

VNIVERSIDAD DE SALAMANCA

**FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



**ESTUDIO DE PROTEÍNAS REGULADORAS
DEL CICLO CELULAR EN PSORIASIS
MEDIANTE MATRICES TISULARES**



DIRECTORES:

**DRA. EMILIA FERNÁNDEZ LÓPEZ
DR. ÁNGEL SANTOS-BRIZ TERRÓN**

**MÓNICA RONCERO RIESCO
SALAMANCA, 2013**

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**ESTUDIO DE PROTEÍNAS REGULADORAS DEL CICLO CELULAR EN
PSORIASIS MEDIANTE MATRICES TISULARES**

Mónica Roncero Riesco

Salamanca, 2013

Directores:

Dra. Emilia Fernández López

Dr. Ángel Santos-Briz Terrón

**A mis padres,
Isabel y Augusto.**

AGRADECIMIENTOS

Han sido muchas las personas que con sus conocimientos, consejos y ánimos han colaborado en la elaboración de esta tesis. A todas ellas quiero dar mi agradecimiento más sincero. De modo especial, quiero dar las gracias:

A la Dra. Emilia Fernández López, Profesora Titular de Dermatología de la Universidad de Salamanca y Jefa de Servicio de Dermatología del Complejo Hospitalario de Salamanca, codirectora de esta tesis; por los conocimientos recibidos durante mi periodo de formación como Médico Interno Residente, por estimular en mí la vocación investigadora, por su ayuda cuando las cosas se pusieron difíciles con el Grado de Salamanca y sin duda, por ser mi modelo como médica dermatóloga.

Al Dr. Angel Santos-Briz Terrón, Profesor Asociado de Anatomía Patológica de la Universidad de Salamanca y Dermatopatólogo del Departamento de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario de Salamanca, codirector de esta tesis; por haber compartido conmigo muchas horas de trabajo y madrugones, alentarme siempre a continuar con el esfuerzo, marcar las directrices de este trabajo y reírnos mucho.

Al Dr. Javier Bravo Piris, Profesor Titular de Dermatología de la Universidad de Salamanca y Jefe de Sección de Dermatología del Complejo Hospitalario de Salamanca; por su colaboración iconográfica y su cariño.

Al Dr. Rafael González Celador, profesor titular de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Salamanca; por hacerme ver la estadística más sencilla y comprensible.

A Olga Ramos Hernández, becaria del Servicio de Dermatología del Complejo Hospitalario de Salamanca, por toda la ayuda prestada en el área informática, por su disponibilidad siempre con una sonrisa y por su amistad.

A Estefanía Moyano Sanz, por su ayuda técnica y su buen humor constante.

Al resto del personal médico, adjuntos y residentes, así como al personal técnico, auxiliar y de secretaría del Servicio de Dermatología del Complejo Hospitalario de Salamanca por su colaboración en este trabajo.

A mis padres, que han estado siempre a mi lado y me han apoyado cuando las cosas se ponían más difíciles. Ellos son para mí el ejemplo a seguir en esfuerzo y humanidad.

A mi familia, por su interés en este proyecto.

A Darío por sus consejos y paciencia.

A Valentina y a Leo, que han nacido en el tiempo que ha durado este trabajo, por las horas robadas y por vuestra ternura que me daba fuerzas para continuar.

Contenido

<i>I. Introducción</i>	1
1. PSORIASIS.....	3
1.1. Epidemiología.....	3
1.1.1. Incidencia.....	3
1.1.2. Prevalencia.....	4
1.1.3. Factores de riesgo asociados al desarrollo de psoriasis.....	7
1.2. Patogenia.....	13
1.2.1. Psoriasis: el componente epidérmico.....	13
1.2.2. Rasgos inmunopatológicos de la psoriasis.....	14
1.2.3. El sistema inmune innato y el papel de los queratinocitos.....	14
1.2.4. Las células dendríticas.....	15
1.2.5. Las células T.....	15
1.2.6. Red de citocinas.....	16
1.2.7. Apoptosis y psoriasis.....	177
1.3. Clínica.....	17
1.3.1. Psoriasis en placas.....	18
1.3.2. Psoriasis en gotas.....	19
1.3.3. Eritrodermia psoriásica.....	20
1.3.4. Psoriasis pustulosa.....	21
1.3.5. Otras formas clínicas de psoriasis.....	21
1.4. Diagnóstico.....	24
1.4.1. Raspado metódico de Brocq.....	25
1.4.2. Histopatología.....	26
1.5. Diagnóstico diferencial clínico.....	30
1.6. Psoriasis y calidad de vida.....	31
1.7. Tratamiento.....	32
2. CICLO CELULAR.....	34
2.1. Ciclo celular y psoriasis.....	34
2.2. Regulación del ciclo celular.....	35
2.2.1. Puntos de control en el ciclo de división celular.....	36
2.2.2. Proteínas que controlan el ciclo celular.....	38

3.	MATRICES TISULARES.....	47
3.1.	Recuerdo histórico y principios de la tecnología de matrices tisulares.....	47
3.2.	Aspectos técnicos de la construcción de los tissue microarrays.....	48
3.3.	Validación de los resultados obtenidos con la técnica de tissue microarrays.....	50
3.4.	Ventajas de la metodología de los TMA.....	51
3.5.	Manejo de datos con TMA.....	52
3.6.	Tissue microarrays y enfermedades cutáneas.....	53
<i>II.</i>	<i>Justificación, hipótesis y objetivos.....</i>	<i>55</i>
1.	JUSTIFICACIÓN.....	57
2.	HIPÓTESIS.....	58
3.	OBJETIVOS.....	58
<i>III.</i>	<i>Material y métodos.....</i>	<i>59</i>
1.	SELECCIÓN DE LOS CASOS Y CONTROLES.....	61
1.1.	Selección de los casos.....	61
1.2.	Selección de los controles.....	61
2.	VARIABLES CLÍNICAS ESTUDIADAS.....	62
3.	REALIZACIÓN DE LAS MATRICES TISULARES.....	64
3.1.	Selección de las muestras histológicas.....	64
3.2.	Diseño del tissue microarray.....	64
3.3.	Selección de los bloques donantes.....	64
3.4.	Selección de la zona a pinchar en el bloque.....	65
3.5.	Realización del bloque máster.....	65
3.6.	Corte de los TMA.....	71
4.	PROTOCOLO DEL MÉTODO INMUNOHISTOQUÍMICO.....	71
5.	VALORACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	74
5.1.	Tinción con hematoxilina-eosina.....	75
5.2.	Tinciones inmunohistoquímicas.....	76
6.	ALMACENADO DE DATOS.....	78
7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	799

<i>IV. Resultados</i>	81
1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	83
1.1. Variables demográficas	83
1.1.1. Edad.....	83
1.1.2. Sexo	84
1.2. Variables clínicas	85
1.2.1. Diagnóstico.....	85
1.2.2. Diagnóstico clínico de presunción.....	86
1.2.3. Localización de la biopsia	87
1.2.4. Tiempo de evolución de las lesiones.....	89
1.2.5. Clínica lesión biopsiada	91
1.2.6. Comorbilidades	91
1.2.7. Antecedentes familiares.....	92
1.3. Variables histológicas	92
1.3.1. Hiperplasia epidérmica psoriasiforme	92
1.3.2. Hipogranulosis.....	93
1.3.3. Paraqueratosis.....	93
1.3.4. Exocitosis de neutrófilos	94
1.3.5. Neutrófilos en capa córnea	95
1.3.6. Mitosis suprabasales	95
1.3.7. Edema en dermis papilar	96
1.3.8. Capilares dilatados y congestivos en papilas dérmicas.....	97
1.3.9. Infiltrado inflamatorio dérmico.....	97
1.3.10. Espongiosis	98
1.3.11. Atrofia suprapapilar	99
1.3.12. Grosor epidérmico	99
1.3.13. Área epidérmica en 0,5 mm.....	100
1.3.14. Perímetro epidérmico en 0,5 mm.....	100
1.4. Variables histológicas	103
1.4.1. Valoración inmunohistoquímica de las proteínas estudiadas	103
1.4.2. Frecuencias de las variables biológicas desglosando por diagnóstico.....	107
2. RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ESTUDIADAS	109
2.1. Relación entre las variables clínicas	109
2.1.1. Relación entre el diagnóstico y las características clínicas	109

