de junio del 2016 midiendo las subpoblaciones de células T en sangre periférica en pacientes con psoriasis tratados con anti-Factor de necrosis tumoral alfa (anti-TNF) comparados con aquellos pacientes que están en tratamiento tópico. Se determinó cantidad de linfocitos CD4+, CD8+ así como la relación CD4+/CD8+ en pacientes tratados con anti-TNF (adalimumab, etanercept, infliximab) comparados con aquellos pacientes en tratamiento tópico. Se realizó el análisis estadístico mediante la prueba de Pearson de R_{bp} .

Resultados: De acuerdo a la prueba de Pearson de R_{bp} , se buscó correlacionar los CD4 en pacientes que están en tratamiento anti-TNF y en pacientes en tratamiento tópico. Posterior a la prueba, el resultado fue $r^2 = -0.328$, $p = 0.044$, dando un resultado positivo en esta correlación,

Conclusiones:

En esta investigación encontramos que los pacientes con psoriasis presentan una reducción en los niveles séricos de linfocitos CD4+ y CD8+ comparados con los estudios de estas subpoblaciones en pacientes mexicanos sanos. Solo se encontró una correlación positiva entre los niveles séricos de linfocitos CD4+ y el tratamiento sistémico con anti-TNF. No se encontró correlación estadística entre los niveles de linfocitos CD8+ y la relación CD4+/CD8+ con el uso de medicamentos.

INTRODUCCION.

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel. En cuanto a su patogenia, desde hace varias décadas se ha sugerido que es una enfermedad inmunitaria mediada principalmente por células T. Recientemente se han realizado investigaciones sobre las subpoblaciones de linfocitos T (CD4+, CD8+, relación CD4+/CD8+) en los compartimientos de la piel (epidermis-dermis) y sangre periférica en pacientes con Psoriasis.

ANTECEDENTES.

PSORIASIS.

La Psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta piel y articulaciones, secundarios a una combinación de genes susceptibles, mecanismos inmunológicos y factores modificables que interactúan para el desarrollo de lesiones. (5,6) Su prevalencia mundial se estima en 1 a 3% (7) y aproximadamente del 2% en Europa y Norte América. Exhibe una distribución bimodal con un pico de incidencia entre los 15 años a los 30 años de edad y otras entre 50-60 años. (8) En México se calculan aproximadamente 2.5 millones de personas afectadas, de las cuales 25-30% pueden cursar con un cuadro clínico de moderado a severo. (6)

Esta enfermedad es impulsada por la interacción íntima entre los sistemas inmunes innatos y adaptativos. Las células dendríticas y las células T se consideran células efectoras clave, con una importante interacción de retroalimentación con células presentadoras de antígeno, neutrófilos, queratinocitos, células endoteliales vasculares, y el sistema nervioso cutáneo. (9)

CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LA PSORIASIS (14)

Clasificación	Fenotipos clínicos
1- Edad de inicio	Tipo I: edad de inicio antes de los 40 años Tipo II: edad de inicio antes de los 40 años
2- Grado de severidad acorde a la afección del área de superficie corporal (ASC) o por número de sitios	Psoriasis leve: <5% ASC Psoriasis moderada: 5-10% ASC Psoriasis severa: >10% ASC Psoriasis localizada o diseminada
3- Patrón de distribución	Inversa, flexor, Seborreica

4- Morfología	Placa, gutatta, eritrodérmica, pustular (diseminada/localizada), rupioides, elefantina
5- Sitio anatómico	Sebopsoriasis, psoriasis palmo-plantar, psoriasis genital, psoriasis ungueal, psoriasis anal
6- Estado de desarrollo	Psoriasis Estable en placa Psoriasis eruptiva inestable

En las lesiones de psoriasis se produce una hiperproliferación y una maduración anormal del queratinocitos acompañada de un infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos T con predominancia de células CD4+ en dermis y CD8+ en epidermis. Se ha visto que la activación local de estas células es crucial en el desarrollo y mantenimiento de las lesiones de psoriasis. (10)

Desde 1985, se han realizado investigaciones dirigidas al estudio de subpoblaciones de linfocitos T en los compartimientos de la piel (epidermis-dermis) y sangre periférica en pacientes con Psoriasis, así como su relación con la severidad y tratamientos.

Baker y cols., en 1985, estudiaron las subpoblaciones de células T (número de CD4+, CD8+, CD4+/CD8+) antes y después del tratamiento con PUVA en 17 pacientes con psoriasis. Previo al tratamiento, la relación CD4+/CD8+ fue muy similar en dermis y sangre periférica (2.17 y 2.05 respectivamente), a diferencia de la epidermis (0.66). Posterior al tratamiento con PUVA se observó una mejoría clínica de las lesiones de psoriasis así como una marcada reducción de células CD4+ y CD8+ en la epidermis. Esta reducción celular podría ser debido al efecto citotóxico directo, a la supresión de marcadores moleculares de la membrana celular, a la inhibición del reclutamiento celular o del flujo celular desde el compartimento epidérmico o una combinación de estos factores. Esto apoya la idea de que las lesiones de psoriasis son iniciadas y mantenidas por las células CD4+ las cuales entran a la epidermis e interactúan con las células presentadoras de antígeno. (11)