2.1.2.	Relación entre las características clínicas	110
2.2.	Relación entre las variables histológicas.....	111
2.3.	Relación entre las variables inmunohistoquímicas.....	112
2.4.	Relación entre variables clinicopatológicas	117
2.4.1.	Relación entre el diagnóstico y las características histopatológicas.....	117
2.4.2.	Relación entre la descripción clínica y las características histopatológicas.....	118
2.5.	Relación entre variables clínicas y biológicas.....	124
2.5.1.	Relación entre el diagnóstico y las variables biológicas.....	124
2.5.2.	Relación entre las características clínicas y las variables biológicas	128
2.5.3.	Relación entre variables histopatológicas y biológicas	1355
 <i>V. Discusión</i>		 <i>149</i>
1.	p63.....	151
2.	Ciclina E	155
3.	p27.....	158
4.	CDK2	160
5.	Mtx, psoriasis y CDK2	163
6.	ki67	164
7.	Ciclina A.....	167
8.	CDK1	170
9.	p21.....	172
10.	p53	175
11.	Ciclina D1	182
12.	bcl-2	185
13.	La técnica de matrices tisulares-tissue microarrays en patología cutánea	186
13.1.	Ventajas de la metodología de los TMA.....	188
14.	Psoriasis y eccema crónico palmoplantar.....	189
 <i>V. Conclusiones</i>		 <i>195</i>
1.	GENERALES.....	197
2.	METODOLÓGICAS.....	197

VI.	<i>Bibliografía</i>	199
-----	---------------------------	-----

Tablas

Tabla 1.- Datos demográficos de los pacientes evaluados	4
Tabla 2.- Resumen de estudios sobre la prevalencia de la psoriasis	6
Tabla 3.- Genes relacionados con la patogenia de la psoriasis....	8
Tabla 4.- Familia de inhibidores de las quinasas y función inhibidora.....	42
Tabla 5.- Plantilla de distribución de los casos y controles.....	66
Tabla 6.- Plantilla de distribución de los casos y controles especificando cada diagnóstico por código de colores.....	67
Tabla 7.- Relación de anticuerpos empleados	72
Tabla 8.- Estadística descriptiva y distribución de las edades de los pacientes estudiados (casos y controles).....	83
Tabla 9.- Distribución de los pacientes según el sexo	84
Tabla 10.- Porcentaje de concordancia entre diagnóstico clínico e histopatológico.....	87
Tabla 11.- Distribución en porcentajes de la localización de la biopsia	88
Tabla 12.- Porcentaje de las biopsias realizadas en áreas fotoexpuestas	89
Tabla 13.- Distribución del tiempo de evolución de las lesiones biopsiadas en la muestra	90
Tabla 14.- Frecuencia y porcentajes de las combinaciones de dos características clínicas.....	91
Tabla 15.- Distribución de preparaciones con hiperplasia epidérmica psoriasiforme.....	92
Tabla 16.- Distribución de preparaciones con hipogranulosis	93
Tabla 17.- Distribución de preparaciones con paraqueratosis	94
Tabla 18.- Distribución de preparaciones con excitosis de neutrófilos	94
Tabla 19.- Distribución de preparaciones con neutrófilos en capa córnea	95
Tabla 20.- Distribución de preparaciones con mitosis suprabasales	96
Tabla 21.- Distribución de preparaciones con edema en dermis papilar	96
Tabla 22.- Distribución de preparaciones de capilares dilatados en papilas dérmicas	97
Tabla 23.- Distribución de preparaciones de infiltrado inflamatorio dérmico	98

Tabla 24.- Distribución de preparaciones con espongiosis.....	98
Tabla 25.- Distribución de preparaciones con atrofia suprapapilar.....	99
Tabla 26.- A.- Grosor epidérmico. B.- Área epidérmica en 0.5 mm. C.- Perímetro epidérmico en 0.5 mm	101
Tabla 27.- Resultados obtenidos tras la valoración inmunohistoquímica de las proteínas estudiadas.....	104
Tabla 28.- Frecuencia de las variables biológicas desglosadas por diagnóstico	108
Tabla 29.- Distribución de casos con descamación.....	110
Tabla 30.- Distribución de casos con prurito.....	110
Tabla 31.- Pacientes con descamación en la lesión cutánea biopsiada frente a induración	111
Tabla 32.- Pacientes con descamación en la lesión cutánea biopsiada frente a prurito	111
Tabla 33.- Relación estadística entre las variables histopatológicas en toda la muestra	113
Tabla 34.- Intensidad de asociación entre variables histopatológicas.....	114
Tabla 35.- Relación estadística entre la expresión de diferentes proteínas en toda la cohorte (n=136). Valor de χ^2 y nivel de significación	115
Tabla 36.- Relación estadística entre la expresión de diferentes proteínas en toda la cohorte (n=136). Valor de OR e IC 95%.....	116
Tabla 37.- Resultados histopatológicos, indicando el % de casos positivos en cada grupo de pacientes con o sin psoriasis.....	117
Tabla 38.- Asociación estadísticamente significativa entre la hiperplasia y el eritema.....	118
Tabla 39.- Asociación estadísticamente significativa entre eritema y atrofia suprapapilar	119
Tabla 40.- Paraqueratosis relacionada con la menor frecuencia de la induración.....	119
Tabla 41.- Relación entre la descamación y las variables histopatológicas	120
Tabla 42.- Relación entre el prurito y las variables histopatológicas.....	121
Tabla 43.- Relación entre la edad del paciente y las mitosis suprabasales.....	122
Tabla 44.- Relación entre la localización de la biopsia y las variables histopatológicas	123
Tabla 45.- Relación entre la piel fotoexpuesta y las variables histológicas	123

Tabla 46.- Relación entre el tiempo de evolución de la enfermedad y las variables histopatológicas	124
Tabla 47.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con o sin diagnóstico de psoriasis.....	125
Tabla 48.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con diagnóstico de psoriasis palmoplantar y no palmoplantar	126
Tabla 49.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con diagnóstico de psoriasis y eccema	127
Tabla 50.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con diagnóstico de psoriasis palmoplantar y eccema	127
Tabla 51.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin eritema	128
Tabla 52.- Relación entre la induración y la p53	129
Tabla 53.- Relación entre la induración y la p21	129
Tabla 54.- Relación estadísticamente significativa entre la descamación y la ciclina E.....	130
Tabla 55.- Relación estadísticamente significativa entre la descamación y la p63.....	130
Tabla 56.- Relación estadísticamente significativa entre la descamación y la positividad de la proteína ki67.....	131
Tabla 57.- Relación estadísticamente significativa entre el prurito y la proteína p63.....	131
Tabla 58.- Relación estadísticamente significativa entre el prurito y la proteína p53.....	132
Tabla 59.- Relación estadísticamente significativa entre el prurito y la proteína ki67	132
Tabla 60.- Relación estadísticamente significativa entre localización de biopsia y ciclina D1.....	133
Tabla 61.- Relación estadísticamente significativa entre localización de biopsia y p63	133
Tabla 62.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin fotoexposición.....	134
Tabla 63.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin hiperplasia epidérmica.....	135

Tabla 64.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin hipogranulosis.....	136
Tabla 65.- Relación estadísticamente significativa entre paraqueratosis y proteína p63	137
Tabla 66.- Relación estadísticamente significativa entre paraqueratosis y la proteína p21.....	137
Tabla 67.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin exocitosis de neutrófilos.....	138
Tabla 68.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin neutrófilos en capa córnea	139
Tabla 69.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin mitosis suprabasales.....	140
Tabla 70.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin edema en dermis papilar	141
Tabla 71.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupos de pacientes, con y sin capilares dilatados.....	142
Tabla 72.- Relación entre el infiltrado inflamatorio y la positividad de la proteína p63	143
Tabla 73.- Relación entre el infiltrado inflamatorio y la positividad de la proteína ki67.....	143
Tabla 74.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin atrofia suprapapilar	144
Tabla 75.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con y sin espongiosis.....	145
Tabla 76.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con área epidérmica $< 0 \geq$ que la mediana.....	146
Tabla 77.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con perímetro epidérmico $< 0 \geq$ que la mediana	147
Tabla 78.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con grosor epidérmico $< 0 \geq$ que la mediana	148
Tabla 79. – Estudios clínicos prospectivos sobre el efecto de terapias en la	

psoriasis. Expresión inmunohistoquímica de Ki-67	166
Tabla 80.- Tabla resumen de los estudios con p53 en psoriasis	181
Tabla 81.- Características histológicas de psoriasis palmoplantar y dermatitis eccematosa	190
Tabla 82.- Características histopatológicas en 42 biopsias cutáneas de palmas y plantas	191