Hardman y cols., reportaron en 1999, el caso clínico de un hombre de 43 años con psoriasis vulgar diseminada severa, multitratado con PUVA, metotrexato, ciclosporina A, hidroxiurea y acitretina. Antecedentes patológicos de verrugas vulgares, enfermedad de Bowen, carcinomas basocelulares y espinocelulares. Serología negativa para virus de inmunodeficiencia humana (HIV-1 y HIV-2) mediante ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), así como para HTLV-1 y HTLV-2. Su conteo de leucocitos en sangre periférica dentro de límites normales $6.6 \times 10^9/L$, sin embargo con linfocitos $0.6 \times 10^9/L$ (normal 1.5-3.5). Los linfocitos CD4+ se detectaron bajos $0.04 \times 10^9/L$ (rango de referencia 0.7-1.1) y los linfocitos CD8+ estuvieron ligeramente reducidos $0.35 \times 10^9/L$ (referencia 0.5-0.9). Se cuantificó el número de linfocitos por campo de alto poder (x50) encontrando en epidermis un número bajo de CD4+ (36), una cantidad ligeramente aumentada de CD8+ (633) y una relación CD4+/CD8+ de 0.06; en dermis no hubo cambios significativos de CD4+ (170) y CD8+ (133), con una relación de 1.28 que se

traduce en un predominio de CD4+. Se sugiere que amplia variedad de terapias sistémicas podría estar implicada en esta linfopenia de CD4+, especialmente la ciclosporina A, aunque el conteo total de leucocitos este normal. (12)

Mahiques y cols., en el 2007, observaron un descenso significativo en las poblaciones linfocitarias de CD4+ y CD8+ tanto en el estrato dérmico como en el estrato epidérmico posterior a 12 semanas de tratamiento con etanercept en 10 pacientes con psoriasis. Sin embargo no hubo correlación significativa entre la variación de los linfocitos CD4+ ni CD8+ totales en las lesiones con la mejoría clínica del PASI ni diferencias significativas en las poblaciones linfocitarias medidas en sangre periférica (CD4+ y CD8+) antes y después del tratamiento. El descenso de linfocitos T en las lesiones tras el uso de anti-TNF también se ha constatado en modelos animales y sugiere que la proliferación local de células T en la psoriasis es dependiente de la producción local de TNF- α . El descenso de la relación CD4+/ CD8+ en dermis tras el tratamiento está de acuerdo con los estudios que sugieren que los linfocitos CD4+, pero no los CD8+, son capaces de desencadenar la lesión de psoriasis, indicando una resolución de las mismas. La ausencia de disminución de poblaciones linfocitarias en sangre se podría explicar por el corto tiempo del tratamiento, el tamaño pequeño de la muestra, la ausencia de modificación de los niveles sanguíneos de TNF en las fases iniciales del tratamiento con anti-TNF, una menor cantidad de TNF en sangre que en las lesiones y porque el etanercept no produce lisis de las células que expresan TNF. (10)

Van Lingen y cols., en el 2008, estudiaron la dinámica de las subpoblaciones de células T en sangre periférica y piel posterior al tratamiento con etanercept (9 pacientes) y efalizumab (9 pacientes). El índice de severidad y área de psoriasis disminuyó después de 12 semanas de tratamiento con etanercept, pero no con efalizumab. El número de todas las subpoblaciones de células T (CD4+, CD8+, CD25+, CD45RO+, CD161+) fueron disminuidas en la epidermis y dermis después de la administración de efalizumab. Con respecto al etanercept, se encontraron pocos cambios en las subpoblaciones de células T tanto en piel como sangre periférica. El efalizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante que se une específicamente a la subunidad CD11a del LFA-1 (antígeno-1 asociado a la función linfocitaria), una proteína de superficie de los leucocitos. Por este mecanismo, el efalizumab bloquea la unión del LFA-1 a las moléculas de adhesión celular 1 y 2 (ICAM), inhibiendo la activación de linfocitos T y tráfico de células T. Como resultado, se evita el movimiento de células T dentro de la epidermis y la dermis, y su activación-reactivación. Por lo tanto, efalizumab está dirigido para el tratamiento contra células T. (13)

LINFOCITOS CD4+ y CD8+

Los linfocitos de la sangre periférica representan sólo el 2% de la reserva total de linfocitos en el cuerpo humano (10×10^9 células). Estas células contienen proteínas específicas de superficie, que pueden ser detectadas mediante anticuerpos monoclonales y son llamados (cluster of differentiation" (CD). Esto permite subdividir a los linfocitos acorde a sus antígenos de superficie (CD) en células T, células B y células NK y definir subpoblaciones. (1)

Las células T pueden ser subdivididas en cuanto a su función, moléculas de superficie, marcadores intracelulares o por la secreción de moléculas como citocinas. Los subgrupos más importantes son definidos por sus marcadores de superficie CD4 y CD8; CD4 es el ligando de MHC-II y CD8 de MHC-I. Las células CD4+ (células CD4 positivas) son llamadas células T cooperadoras y las células CD8+, células citotóxicas. Las células T CD3+ representan del 69-93% de los linfocitos totales sanguíneos, seguido de las células CD4+ (35-72%) y células CD8+ (7-33%). (1)