Figuras

Figura 1.- Fenómenos de Koebner. 1a.- Inicio de la aparición de lesiones de psoriasis después de una laceración. 1b.- Lesiones de psoriasis en pliegues inframamarios desencadenados por el roce de los aros metálicos del sujetador	11
Figura 2.- Esquema resumen de la patogenia de la psoriasis	16
Figura 3.- Placa de psoriasis bien delimitada, eritematosa con descamación blanca plateada característica	18
Figura 4.- Grandes placas de psoriasis. 4a.- Afectando región sacra y glúteos. 4b.- Superficie de extensión de extremidades inferiores	19
Figura 5.- Psoriasis en gotas. Erupción de múltiples lesiones salpicadas por todo el cuerpo, de 2mm-1cm de diámetro precedida de un cuadro de amigdalitis estreptocócica.....	20
Figura 6.- Psoriasis ungueal. 6a.- Piqueteado o pit ungueal y mancha de aceite. 6b.- Paciente con marcada hiperqueratosis ungueal.....	22
Figura 7.- Psoriasis palmoplantar hiperqueratósico. 7a.- Placas descamativas y fisuras de bordes bien definidos. 7b.- Afectación en este caso de zonas de mayor fricción en dorso de mano	23
Figura 8.- Psoriasis de cuero cabelludo. Placas bien delimitadas con importante componente hiperqueratósico sobre base eritematosa.....	24
Figura 9.- Raspado metódico de Brocq. 9a.- Signo de La bujía o de la mancha de cera. 9b.- Membrana de Duncan Buckley. 9c.- Signo del Rocío hemorrágico de Auspitz	25
Figura 10.- Histopatología de una placa de psoriasis desarrollada completamente	27
Figura 11.- Ciclo celular	35
Figura 12.- Las ciclinas son proteínas cuya presencia en la célula sufre variaciones acordes con la etapa del ciclo, debido a su síntesis y degradación en distintas fases del mismo	39
Figura 13.- Esquema de las distintas ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas. Se muestran parejas que se asocian y los puntos de control del ciclo en los que actúan (127)	41

Figura 14.- Esquema de la técnica de TMA tal y como la describió Kononen en su artículo.....	47
Figura 15.- A.- Material necesario para la realización de las matrices tisulares: arrayer de la marca Beecher Instruments, y casos y controles organizados. B.- Sistema digital de medición micrométrica	68
Figura 16.- Realización del bloque máster. Paso 1.....	68
Figura 17.- Realización del bloque máster. Paso 2.....	68
Figura 18.- Realización del bloque máster. Paso 3.....	69
Figura 19.- Realización del bloque máster. Paso 4.....	69
Figura 20.- Iconografía de los tissue microarrays. a.- Bloque I. b.- Bloque II.....	70
Figura 21.- Para nuestro estudio de los bloques se cortaron de la manera tradicional (izquierda). Se desestimó el uso de sistemas de ayuda, como cintas autoadhesivas (derecha) ...	71
Figura 22.- Distribución de casos según la edad de inicio de la psoriasis	84
Figura 23.- Porcentajes de frecuencias en los distintos tipos de psoriasis en el grupo de casos	85
Figura 24.- Porcentajes de frecuencias de los diferentes diagnósticos en el grupo control	86
Figura 25.- Microfotografía ejemplo de hiperplasia epidérmica psoriasiforme	92
Figura 26.- Microfotografía ejemplo de hipogranulosis.....	93
Figura 27.- Microfotografía ejemplo de paraqueratosis.....	94
Figura 28.- Microfotografía ejemplo de exocitosis de neutrófilos.....	94
Figura 29.- Microfotografía ejemplo de neutrófilos en capa córnea	95
Figura 30.- Microfotografía ejemplo de mitosis suprabasales.....	96
Figura 31.- Microfotografía ejemplo de edema en dermis papilar.....	96
Figura 32.- Microfotografía ejemplo de capilares dilatados en papilas dérmicas	97
Figura 33.- Microfotografía ejemplo de infiltrado inflamatorio dérmico	98
Figura 34.- Microfotografía ejemplo de espongiosis	98
Figura 35.- Microfotografía ejemplo de atrofia suprapapilarl	99
Figura 36.- Microfotografías ejemplo de mediciones mediante el programa CELL	

del grosor epidérmico, área epidérmica en 0.5 mm y perímetro epidérmico en 0.5 mm	102
Figura 37.- Ejemplo de positividades de expresión de las proteínas. A.- ki-67, B.- ciclina A, C.- ciclina D1, D.- p63, E.- ciclina E, F.- CDK-1, G- CDK-2, H.- p21, I.- p27, J.- p53, K.- bcl-2	106
Figura 38.- Ejemplo de dos patrones de expresión de la proteína p63. A.- Patrón con tinción nuclear en las capas epidérmicas más inferiores con pérdida en las superiores (psoriasis). B.- Patrón dónde la pérdida de expresión de p63 en capas superiores era discreta o nula (pitiriasis rosada)	153
Figura 39.- Relación de las ciclinas con el ciclo celular	155
Figura 40.- Tinción nuclear con p27 de queratinocitos en capas altas, respetando la capa basal. Ejemplo de positividad en el grupo de casos.....	157
Figura 41.- En nuestro estudio, la expresión de p27 se localizaba en queratinocitos de los estratos supraespinosos respetando la capa basal y suprabasal, con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo de casos	159
Figura 42.- Tinción nuclear difusa de CDK2 en los estratos epiteliales superiores en 4 casos de psoriasis (A-D, x200). Ejemplos de tinción negativa en el grupo control (E-H, x200) ...	163
Figura 43.- Tinción nuclear de ciclina A con predominio en capa basal y suprabasal. Ejemplo de positividad en el grupo casos	169
Figura 44.- Tinción nuclear de CDK1, ejemplo de positividad en el grupo de casos.....	172
Figura 45.- En nuestro estudio, la expresión de p21 se localizaba en queratinocitos suprabasales, respetando capa basal con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo de casos.....	174
Figura 46.- En nuestro estudio, la expresión de p53 se localizaba en queratinocitos basales y suprabasales con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo de control.....	178
Figura 47.- En nuestro estudio, la expresión de p53 se localizaba en queratinocitos basales y suprabasales con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo control.....	179

Figura 48.- Tinción nuclear de Ciclina D1 de predominio en capa basal. Ejemplo de positividad en grupo control.....	185
Figura 49.- Esquema que reproduce la disminución de recursos empleados con la técnica de tissue microarrays en el presente estudio.....	187

I. Introducción

1. PSORIASIS

1.1.Epidemiología

Las lesiones cutáneas características de la psoriasis permiten realizar en la mayoría de las ocasiones su diagnóstico fácilmente. Sin embargo, los estudios epidemiológicos de la psoriasis están limitados por distintas razones. En primer lugar no existen unos criterios diagnósticos universales. La segunda razón es el curso tan heterogéneo de la enfermedad así como los distintos grados de severidad percibida por los pacientes. No todos los enfermos buscan atención médica después del inicio de los síntomas (1).

1.1.1.Incidencia

La incidencia cuantifica el número de casos nuevos de una enfermedad que aparecen en una población de riesgo durante un periodo de tiempo específico. Sobre la incidencia de la psoriasis existen escasos estudios, principalmente por la falta de criterios epidemiológicos establecidos y el curso tan variable de la enfermedad (2).

En estudios de incidencia llevados a cabo en Minnesota en dos marcos temporales diferentes se estimó una incidencia de psoriasis de 60,4 (95% Intervalo de confianza [CI]: 49.5-70.3) por 100.000 personas entre los años 1980-83 y 107,7 (95% CI: 102.2-114.2) por 100.000 entre los años 1982-90 (3, 4). Más recientemente, en un estudio en Reino Unido, la incidencia de psoriasis en el periodo 1996-97 se estimó en 140 por 100.000 personas año (5).

Comparando estos tres estudios se observa un aumento de la incidencia de psoriasis con el tiempo. Recientemente se ha publicado un estudio que analiza por primera vez la tendencia de la incidencia de la psoriasis en adultos a lo largo de tres décadas, describiendo un aumento significativo en la incidencia de esta patología entre 1970 y 2000. Aunque las razones para este aumento son desconocidas, los autores sugieren un cambio real en la incidencia o cambios en los patrones de diagnóstico en la población (2).

1.1.2.Prevalencia

La prevalencia se define como la proporción de individuos en una población que tienen la enfermedad de interés en un periodo de tiempo específico. Diferentes estudios sobre prevalencia de la psoriasis llevados a cabo en distintas partes del mundo hablan de un rango entre 0,6 y 4,8% (6-8).

Esta prevalencia se considera relativamente alta, principalmente como resultado de la cronicidad de la enfermedad y la ausencia de cura (8).

Los estudios mencionados difieren en la fuente de población estudiada (diferentes edades, población general o clínica), la definición de prevalencia (de punto, periodo o prevalencia de vida) y en la definición de diagnóstico de la psoriasis (autodiagnóstico o diagnóstico por médico). En España, Ferrándiz y cols. (9) estimaron una prevalencia entre 1,2 y 1,4 % en un estudio demográfico a 1774 pacientes cuyas características quedan resumidas en la tabla 1.

Table I. Demographic data of the evaluated patients (n = 1774)

Ethnic origin	
White	1736 (99.5%)
Other	9 (0.5%)
ND	29
Sex	
Male	939 (53.11%)
Female	829 (46.9%)
NS	6
Current age, y (mean):	43.3 (± 0.4)
Age (y) at onset (mean):	29.1 (± 0.4)
Male	31.8 (± 0.4)
Female	28.2 (± 0.6)

ND, No data available; NS, not specified.

Tabla 1.- Datos demográficos de los pacientes evaluados.

La afectación articular de la psoriasis tiene una gran importancia socioeconómica por la incapacidad que provoca a quien la padece (10). Sin embargo durante mucho tiempo la prevalencia de la artritis psoriásica en pacientes con psoriasis era desconocida (11).

Hace años la estimación de la proporción de pacientes psoriásicos con afectación articular estaba entre 5-10% (12-14). Investigaciones más recientes aumentan la cifra al 20% (15).

a. Impacto de la situación geográfica y de la etnia sobre la prevalencia de psoriasis

La prevalencia de la psoriasis parece variar según la región geográfica estudiada así como el grupo de población, por ejemplo, según la etnia (16). En un estudio de gemelos en Australia, los investigadores encontraron que la psoriasis era más frecuente en estados del sur donde el clima es más frío, comparados con los del norte (17). El mismo tipo de variación geográfica se observó en un estudio en Noruega que mostraba prevalencias mayores de psoriasis en el Norte, es decir, en las zonas más frías del país (18).

Diversos estudios indican que el factor étnico puede influir también en la prevalencia de la psoriasis. Así, se han constatado altas tasas de psoriasis en poblaciones de las islas Faroe, donde un estudio observó que el 2,8% de la población estaba afectada (19).

Sin embargo, en otros grupos étnicos como los japoneses, la prevalencia de psoriasis es baja, y puede estar ausente incluso en los aborígenes australianos y en los indios sudamericanos (20).

Estas variaciones de la prevalencia de psoriasis basadas en factores geográficos y étnicos sugieren un posible rol de ambiente físico, como el clima, factores genéticos y patrones de comportamiento en el desarrollo de la psoriasis (16). En la tabla 2 se resumen los principales estudios de prevalencia de psoriasis llevados a cabo.

b. Impacto de la edad y el sexo sobre la prevalencia de psoriasis

El inicio de la psoriasis puede ocurrir desde el nacimiento hasta edades avanzadas. La determinación precisa de la edad de inicio (o comienzo) en los estudios es problemática, mientras algunos autores apelan al recuerdo del paciente, que resulta impreciso (8), otros prefieren el momento del primer diagnóstico médico, lo que tampoco es fiable teniendo en cuenta que los pacientes pueden presentar la enfermedad mucho tiempo antes de consultar (21).

Área geográfica	Autor	Método diagnóstico	Nº de sujetos en la población de estudio	Media (edad)*	Prevalencia estimada (%)	Ref.
UK	Gelfand et al. (7)	PR	7.533.475 (todas las edades)	LT	1,5	7
China	Yip (22)	SR	670.000	LT	0,05-0,8	22
Suecia	Lindegård (23)	PR	159.200	PP (10 años)	2,3	23
USA	Koo (24)	SR	50.000 (todas las edades)	LT	2,6	24
Suecia	Hellgren (25)	PR	38.670 (>6 años)	PT	2,0	25
USA	Stern et al (26)	SR	27.220 (>18 años)	LT	2,2	26
USA	Johnson (27)	PR	20.749 (1-74 años)	PT	1,4	27
Noruega	Kavli et al (28)	SR	14.667 (20-54 años)	LT	4,8	28
España	Ferrandiz et al (29)	SR	12.938 (todas las edades)	LT	1,2-1,4	29
Islas Faroe	Lomholt (19)	PR	1.094	PT	2,8	19
Noruega	Braathen et al (30)	SR	10.576 (todas las edades)	LT	1,4	30
Croacia	Barisic-Drusko et al (31)	PR	8.416 (>18 años)	PT	1,5	31
Billesdon, Leicestershire (UK)	Nevitt (32)	SR y PR	5.395 (todas las edades)	PT	1,5	32
Dinamarca	Brandrup et al (33)	SR	3.892 (16-99 años)	LT	3,2 (masculino) 2,5 (femenino)	33
Italia	Naldi et al (34)	SR	3.660 (>45 años)	PT	3,1	34
Noruega (Lapps)	Falk (35)	PR	2.963 (todas las edades)	LT	1,4	35
USA-Afroamericanos	Gelfand et al (36)	SR	2.443 (>18 años)	LT	1,3	36
Inglaterra	Rea et al (37)	SR y PR	2.180 (15-74 años)	PT	1,6	37
Noruega (Lapps)	Kavli et al (38)	PR	2.000	PP (4 años)	0,6	38
Busselton, Australia	Quirk (39)	PR	1.037 (adultos)	PT	2.3	39

Tabla 2.- Resumen de estudios sobre la prevalencia de la psoriasis.

*Todos los rangos de edad de las poblaciones de estudio son identificados, a menos que sean desconocidos. LT: prevalencia de vida, PP: período de prevalencia, PR: informe médico, PT: prevalencia puntual, SR: auto-informe.

Henseler y cols. describieron dos picos de inicio de psoriasis, relacionando la asociación de una edad de inicio más temprana con el antígeno HLA-Cw6, así como con una historia familiar positiva (40). Estos hallazgos les llevaron a proponer dos tipos de psoriasis: tipo I con inicio de psoriasis antes de los 40 años y asociación HLA y tipo II con edad de inicio después de los 40 y sin asociación HLA. No todos los estudios sobre edad de inicio observan esta bimodalidad, aunque en poblaciones blancas hay un acuerdo general al respecto (41-43).

La mayoría de los estudios sugieren que la psoriasis puede ser ligeramente más prevalente en hombres que en mujeres (8, 16, 42). Recientemente se ha corroborado este dato, encontrando incidencias de psoriasis algo mayores en hombres que en mujeres con excepción de la sexta década de la vida, sugiriendo un rol potencial de las hormonas sexuales en la etiología de la enfermedad (2). No existe evidencia de diferencias en cuanto a la morfología de la psoriasis entre hombres y mujeres (42).

1.1.3. Factores de riesgo asociados al desarrollo de psoriasis

Numerosos estudios han intentado definir los factores de riesgo para el desarrollo de la psoriasis. La historia familiar (genética) es el factor de riesgo mejor establecido (16). Para intentar esclarecer si las infecciones, el consumo de alcohol y el tabaco constituyen factores de riesgo potenciales se han llevado a cabo varios estudios. La influencia de la dieta es sin embargo poco valorada como riesgo potencial para la psoriasis y muy pocos estudios la analizan (8).

a. Genética

Las bases genéticas de la psoriasis se intuyeron desde hace muchos años (44). El componente genético evidente de la psoriasis viene avalado por los resultados de estudios de población. Estos estudios muestran una tendencia a la agrupación familiar. El riesgo de psoriasis en la descendencia se ha estimado de 41% si ambos padres están afectados, 14% si sólo está afectado uno de ellos, y 6% si hay un hermano enfermo, comparado con el 2% cuando no existe familiar de primer grafo afecto (45, 46).

Los antígenos de histocompatibilidad (HLA) son antígenos de superficie de las células humanas y la región cromosómica correspondiente se denomina complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Está situado en el brazo corto del cromosoma 6. La psoriasis se relaciona con varios antígenos: HLA-B13, HLA-B17, HLA-B37 y HLA-Bw16. Estudios adicionales revelaron que estas últimas asociaciones eran secundarias a una con el HLA-Cw6. De hecho, el HLA-Cw6 confiere un riesgo relativo de 13 para desarrollar psoriasis en la población caucásica (47).

El modo de herencia de la psoriasis es complejo. Una herencia poligénica proporciona el mejor modelo de la genética compleja de la psoriasis. Los estudios de ligamiento genético han demostrado varios locus genéticos en esta enfermedad. Análisis genómicos han identificado al menos 9 loci cromosómicos relacionados con psoriasis estadísticamente significativos. De estos loci, el mayor determinante genético de psoriasis es PSORS1 (48) que supondría entre el 35-50% de la heredabilidad de la enfermedad. PSORS1 está localizado dentro del complejo mayor histocompatibilidad (MHC) en el cromosoma 6p (49). La relación de genes implicados con la psoriasis se detalla en la tabla 3. Mientras que la existencia de un componente genético en la psoriasis es cierta, la localización exacta de los genes implicados permanece en estudio (21).