Al estudiar las subpoblaciones de linfocitos en la sangre, únicamente se detecta el 2% del total. Los linfocitos se intercambian aproximadamente 50 veces por día. Esto significa que 500×10^9 de linfocitos pasan a través de la circulación de la sangre al día. También hay que considerar diversos factores fisiológicos tales como el estrés, el esfuerzo físico, edad, grupo étnico, tabaquismo o medicamentos pueden afectar a la distribución de las subpoblaciones. Además, hay un ritmo circadiano para las diferentes subpoblaciones. (1)

Razo y cols., realizaron en 1996, un estudio prospectivo en 130 adultos sanos mexicanos, de ambos sexos, con un rango de edad de 16 a 56 años, para determinar la cuenta de linfocitos en números absolutos en sangre periférica mediante citometría de flujo. Los valores en número absoluto $\times 10^6/L$ y porcentajes respectivamente fueron los siguientes: Linfocitos 1260-2350 (18-46%), CD3+ 865-2465 (53-83%), CD4+ 457-1536 (24-56%), CD8+ 280-1189 (17-41%) y relación CD4/CD8 0.8-2.7. (2)

Ortiz y cols. en 1999, realizaron un análisis de subpoblaciones de linfocitos por medio de citometría de flujo, en 50 jóvenes mexicanos sanos (25 mujeres y 25 hombres), con edades de 20 y 30 años. Los promedios y las desviaciones estándar fueron: CD3+ (66.9 \pm 6.2; 55-79%), CD4+ (37.8 \pm 4.7; 29-47%), CD8+ (32.4 \pm 5.9; 21-44%) y una relación CD4/CD8 1.2 \pm 0.3). (3)

Pérez y cols., en el 2013, publicaron la cuantificación de subpoblaciones de linfocitos T mediante citometría de flujo en 51 voluntarios sanos mexicanos, de entre 18 y 57 años de edad. El promedio y los intervalos de referencia obtenidos fueron: para CD3+ una media 194 (852-3,264); para CD4+, una media de 1,145 (580-1,944), para CD8+, una media de 771 (264-1,533) y para la relación CD4/CD8 se obtuvo una media de 1.67 (0.59-3.1). La relación entre los linfocitos CD4 y CD8 se conoce como la relación cooperador-supresor; en personas sanas, ésta se encuentra entre 0.9 y 1.9, lo que significa que hay una o dos células CD4 por cada CD8. (4)

La inmunofenotipificación de leucocitos de sangre periférica se ha empleado para establecer el status inmunológico en una amplia gamma de enfermedades. (2) Y recientemente, se han observado cambios en los patrones de subpoblaciones de linfocitos en varios estados de enfermedad. (1)

Situaciones clínicas asociadas a los cambios en las subpoblaciones de linfocitos (1)		
Subpoblación de linfocito	Aumentado	Disminuido
Células T	Infecciones agudas y crónicas, leucemia de células T, desequilibrio hormonal, abuso de drogas, Deportes competitivos, embarazo	Algunas infecciones e inmunodeficiencias, cirrosis alcohólica, hepatocarcinoma, fármacos inmunosupresores y cortisol, enfermedad autoinmune, algunos tumores, radiación, desnutrición (proteínas, hierro)
Células T CD4+	Algunas enfermedades autoinmunes, algunas leucemias de células T, algunas infecciones, desequilibrios hormonales	Inmunodeficiencias, algunas infecciones víricas, hepatopatía alcohólica, algunos tumores, enfermedades autoinmunes, medicamentos inmunosupresores y terapia con esteroides
Células T CD8+	Algunas infecciones virales, algunas leucemias de células T, anestesia general, menopausia prematura, estrés, algunas enfermedades autoinmunes, alergias (estado agudo)	Algunas enfermedades autoinmunes, infecciones, terapia inmunosupresora
Células T activadas	Infecciones, enfermedades autoinmunes, menopausia prematura, alergias, embarazo, cirrosis hepática alcohólica, tumores	

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel. En cuanto a su patogenia, desde hace varias décadas se ha sugerido que es una enfermedad inmunitaria mediada principalmente por células T. Recientemente se han realizado investigaciones sobre las subpoblaciones de linfocitos T (CD4+, CD8+, relación CD4+/CD8+) en los compartimientos de la piel (epidermis-dermis) y sangre periférica en pacientes con Psoriasis. Sin embargo, continúan en estudio la relación de estas células con la severidad de la enfermedad, así como las modificaciones que sufren posterior al tratamiento con terapias biológicas (anti- Factor de necrosis tumoral alfa). Por lo que se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Existen diferencias entre el número de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+ en pacientes con psoriasis en tratamiento con anti-TNF comparados con aquellos pacientes en tratamiento tópico?.

JUSTIFICACIÓN.

Las lesiones de psoriasis se producen por una hiperproliferación y una maduración anormal de queratinocitos acompañada de un infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos T con predominancia de células CD4+ en dermis y CD8+ en epidermis. Se ha visto que la activación local de estas células es crucial en el desarrollo y mantenimiento de las lesiones de psoriasis. Existen pocas investigaciones sobre estas subpoblaciones de linfocitos T (CD4+, CD8+), así como la relación CD4+/CD8+ medidas en los compartimientos de epidermis-dermis y sangre periférica en pacientes con Psoriasis.

La inmunofenotipificación de linfocitos de sangre periférica se ha empleado para establecer el status inmunológico en una amplia gamma de enfermedades. Recientemente se han observado valores bajos linfocitos CD4+ y CD8+ en sangre periférica no solamente en inmunodeficiencias, algunos tumores y enfermedades autoinmunes, si no también posterior a medicamentos inmunosupresores. En el caso de pacientes con psoriasis, existen investigaciones en las cuales solo se han encontrado cambios en el conteo de estos linfocitos a nivel de epidermis y dermis posterior al tratamiento con etanercept, pero no en sangre periférica (10, 13), sin embargo, es posible que estos resultados sean debido al reducido tamaño de la muestra así como el corto tiempo de seguimiento en estos pacientes.

Por otro lado, la relación entre los linfocitos CD4+ y CD8+ en sangre periférica se conoce como la relación cooperador-supresor; en personas sanas, ésta se encuentra entre 0.9 y 1.9, lo que significa que hay una o dos células CD4+ reguladoras por cada CD8+ citotóxicas. No hay estudios de este cociente en pacientes con enfermedades inflamatorias de la piel crónicas como la psoriasis.

El conocer si los tratamientos con anti-TNF afectan el número y la relación de linfocitos CD4+ y CD8+ en pacientes con Psoriasis, permitirá generar información acerca de la posible relación entre el grado de respuesta clínica a estos tratamientos y la disminución en el número de linfocitos, lo que podría llegar a ser un biomarcador predictivo de respuesta en estos pacientes. Además, de encontrarse una disminución

considerable de la cuenta linfocitaria, se podría buscar una asociación con el estado de inmunocompetencia en pacientes que reciben este tratamiento.

HIPÓTESIS.

Hipótesis nula.

Los pacientes con psoriasis tratados con anti-TNF no presentan diferencias en el número de CD4+, CD8+ ni en la relación CD4+/CD8+ comparados con los pacientes con psoriasis en tratamiento tópico.

Hipótesis alterna.

Los pacientes con psoriasis tratados con anti-TNF presentan disminución de las cifras de CD4+, CD8+ y disminución en la relación CD4+/CD8+ comparados con los pacientes con psoriasis en tratamiento tópico.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar el número de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+ en sangre periférica en pacientes con psoriasis tratados con anti-TNF y en aquellos con tratamiento tópico que acudan al servicio de Dermatología del CMN 20 de noviembre.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- 1 Medir en sangre periférica el número de linfocitos CD4+, CD8+ y así como la relación CD4+/CD8+.
- 2 Comparar los valores del número de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+ de los pacientes con psoriasis tratados con anti-TNF con aquellos pacientes con psoriasis en tratamiento tópico.
- 3 Determinar si el tratamiento con anti-TNF se asocia con la disminución de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+.
- 4 Determinar si la disminución de linfocitos CD4+, CD8+ y la relación CD4+/CD8+ se asocia con el tiempo de duración del tratamiento con anti-TNF.

Diseño y tipo de estudio. Transversal, descriptivo, observacional, comparativo.

Población de estudio. Pacientes del CMN 20 de Noviembre, con diagnóstico de psoriasis en tratamiento con anti-TNF y tratamiento tópico que acudan a la consulta de dermatología.

Universo de trabajo Pacientes del CMN 20 de Noviembre, con diagnóstico de psoriasis en tratamiento con anti-TNF y tratamiento tópico.

Tiempo de ejecución. 1ero de Abril del 2016 al 30 de junio del 2016.

Definición del grupo control. Pacientes del CMN 20 de Noviembre, con diagnóstico de psoriasis que se encuentren recibiendo tratamiento tópico.

Definición del grupo a intervenir. Pacientes del CMN 20 de Noviembre, con diagnóstico de psoriasis que se encuentren recibiendo tratamiento con anti-TNF (etanercept, adalimumab, infliximab).

Criterios de inclusión. Pacientes del CMN 20 de Noviembre que acudan al servicio de dermatología con las siguientes características:

- 1 Diagnóstico de psoriasis mediante estudio de histopatología.
- 2 Que se encuentren en tratamiento con anti-TNF o con tratamiento tópico.
- 3 Que consientan el estudio.
- 4 Pacientes con edad igual o mayor a 18 años.

Criterios de exclusión. 1 Pacientes que no consientan el estudio.

2 Pacientes con diagnóstico previo de hepatopatías, leucemias o serología positiva para Virus de inmunodeficiencia humana.

3 Pacientes con otro tratamiento sistémico distinto al anti-TNF.

Criterios de eliminación. Pacientes que decidan retirar su consentimiento informado para participar en el estudio.

Tipo de muestreo.

12.6.1 Muestreo probabilístico. Se realizará muestreo no probabilístico.

Muestreo no probabilístico. Se realizará un muestreo no probabilístico a conveniencia del investigador, ya que se incluirán a todos los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión.