GEN	LOCUS	CROMOSOMA
PSORS1	6p21.3	6
PSORS2	17q	17
PSORS3	4q	4
PSORS4	1cen-q21	1
PSORS5	3q21	3
PSORS6	19p13	19
PSORS7	1p	1
PSORS8	16q	16
PSORS9	4q31	4
PSORS10	18p11.23	18

Tabla 3.- Genes relacionados con la patogenia de la psoriasis (<http://www.mad-cow.org/00/human-inherited.html>)

b. Estilo de vida

Se ha demostrado que tanto el estilo de vida como el hábito corporal influyen en las manifestaciones de psoriasis (42). Los individuos obesos presentan más frecuentemente una psoriasis más severa, pero la obesidad parece no jugar un papel en el desarrollo de la enfermedad ya que no existe diferencia entre el índice de masa corporal entre pacientes psoriásicos y controles en el momento de inicio de la psoriasis (50). Hasta el momento no se han realizado trabajos prospectivos que específicamente evalúen la pérdida de peso en la psoriasis, pero en un estudio que evaluaba el efecto de una dieta hipocalórica se detectó una mejoría significativa 4 semanas después comparado con el grupo control (51).

La dieta parece jugar un papel en la enfermedad. Factores dietéticos como los ácidos grasos poliinsaturados, el gluten y el alcohol parecen influenciar la psoriasis en un número importante de enfermos. El consumo de alcohol parece ser prevalente en la psoriasis. Una proporción significativa de exceso de mortalidad en pacientes con psoriasis moderada o severa se podría atribuir a este hábito tóxico (52). El consumo de alcohol también se ha asociado con un área corporal afectada (BSA) mayor en la psoriasis, indicando que su consumo puede llevar a una exacerbación de la enfermedad (52).

Los ácidos grasos poliinsaturados se han visto implicados en numerosos procesos inflamatorios y autoinmunes debido a la superproducción de ácido araquidónico (derivado eicosanoide) (42). Dietas ricas en n-3 ácidos grasos, como el ácido eicosapentanoico, pueden provocar la sustitución del ácido araquidónico y por lo tanto inhibir su conversión en mediadores proinflamatorios como las prostaglandinas (prostaglandina E₂) y leucotrienos (LTB₄). Los estudios realizados para evaluar los efectos de los n-3 ácidos grasos poliinsaturados en el tratamiento de psoriasis son hasta ahora inconsistentes, y el papel de su uso en el manejo de la enfermedad no está claro (52).

Se ha visto que los pacientes con psoriasis tienen con mayor frecuencia anticuerpos antigliadina (53). Una dieta libre de gluten puede ser beneficiosa para dichos pacientes (54).

El papel del tabaco como factor de riesgo para la psoriasis permanece actualmente en estudio. Aunque fumar se ha relacionado tanto con la patogénesis como con la progresión de la enfermedad, todavía no se dispone de datos concluyentes. Se ha

descrito la mejoría de psoriasis pustuloso palmoplantar al dejar de fumar, no así en el caso de psoriasis en placas (55). Sería interesante clarificar el impacto de fumar en la historia natural de la enfermedad y respuesta al tratamiento, así como si padecer psoriasis hace a una persona más susceptible de fumar (16).

c. Infecciones

- **Estreptococo**

El estreptococo es el agente infeccioso mejor caracterizado en la psoriasis (42, 56). Esta infección parece ser capaz no sólo de desencadenar la enfermedad sino además de exacerbar una psoriasis en placas preexistente. La asociación de la faringitis estreptocócica y la psoriasis guttata se describió por primera vez en 1916 y desde entonces se ha confirmado repetidamente en múltiples estudios, confirmando la existencia de una fuerte evidencia en asociar la infección estreptocócica como causa principal de la psoriasis guttata (56, 57). La psoriasis guttata se caracteriza por el desarrollo de pequeñas lesiones de psoriasis dos semanas después de una faringitis. Las lesiones permanecen varias semanas, resolviéndose posteriormente o progresando a psoriasis en placas y cronificándose el proceso.

En el caso de la psoriasis en placas el papel del estreptococo como agente patogénico permanece en controversia, si bien se ha observado una alta tasa de portadores de estreptococos faríngeos entre estos pacientes (56).

Aunque la infección por estreptococo es el desencadenante de psoriasis más común y mejor definido, se ha observado que otras infecciones pueden causar la exacerbación de psoriasis. Estos agentes infecciosos incluyen *Candida*, *Malassezia*, VIH (57), *Stafilococo aureus* (localizado en la piel), *Helicobacter pylori* (58), *Coxsackie adenovirus* (59) y *Yersinia* (60).

- VIH

El VIH se ha asociado con la exacerbación severa de la Psoriasis (61). Sin embargo, parece que el VIH no desencadena la psoriasis en estos pacientes, ya que la prevalencia en pacientes VIH es la misma que en la población general (62) (63).

Por tanto la infección por VIH parece ser más un agente modificante en la psoriasis que desencadenante (42). Con la progresión de la inmunodeficiencia, la enfermedad tiende a ser más severa, pero remite en la fase terminal (64).

d. Traumatismos

Los traumatismos pueden producir un empeoramiento de las lesiones de psoriasis o el desencadenamiento de nuevas lesiones, lo que se conoce como fenómeno de Koebner o respuesta isomorfa. Hasta un 50% de los pacientes con psoriasis desarrollan este fenómeno, y es más frecuente en aquellos pacientes que desarrollan la enfermedad en edades precoces y pacientes con mal respuesta a tratamiento (65).



Figura 1.- Fenómeno de Koebner. 1a.- Inicio de la aparición de lesiones de psoriasis después de una laceración.
1b.- Lesiones de psoriasis en pliegues inframamarios desencadenadas por el roce de los aros metálicos del sujetador.

e. Medicamentos

La exposición a drogas no está bien definida como factor de riesgo de inicio de psoriasis. La mayoría de los estudios publicados examinan el impacto de la droga en la exacerbación de la psoriasis y están basados en casos y series de casos. El mecanismo por el cual estos medicamentos exacerban la psoriasis es variable y frecuentemente desconocido.

Diferentes medicamentos se han visto implicados en la psoriasis como los antimaláricos, los betabloqueantes, el litio, los antiinflamatorios no esteroideos, los IECA (inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina), el gemfibrozilo, el interferón, el imiquimod, etc... (42)

f. Estrés

Frecuentemente se han relacionado sucesos estresantes agudos bien con el inicio de la psoriasis o con un nuevo brote (66). Los sucesos estresantes incluyen muerte, accidentes, exámenes y ataques sexuales. El intervalo de tiempo que discurre entre el estrés y el desarrollo de la psoriasis varía entre 2 días y un mes.

g. Comorbilidades asociadas con psoriasis

Cada vez se considera más la psoriasis como una enfermedad sistémica inflamatoria, con manifestaciones sistémicas que comparte con otras enfermedades crónicas como la enfermedad de Crohn y la diabetes mellitus. Las manifestaciones más comunes incluyen el síndrome metabólico, la depresión y el cáncer. En el caso del cáncer, en particular el linfoma o cáncer de piel, no queda claro si la asociación es debida a la enfermedad o al tratamiento de la misma (49, 67).

Cada vez cobra más importancia la relación entre psoriasis y el riesgo de enfermedad cardiovascular, incluyendo la calcificación coronaria (68, 69). Mientras que en los pacientes con psoriasis leve parece no existir un excesivo riesgo, la enfermedad

moderada y severa se asocia con mayor frecuencia de infarto de miocardio y un incremento de la mortalidad, en su mayor parte por sucesos cardiovasculares (70).

Se plantea por tanto la necesidad de llevar a cabo un estrecho control de los factores de riesgo así como aplicar ciertas medidas preventivas en los pacientes psoriásicos.

Un mecanismo de producción potencial podría incluir la presencia de factores proinflamatorios y activación endotelial similares a los encontrados en la artritis reumatoide. De confirmarse, dichos mecanismos tendrían implicaciones para futuras estrategias terapéuticas (49, 67).

1.2. Patogenia

Recientemente se han llevado a cabo numerosos avances tratando de dilucidar los mecanismos moleculares de la psoriasis. Sin embargo, permanecen sin resolverse cuestiones como la naturaleza primaria de la enfermedad como fallo a nivel epitelial o inmunológico, la causa autoinmune del proceso inflamatorio, la relevancia de los factores cutáneos y sistémicos, así como el papel de la genética versus la influencia ambiental en el inicio de esta enfermedad, progresión y respuesta al tratamiento (49).