Metodología para el cálculo del tamaño de la muestra y tamaño de la muestra. Considerando que en el estudio de investigación realizado en el CMN 20 de noviembre en sujetos sanos (4), la media para CD4+ es 1 145 cel/microL, con una desviación estándar de 309. Y en el estudio de investigación realizado posterior al tratamiento con etanercept (10) se obtuvo una media de CD4+ de 1021. 67, con una desviación estándar de 409.63. Se realiza un cálculo de muestra con la siguiente fórmula:

$$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta}) DE}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

Donde:

Z_{α} = valor de z relacionado con $\alpha = 0.05$

Z_{β} = valor de z relacionado con $\beta=0.10$ (poder del 90%)

DE= desviación estándar de CD4

μ_1 = media de CD4 del grupo sano

μ_2 = media de CD4 para el grupo posterior al tratamiento con anti-TNF

$$n = 2 \frac{[1.96 - (-1.28)] 409.63}{1145 - 1021.62}^2$$

$$n = 2 \frac{[1.96 - (-524.326)]}{123}^2$$

$$n = 2 \frac{[526.32]}{123}^2$$

$$n = 2 (4.28)^2$$

$$n = 2(18.31)$$

$$n = 36.62$$

Por lo que se requiere 37 por cada grupo.

Descripción operacional de las variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Tipo de variable
----------	-----------------------	------------------------	--------------------	------------------

Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual.	Tiempo transcurrido desde la fecha de nacimiento hasta el momento del estudio.	Años	Cuantitativa Continua
Género	Características genotípicas que definen el sexo.	Características fenotípicas en los pacientes para definir su sexo.	Masculino o Femenino	Cualitativa nominal dicotómica
Diagnóstico de Psoriasis	Enfermedad inflamatoria crónica de la piel corroborada por hallazgos específicos en el estudio histopatológico.	Enfermedad inflamatoria crónica de la piel corroborada por hallazgos específicos en el estudio histopatológico.	Psoriasis vulgar, psoriasis guttata, psoriasis eritrodérmica, psoriasis numular, sebopsoriasis, psoriasis invertida.	Cualitativa nominal.
Fecha del Diagnóstico de la Psoriasis	Indica el tiempo en el que se hace el diagnóstico mediante estudio histopatológico.	Tiempo en el que se hace el diagnóstico obtenido mediante interrogatorio y revisión de expediente.	Hace 1 año, 2 años, 5 años, 10 años a la fecha de revisión del paciente.	Cuantitativa continua.
Linfocitos T CD4+ en sangre periférica	Número de Subpoblaciones de linfocitos T CD4+ medidos en sangre periférica	Medición del número de linfocitos T CD4+ en una muestra de sangre periférica mediante citometría de flujo	410-1590 cel/microL	Cuantitativa continua
Linfocitos T CD8+ en sangre periférica	Número de Subpoblaciones de linfocitos T CD8+ medidos	Medición del número de linfocitos T CD8+ en una muestra de sangre	190-1140 cel/microL	Cuantitativa continua

	en sangre periférica	periférica mediante citometría de flujo		
Relación CD4+/CD8+.	El cociente entre el número de linfocitos T CD4+ entre el número de linfocitos CD8+ medidos en sangre periférica.	El cociente entre el número de linfocitos T CD4+ entre el número de linfocitos CD8+ medidos en sangre periférica mediante citometría de flujo	2	Cuantitativa discontinua
Índice de severidad y área de la psoriasis (PASI).	Escala para medir y clasificar la severidad clínica de la psoriasis.	Escala que valora el grado de afección cutánea asignando un puntaje del 1 al 4 para la severidad del eritema, la infiltración o engrosamiento, el tamaño de la escama de las lesiones así como el porcentaje de superficie corporal afectada, multiplicada cada una por una por una constante.	Leve (0-20) Moderada (21-50) Severa (51-72).	Cualitativa ordinal

Técnicas y procedimientos.

Se recopiló la siguiente información de cada uno de los pacientes:

1 Edad.

2 Género.

3 Fecha del Diagnóstico de Psoriasis.

4 Cálculo del Índice de severidad y área de la psoriasis (PASI).

Mediante punción sanguínea, con toma de 10 ml de sangre y citometría de flujo, se determinó:

1 El número de Linfocitos T CD4+ y CD8+ en sangre periférica.

2 Relación CD4+/CD8+.

Procesamiento y análisis estadístico.

Con base en las características de las variables y la matriz de datos, se determinó que la prueba conveniente para el análisis final, es la Correlación Biserial Puntual (R_{bp}) La justificación estriba en que nos proponemos medir dos variables, una de las cuales es dicotómica y la otra es ordinal u escalar, buscando únicamente correlación entre ambas, siendo la prueba correcta R_{bp} (Juárez, López & Villatoro, 2014)¹

ASPECTOS ÉTICOS.

El presente estudio se apegó a los principios básicos de investigación en humanos de acuerdo a Las Buenas Practicas Para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos de la Organización Mundial de la Salud, la Declaración de Helsinki, el Código de ética médica de Núremberg, así como lo establecido por la Ley General de Salud en material de investigación para la salud. De acuerdo a esta última, este estudio se clasifica como riesgo mínimo para los pacientes.

Mediante el consentimiento informado, se explicó al paciente que la participación en este estudio es voluntaria, así como los objetivos, la justificación de los beneficios y los riesgos de esta investigación, se les informó que tienen el derecho de retirar su consentimiento informado en el momento que lo deseen, sin que esto afecte su proceso de atención en este hospital.

Se aseguró la confidencialidad de todos los participantes mediante la codificación de datos personales. Se utilizó solo las letras iniciales del nombre del paciente, así como el número del expediente, los cuales se codificaron con dos letras y 3 números, posteriormente se ingresó a una base de datos que estuvieron resguardados por los investigadores y solo estos tendrán acceso a la misma.

¹ Juárez Francisco, López Elsa, Villatoro Jorge, 2014, *Apuntes para la investigación en salud*, Juárez editores: Francisco, López Elsa, Villatoro Jorge, Programa universitario de investigación en salud, UNAM, Ciudad de México.

RESULTADOS:

Se reclutaron 38 pacientes con psoriasis, 17 mujeres (44.7%) y 21 hombres (55.3%) con edades comprendidas entre 29 años y 79 años, con una media de 58.2 años, las edades más frecuentes 55, 58, 63 y 67 años de edad. A todos los pacientes se les midió el Índice de Severidad del área de Psoriasis (PASI); el puntaje más bajo cero puntos y el más alto fue de 29.4 puntos, con una media de 4.36. Los valores de linfocitos CD4+ séricos fueron la mínima de 224 cel/microL, el máximo fue 2025 cel/microL, con una media de 882.82 cel/microL y para los linfocitos CD8+ cel/microL séricos se reportó una máxima de 1777 cel/microL y mínimo 120 cel/microL, con una media de 551.53 cel/microL. Doce (31.5%) pacientes estaban en tratamiento con adalimumab, 10 (26.3) con etanercept, uno (2.6%) con infliximab y 15 (39.4%) pacientes con tratamiento tópico.

Con base en las características de las variables y la matriz de datos, se determinó que la prueba conveniente para el análisis final, es la Correlación Biserial Puntual (Rbp) La justificación estriba en que nos proponemos medir dos variables, una de las cuales es dicotómica y la otra es ordinal u escalar, buscando únicamente correlación entre ambas, siendo la prueba correcta Rbp (Juárez, López & Villatoro, 2014)²

De acuerdo a la prueba de Pearson de Rbp, se buscó correlacionar los niveles séricos de linfocitos CD4+ en pacientes que están en tratamiento anti-TNF y en pacientes en tratamiento tópico. Posterior a la prueba, el resultado fue $r^2 = -0.328$, $p = 0.044$, dando un resultado positivo para la correlación entre los niveles de CD4+ y el tratamiento con anti-TNF, como se muestra en la siguiente tabla:

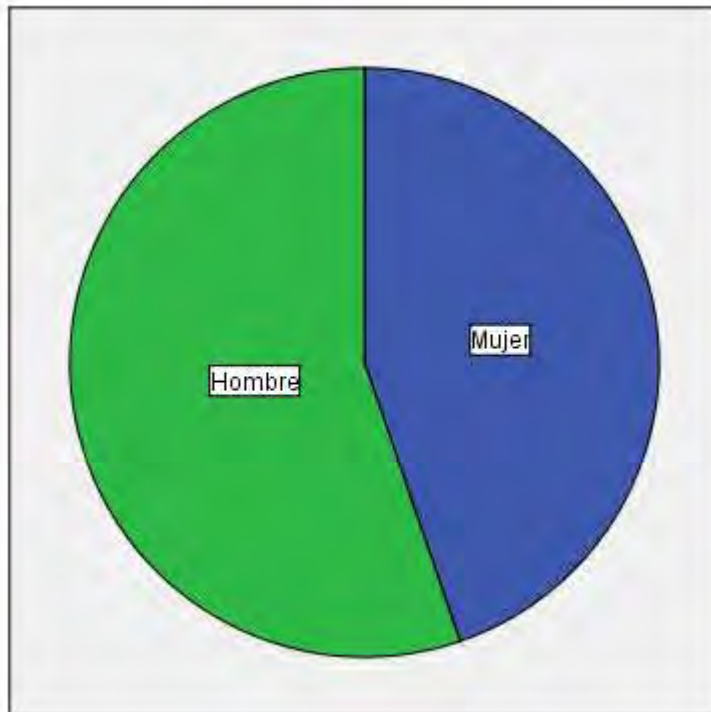
De acuerdo a la prueba de Pearson de Rbp, se buscó correlacionar los niveles séricos de linfocitos CD8+ en pacientes que están en tratamiento con anti-TNF y en pacientes en tratamiento tópico. Posterior a la prueba, el resultado fue $r^2 = 0.288$, $p = 0.080$, dando un resultado negativo en esta correlación.

De acuerdo a la prueba de Pearson de Rbp, se buscó correlacionar el cociente de la relación de linfocitos CD4+/CD8+ en pacientes que están en tratamiento anti-TNF y en pacientes en tratamiento tópico. Posterior a la prueba, el resultado fue $r^2 = -0.100$, $p = 0.551$, dando un resultado negativo en esta correlación.