1.2.1. Psoriasis: el componente epidérmico

En las lesiones psoriásicas, las principales modificaciones en la piel son cambios en la arquitectura así como alteraciones en la diferenciación queratinocítica, lo que la diferencia de otras enfermedades inflamatorias de la piel. Varias líneas de evidencia sugieren que 3 de los 9 loci identificados hoy en la psoriasis pueden jugar un papel en el programa de diferenciación epidérmica (71). Por lo tanto, a parte de la regulación anómala del sistema inmune, componentes intrínsecos epidérmicos juegan probablemente un papel en el desencadenamiento o mantenimiento del proceso de la enfermedad y contribuyen a la cronicidad de la psoriasis y sus brotes frecuentes.

1.2.2.Rasgos inmunopatológicos de la psoriasis

En los años 70 varios estudios mostraron la presencia de células del sistema inmune en pacientes con psoriasis en un número significativo, lo que sugería un papel patogénico (72). Desde entonces se ha acumulado evidencia científica de peso sobre el papel del sistema inmune en la psoriasis. Esta evidencia incluye la presencia de un aumento en el número de células inmunes (73, 74), destacando las células dendríticas y los linfocitos T en las lesiones psoriásicas, la aparición de células clonales T en las lesiones a lo largo del tiempo (75), el papel en modelos humanos de psoriasis de citocinas y células T (76), la actividad terapéutica de fármacos con diana en el sistema inmune (77, 78), y la observación de genes y mRNA relacionados con el sistema inmune. Por lo tanto, probablemente las lesiones psoriásicas se desarrollan como resultado de una interacción entre células y mediadores del sistema inmune, el epitelio cutáneo y el tejido conectivo (49).

1.2.3.El sistema inmune innato y el papel de los queratinocitos

El sistema inmune innato proporciona un mecanismo de respuesta temprana contra un daño al huésped a través del reconocimiento de este daño por efectores no específicos preformados. Existe evidencia de una regulación anómala en la psoriasis del sistema inmune innato (79). Observaciones clínicas apuntan un papel importante de la citosina interferón alfa como inductor de la psoriasis (80).

Las células dendríticas plasmocitoides son las productoras más importantes de interferón alfa, y están aumentadas en número y activadas en las lesiones psoriásicas. Estas células son activadas a través de péptidos antimicrobianos. Los queratinocitos psoriásicos son una fuente rica de péptido antimicrobianos, incluyendo LL-37, beta-defensina y S100A7 (psoriasina). Además de su actividad antimicrobiana, los péptidos antimicrobianos pueden tener una función quimiotáctica y determinar la función celular inmune, incluyendo las células dendríticas y células T (81). Los queratinocitos además tienen un papel accesorio en las respuestas inmunes cutáneas. Son receptoras a citocinas derivadas de las células dendríticas y células T, incluyendo interferones, TNF, interleukina 17 y 20, y sucesivamente producirán citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF-alfa) y quimiocinas (IL-0, CXCL10 y CCL20) (49). Por consiguiente existe un

punto de contacto entre los efectores del sistema inmune innato y adaptativo que moldea el proceso inflamatorio en la psoriasis.

1.2.4.Las células dendríticas

Las células dendríticas son clave en el sistema inmune, uniéndose el espacio existente entre la inmunidad innata y la adaptativa. Estas células están incrementadas en las lesiones psoriásicas e inducen la proliferación de células T así como la producción de citocinas Th1 (82).

También tienen capacidad proinflamatoria, produciendo algunos subgrupos TNF-alfa y óxido nítrico sintetasa inducible (83).

1.2.5.Las células T

Una cuestión clave de interés es la naturaleza autoinmune de la psoriasis y la contribución de las células T en el proceso de la enfermedad. Los datos disponibles hasta el momento no sostienen la hipótesis de que la psoriasis sea una enfermedad autoinmune auténtica (49). Probablemente la psoriasis estaría dentro del espectro de enfermedades con relación autoinmune, caracterizadas por inflamación crónica en ausencia de agentes infecciosos o antígenos conocidos (84).

El transporte de células T de dermis a epidermis constituye un suceso clave en la psoriasis. Está controlado por la interacción de $\alpha 1\beta 1$ integrina en células T con colágeno IV en la membrana basal epidérmica. En modelos clínicamente relevantes se ha observado que bloqueando esta interacción se inhibe el desarrollo de psoriasis (85).

Las células T secretan de forma predominante interferón-gamma (86) e interleucina-17 (87, 88). Un estudio reciente enfoca la investigación sobre células T helper productoras de interleucina-17. Este tipo celular está especializado en la supervivencia inmune del epitelio y además secreta interleucina-22, una citosina clave que conecta los efectores del sistema inmune adaptativo y la regulación anómala epitelial en la psoriasis. La interleucina-22 induce la proliferación de los queratinocitos y la producción de péptidos antimicrobianos así como quimiocinas (89).

Un papel funcional de las células Th17 en la psoriasis se sugiere al observarse una reducción de las mismas cuando tratado el paciente exitosamente con tratamiento anti-TNF (90).

1.2.6.Red de citocinas

La red de citocinas resulta crucial en el control de la proliferación y la diferenciación epidérmicas y la inflamación. La amplia familia de mediadores proteicos extracelulares incluye interleucinas, factor de estimulación de colonias granulocito-macrófago, interferones, factores de necrosis tumoral, quimiocinas y factores de crecimiento. Las dos principales citocinas involucradas en la aparición de la psoriasis son el TNF- α y INF- γ (49). Estudios recientes han puesto de manifiesto la importancia de otras vías de citocinas, sobre todo la vía de la IL-23, derivada de células dendríticas, IL-17 e IL-22, productos de células T-helper (49).

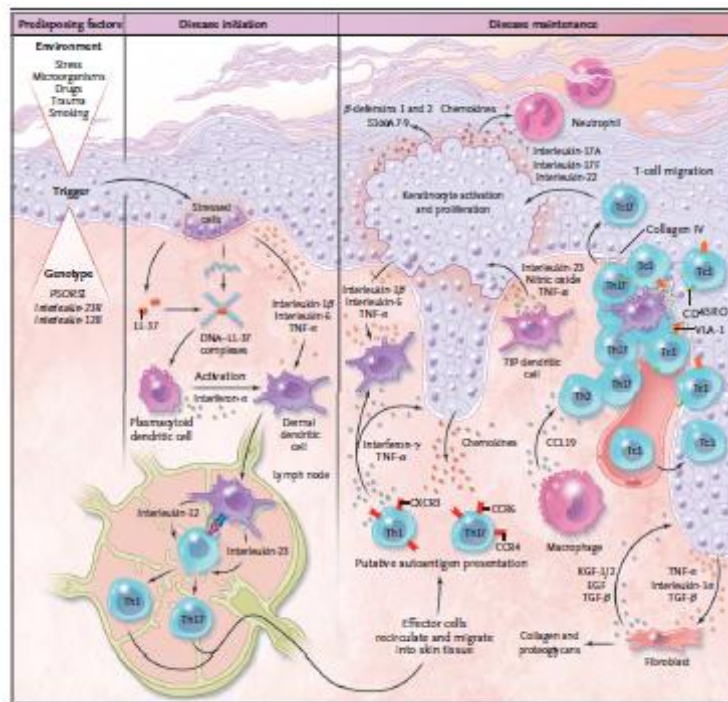


Figura 2.- Esquema resumen de la patogénesis de la psoriasis (49).

1.2.7. Apoptosis y psoriasis

El bloqueo del proceso de apoptosis normal es uno de los factores implicados en la patogénesis de la psoriasis. De forma teórica, el incremento del grosor epidérmico en las placas de psoriasis puede no ser sólo el resultado de un incremento del número de queratinocitos en fase de proliferación sino también, y de forma concomitante una disminución del número de células sorteando el mecanismo de muerte celular. Esta hipótesis es plausible porque en el tratamiento actual muchas de las modalidades efectivas, como el uso de corticoides o ácido retinoico, ejercen su efecto mediante la inducción de la apoptosis (91-93).

Wrone-Smith y cols (94) demostraron la resistencia de los queratinocitos a la apoptosis. Más tarde, Laporte y cols (95) mostraron como mientras la apoptosis estaba reducida en la psoriasis en placas estable, estaba aumentada en aquellas lesiones que respondían al tratamiento. Estas observaciones suscitaron la posibilidad de que la psoriasis no sólo se desarrollara como consecuencia de una proliferación celular excesiva, sino además fuera el resultado de una supervivencia celular aumentada.

1.3. Clínica

Hasta el siglo XIX la psoriasis no se reconoció como una entidad distinta a la lepra. Aunque Robert Willan, 1809, fue el primero en aportar una descripción de la psoriasis, pasaron 30 años más antes de que Ferdinand von Hebra, 1841, separara de manera definitiva las características clínicas de ambas enfermedades.

La psoriasis es una enfermedad papuloescamosa con una morfología, distribución, severidad y curso variables. Las lesiones de psoriasis clásicamente se describen como pápulas y placas bien delimitadas, circulares, eritematosas, con una descamación blanca plateada, bien adherida característica (figura 3). Estas lesiones se distribuyen simétricamente en cuero cabelludo, codos, rodillas y región lumbosacra.



Figura 3.- Placa de psoriasis bien delimitada, eritematosa con descamación blanca plateada característica.

A parte de la descripción clásica anteriormente descrita, la morfología de la psoriasis abarca un amplio espectro, desde pápulas en forma de gotas (psoriasis guttata) a pústulas (psoriasis pustulosa), o un eritema exfoliativo generalizado (psoriasis eritrodérmica). Además, estas formas pueden ser localizadas o generalizadas y discapacitantes. Considerando el curso de la enfermedad, la psoriasis puede presentarse como una enfermedad crónica en placas, o de forma aguda con una progresión rápida a toda la superficie cutánea. La psoriasis puede ser asintomática, u originar prurito y sensación de quemazón.

El tamaño de la lesión puede variar desde una pápula puntiforme hasta 20 cm. Los hallazgos clásicos de eritema, engrosamiento y descamación reflejan capilares alargados y dilatados cerca de la superficie cutánea, acantosis epidérmica e infiltrados celulares, y la queratinización anómala respectivamente.

1.3.1. Psoriasis en placas

La psoriasis en placas es la variante clínica más común. Los pacientes presentan placas perfectamente delimitadas, redondas u ovaladas, localizadas en cuero cabelludo, codos, rodillas y región presacra como sitios de predilección. Las placas pueden persistir estables en las mismas localizaciones durante meses o años. Aunque el curso

de la enfermedad es crónico, se producen periodos de remisión completa. La psoriasis en placas se puede subclasificar en pequeñas y grandes placas. La psoriasis en pequeñas placas es la más frecuente (50%) y aparece en localizaciones típicas: codos, rodillas y cuero cabelludo. En la psoriasis en grandes placas, las lesiones son de más de 3 cm., predominando en codos, región sacra y superficies de extensión de las extremidades (figura 4). Supone el 25% de la psoriasis.

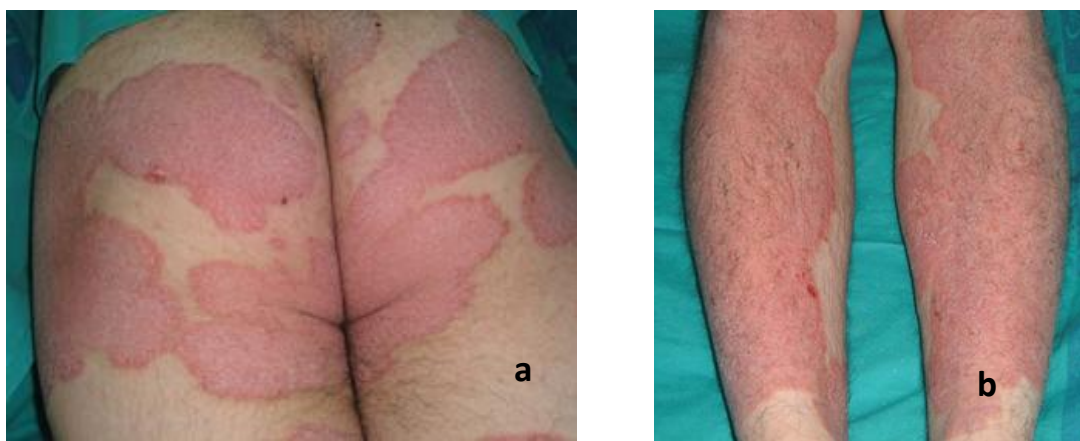


Figura 4.- Grandes placas de psoriasis. 4a.- Afectando región sacra y glúteos. 4b.- Superficie de extensión de extremidades inferiores.

1.3.2. Psoriasis en gotas

La psoriasis en gotas se corresponde con el inicio agudo de pequeñas lesiones de psoriasis entre 2-10 mm de diámetro. Se distribuyen de forma centrípeta, y la cabeza y las extremidades inferiores pueden verse afectadas (Fig. 5). Clásicamente, y como se ha comentado previamente, la psoriasis guttata aparece poco después de una infección faríngea o amigdalar por estreptococo beta hemolítico en niños o adolescentes, y de forma menos frecuente en adultos. El número de lesiones puede ir de 10 a 100. Supone el 2% de los casos de psoriasis. Mientras que en niños un episodio de psoriasis guttata suele estar autodelimitado, en adultos puede progresar a psoriasis en placas. Existen pocos estudios que valoren el pronóstico a largo plazo de la psoriasis en gotas en niños, uno de ellos muestra que un 33% de los pacientes desarrollan psoriasis en placas (96).



Figura 5.- Psoriasis en gotas. Erupción de múltiples lesiones salpicadas por todo el cuerpo, de 2 mm-1 cm de diámetro, precedida de un cuadro de amigdalitis estreptocócica.

1.3.3. Eritrodermia psoriásica

La afectación total o subtotal de la piel corporal por psoriasis se conoce como eritrodermia. Pueden existir dos formas. La primera, una psoriasis crónica en placas que gradualmente progresa volviéndose confluyente y extensora. Y la segunda, como manifestación de una psoriasis inestable, desencadenada por una infección, drogas, o la retirada de corticoides sistémicos. También puede debutar de novo. La eritrodermia puede perjudicar la termorregulación, conduciendo a una hipotermia, fallo cardíaco por alto gasto, y cambios metabólicos incluyendo hipoalbuminemia y anemia debida a pérdida de hierro, vitamina B12 y folato (67).

Las claves del diagnóstico de la psoriasis eritrodérmica consisten en placas previas en localizaciones clásicas, cambios característicos en las uñas y ausencia de afectación facial.

1.3.4. Psoriasis pustulosa

a. Psoriasis pustulosa generalizada

Se trata de una variante rara y grave que representa una forma activa e inestable de la enfermedad, aunque puede representar también el debut de una psoriasis. El paciente suele estar pirético, con la piel eritematosa, dolorosa, inflamada y cubierta de pústulas estériles. Normalmente, estos pacientes, requieren ingreso hospitalario.

b. Pustulosis palmoplantar

La pustulosis palmoplantar se presenta como pústulas estériles amarillentas sobre un fondo eritematoso y descamativo, afectando palmas y plantas. Las pústulas amarillas se rompen con facilidad y forman lesiones marrones con costra/descamación en superficie. La minoría de los pacientes tienen psoriasis crónica en placas en algún otro lugar (2-19% en función de las series) (97).

Actualmente se piensa que la pustulosis palmoplantar puede no ser una forma de psoriasis. Esta conclusión deriva de estudios genéticos que muestran la ausencia de asociación con HLA-Cw6 u otros marcadores del 6p, que sin embargo sí están ligados a psoriasis crónica en placas y psoriasis guttata (67, 97). La epidemiología de la pustulosis palmoplantar difiere de la de psoriasis en placas, ya que afecta más frecuentemente a mujeres (9:1), suele iniciarse en la cuarta y la sexta década de la vida y tiene una relación estrecha con ser fumador o haberlo sido (98).

1.3.5. Otras formas clínicas de psoriasis

a. Psoriasis invertido

Esta variante clínica de psoriasis afecta a los pliegues, con más frecuencia el submamario, perineal, interglúteo y axilar. Además las lesiones son muy diferentes a los otros tipos de psoriasis, se caracterizan por ser placas delgadas, bien delimitadas,

brillantes, color rojo o rosa. La sobreinfección por *Candida* es frecuente y a menudo dificulta el diagnóstico.

b. Psoriasis ungueal

La afectación de la uña se ha notificado en el 10-78 % de los pacientes con psoriasis. Las uñas de las manos se afectan más a menudo que las de los pies. La psoriasis afecta a la matriz y al lecho ungueal. Como resultado de la formación defectuosa en la porción proximal de la matriz ungueal aparece el piqueteado o “pit” ungueal (Fig.6a), el signo clínico más común (21). Otros signos incluyen onicolisis distal, mancha de aceite (Fig.6a), hiperqueratosis subungueal (Fig.6b), hemorragias estriadas y leuconiquia.



Figura 6.- Psoriasis ungueal. 6a.- Piqueteado o pit ungueal y mancha de aceite. 6b.- Paciente con marcada hiperqueratosis ungueal.

c. Psoriasis palmoplantar hiperqueratosis

La psoriasis afecta hasta en el 12% las palmas y las plantas. En esta localización, las lesiones se caracterizan por adoptar la forma de placas descamativas, hiperqueratósicas y fisuradas de bordes bien definidos. Es característica la afectación de las zonas con mayor fricción o rozamiento, que actúa como factor desencadenante en relación con el fenómeno isomorfo típico de esta enfermedad (figura 7). El diagnóstico diferencial de esta forma clínica debe incluir la dermatitis de contacto, sobre todo en las formas de eccemas hiperqueratósicos.