² Juárez Francisco, López Elsa, Villatoro Jorge, 2014, *Apuntes para la investigación en salud*, Juárez editores: Francisco, López Elsa, Villatoro Jorge, Programa universitario de investigación en salud, UNAM, Ciudad de México.

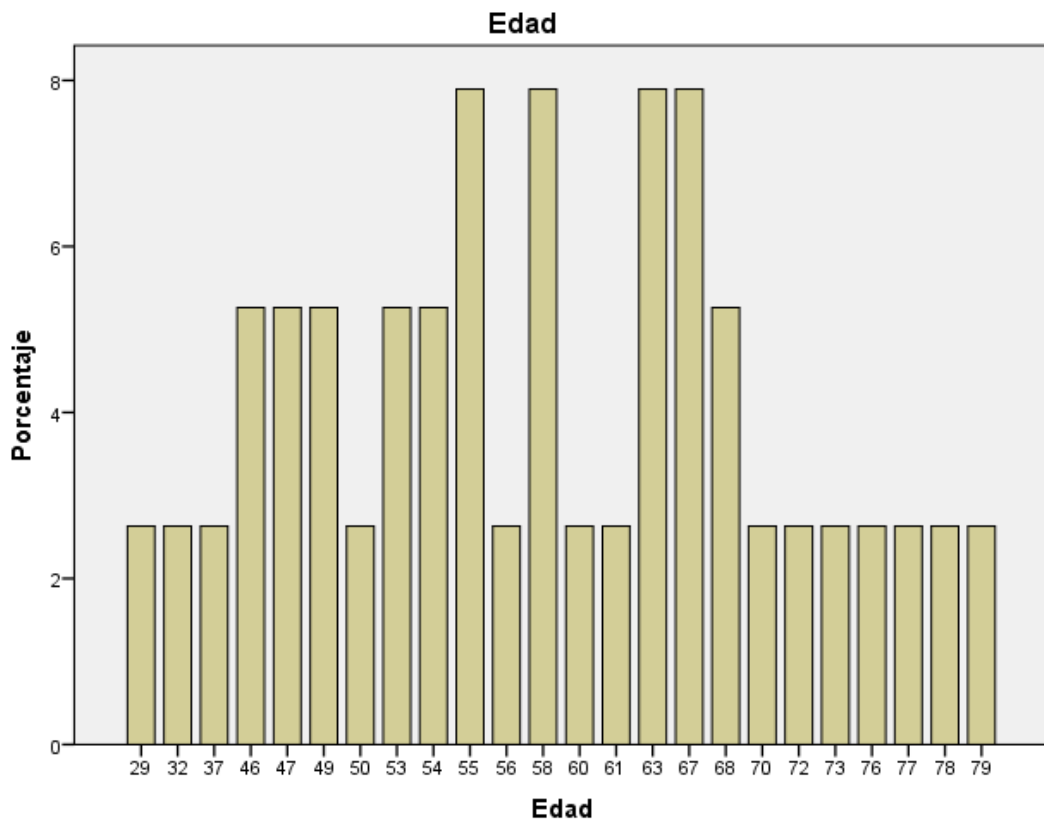
Tabla 1 Correlación Biserial Puntual Resultado de R_{bp} entre los CD4 y los pacientes en tratamiento y no tratamiento	
Correlación de Pearson	0.328
P	0.044

Gráfica 1 por género, 38 pacientes con psoriasis, 17 mujeres (44.7%) y 21 hombres

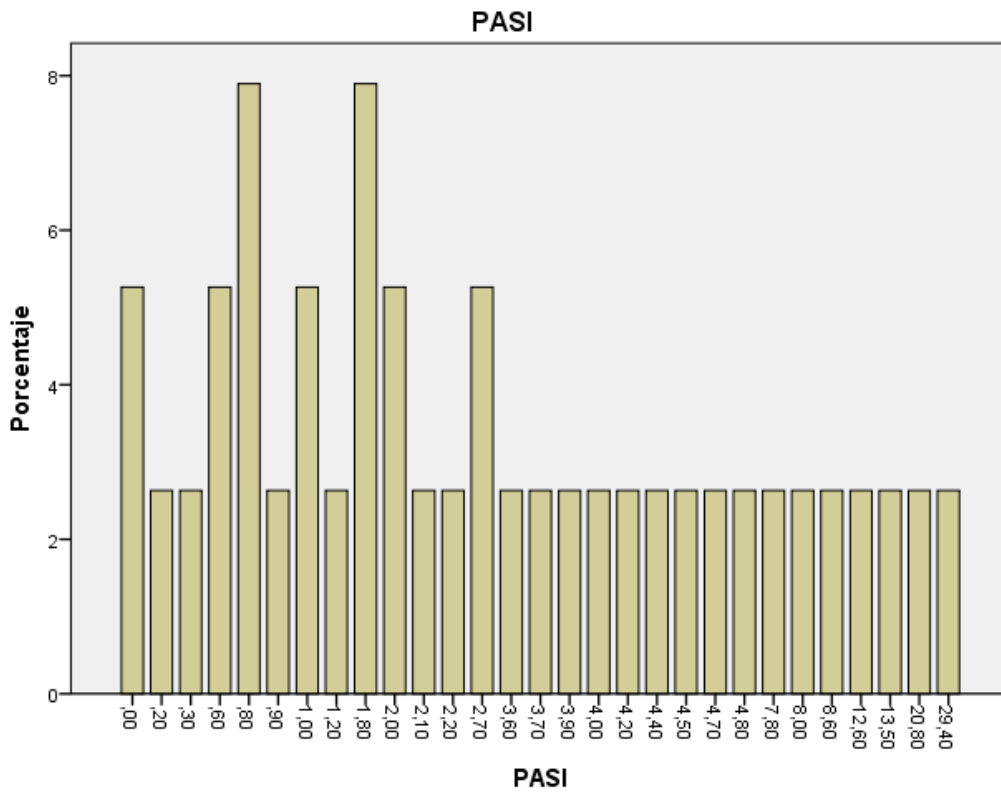


(55.3%)

Gráfica 2 de porcentajes de edades.



Gráfica 3 Porcentaje de puntajes de PASI.



CONCLUSIONES:

En las lesiones de psoriasis se produce una hiperproliferación y una maduración anormal del queratinocitos acompañada de un infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos T con predominancia de células CD4+ en dermis y CD8+ en epidermis. Se ha visto que la activación local de estas células es crucial en el desarrollo y mantenimiento de las lesiones de psoriasis. En esta investigación encontramos que los pacientes con psoriasis presentan una reducción en los niveles séricos de linfocitos CD4+ y CD8+ comparados con los estudios de estas subpoblaciones en pacientes mexicanos sanos. Solo se encontró una correlación positiva entre los niveles séricos de linfocitos CD4+ y el tratamiento sistémico con anti-TNF. No se encontró correlación estadística entre los niveles de linfocitos CD8+ y la relación CD4+/CD8+ con el uso de medicamentos. Sin embargo, este estudio solo es de corte transversal y observacional, lo que limita poder correlacionar o asociar los niveles de linfocitos con los medicamentos sin poder determinar una causa directa o una intervención directa entre linfocitos y los anti TNF.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1 Schwenk M, Sack U, Esser C, Klein R. **Diagnostic relevance of the determination of lymphocyte subpopulations in environmental medicine.** *Int J Hyg Environ Health.* 2007;210(2):177-98.
- 2 Razo D, García J, Lorente L. **Cuantificación de subpoblaciones de linfocitos de sangre periférica por citometría de flujo. Determinación de intervalos de referencia en población adulta sana de la Ciudad de México.** *Revista Mexicana de Patología Clínica.* 1996;43(1):21-26.
- 3 Ortiz R, Cortés L, González C, Cortés E, Betancourt M. **Subpoblaciones de linfocitos en sangre periférica de jóvenes mexicanos sanos: Estudio por medio de citometría de flujo.** *Bioquímica.* 1999;24(1):18-22.
- 4 Pérez MG, Castrejón MI, Vargas ME, Guido R, Ortiz F, Galicia J, et. al. **Determinación de concentraciones de subpoblaciones de linfocitos en donadores adultos sanos del CMN 20 de Noviembre, ISSSTE.** *Rev Esp Méd Quir.* 2013;18:228-234.
- 5 Boehncke W, Schön M. **Psoriasis.** *Lancet.* 2015;386(9997):983-94.
- 6 **Tratamiento farmacológico para pacientes adultos con psoriasis en placas.** México: *Secretaría de Salud*;2013.

- 7 Mease P, Armstrong A. **Managing Patients with Psoriatic Disease: The Diagnosis and Pharmacologic Treatment of Psoriatic Arthritis in Patients with Psoriasis.** *Drugs.* 2014;74(4):423-41.
- 8 Perera G, Di Meglio P, Nestle F. **Psoriasis.** *Annu Rev Pathol.* 2012;7:385-422.
- 9 Boehncke WH. **Etiology and Pathogenesis of Psoriasis.** *Rheum Dis Clin North Am.* 2015;41(4):665-75.
- 10 Mahiques L, Pitarch G, Sánchez JL, Pérez A, Soriano CJ, Alegre V. **Analysis of lymphocyte populations in psoriatic plaques following inhibition of tumor necrosis factor alpha with etanercept.** *Actas Dermosifiliogr.* 2007;98(8):539-44.
- 11 Baker BS, Swain AF, Griffiths CE, Leonard JN, Fry L, Valdimarsson H. **Epidermal T lymphocytes and dendritic cells in chronic plaque psoriasis: the effects of PUVA treatment.** *Clin Exp Immunol.* 1985;61(3):526-34.
- 12 Hardman CM, Baker BS, Lortan J, Breuer J, Suretheran T, Powles A, et. al. **Active psoriasis and profound CD4+ lymphocytopenia.** *Br J Dermatol.* 1997;136(6):930-2.
- 13 Van Lingen RG, Körver JE, van de Kerkhof PC, Berends MA, van Rens DW, Langewouters AM, et. al. **Relevance of compartmentalization of T-cell subsets for clinical improvement in psoriasis: effect of immune-targeted antipsoriatic therapies.** *Br J Dermatol.* 2008;159(1):91-6.
- 14 Raychaudhuri S, Mavroukakis E, Raychaudhuri S. **Diagnosis and classification of psoriasis.** *Autoimmun Rev.* 2014;13(4-5):490-5.