Figura 7.- Psoriasis palmoplantar hiperqueratósico. 7a.- Placas descamativas y fisuras de bordes bien definidos. 7b.- Afectación en este caso de zonas de mayor fricción en dorso de mano.

d. Psoriasis del cuero cabelludo

La afectación del cuero cabelludo es muy frecuente en todos los tipos de psoriasis (figura 8) y en ocasiones es un hallazgo aislado.

A diferencia de otras entidades, la psoriasis no provoca alopecia. Las lesiones suelen rebasar el borde de implantación del pelo, más frecuentemente en la región retroauricular, pudiendo afectarse el conducto auditivo externo.



Figura 8.- Psoriasis de cuero cabelludo. Placas bien delimitadas con importante componente hiperqueratósico sobre base eritematosa.

e. Psoriasis de mucosas

Aunque poco frecuente se han descrito lesiones en lengua superponibles a la lengua geográfica (glositis migratoria benigna) en pacientes con psoriasis pustulosa generalizada. En glande, la balanitis psoriásica aparece como placas eritematosas ligeramente sobreelevadas y sin descamación.

1.4. Diagnóstico

El diagnóstico de la psoriasis es clínico en la mayoría de las ocasiones. A continuación se describe una técnica clásica de diagnóstico como es el raspado metódico de Brocq, y la histopatología, técnica a la que se recurre en casos que plantean dudas diagnósticas.

1.4.1. Raspado metódico de Brocq

Constituye un método diagnóstico clínico de la psoriasis y consiste en el raspado mediante una cucharilla de una placa de psoriasis con lo que se obtiene inicialmente la formación de pequeñas escamas blanquecinas en forma de virutas (signo de la bujía o de la mancha de cera, por su similitud al material obtenido al raspar una vela de cera), tras lo cual se observa la presencia de una fina membrana epidérmica que se desprende en bloque (membrana de Duncan Buckley) y que deja una superficie eritematosa exudativa en la que aparecen unos pequeños puntos hemorrágicos (signo del rocío hemorrágico de Auspitz), que reflejan la presencia de capilares dilatados ocupando las papilas dérmicas.

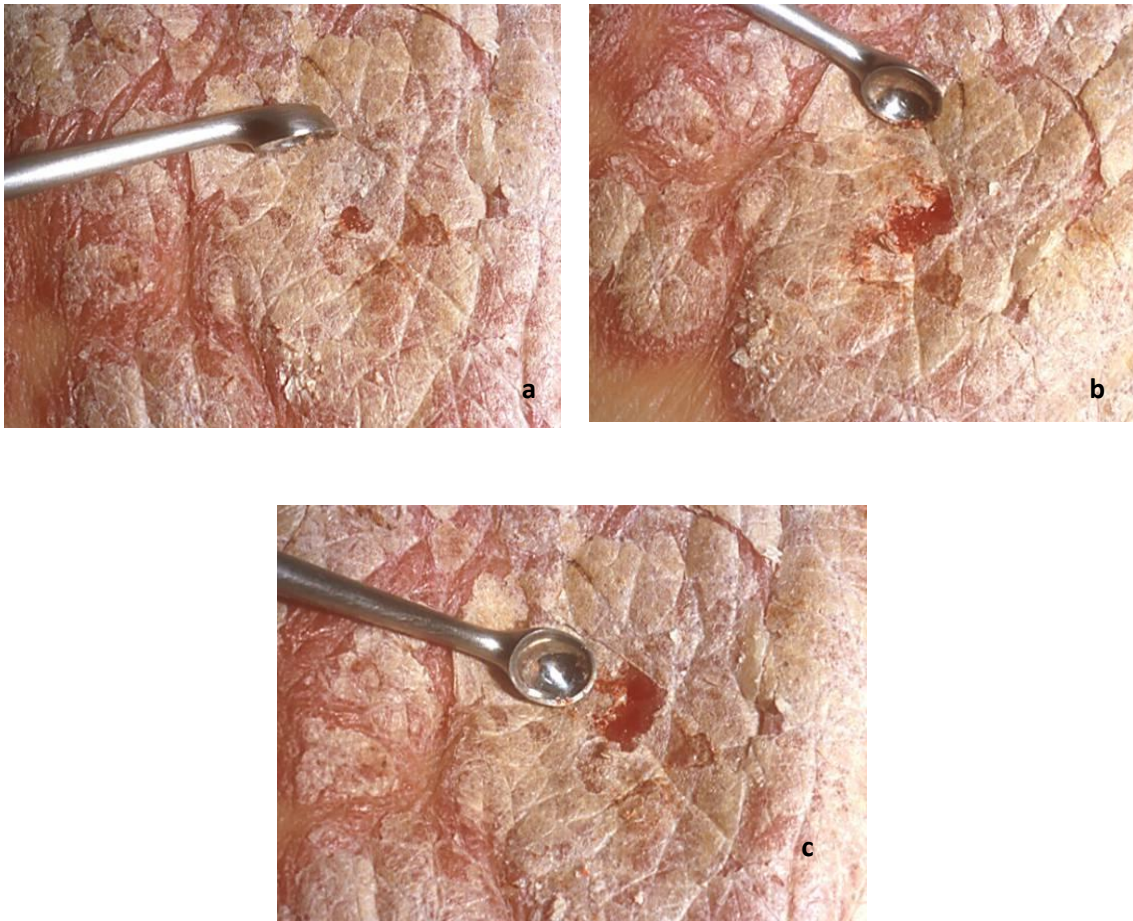


Figura 9.- Raspado metódico de Brocq. 9a.- Signo de La bujía o de la mancha de cera. 9b.- Membrana de Duncan Buckley. 9c.- Signo del Rocío hemorrágico de Auspitz.

1.4.2.Histopatología

En la práctica clínica diaria las lesiones cutáneas de psoriasis no se suelen biopsiar, porque habitualmente los hallazgos clínicos son suficientemente característicos y permiten realizar el diagnóstico. Cuando se lleva a cabo una biopsia de este tipo de lesiones es porque el diagnóstico clínico no es seguro o porque se quiere descartar otro proceso con lesiones clínicas similares. En este último caso, la correlación clínicopatológica es fundamental, ya que en algunas ocasiones los hallazgos histopatológicos observados en otras enfermedades cutáneas son similares a los de la auténtica psoriasis.

Otro problema que plantea la histopatología de la psoriasis es que debido al curso de la enfermedad con remisiones y exacerbaciones, los hallazgos histopatológicos varían según el tiempo de evolución de la lesión (99).

La psoriasis, como el resto de las enfermedades inflamatorias cutáneas, es un proceso dinámico, y los hallazgos histopatológicos varían según el estadio evolutivo de la lesión biopsiada. Los cambios histopatológicos más tempranos pueden no ser específicos, predominando los hallazgos en dermis que incluyen un infiltrado inflamatorio linfocítico perivascular escaso. Esto va seguido del desarrollo de capilares dilatados y tortuosos en las papilas dérmicas, ligero edema en dermis y mínima espongirosis con escasa exocitosis de linfocitos T/neutrófilos. Predominan los linfocitos T CD4 en dermis, mientras que en la epidermis predominan los linfocitos T CD8.

La pápula o placa temprana posterior muestra ligera hiperplasia psoriasiforme epidérmica, con mayor exocitosis de neutrófilos y pequeñas pilas de paraqueratosis con neutrófilos. El infiltrado inflamatorio que acompaña este estadio se compone de linfocitos, histiocitos y neutrófilos, además de eritrocitos extravasados.

Los hallazgos histopatológicos de una placa de psoriasis completamente desarrollada corresponden con la histopatología clásica de la psoriasis: hiperplasia epidérmica con crestas epidérmicas elongadas uniformemente hasta el mismo nivel de profundidad de la dermis, hipogranulosis, paraqueratosis en pequeños grupos de corneocitos, exocitosis de neutrófilos con formación pústula espongiforme de Kogoj y pequeños grupos de neutrófilos en la capa córnea (microabcesos de Munro), frecuentes

figuras de mitosis suprabasales y edema en la dermis papilar y capilares dilatados y congestivos en las papilas dérmicas (figura 10).

Las placas de psoriasis tratadas o en resolución presentan una reducción progresiva de la paraqueratosis así como de la exocitosis de neutrófilos en el estrato córneo. Los cambios hiperplásicos epidérmicos se resuelven posteriormente. Como única clave histopatológica de la psoriasis puede existir una leve fibrosis dérmica superficial con persistencia de capilares dilatados y tortuosos (100).

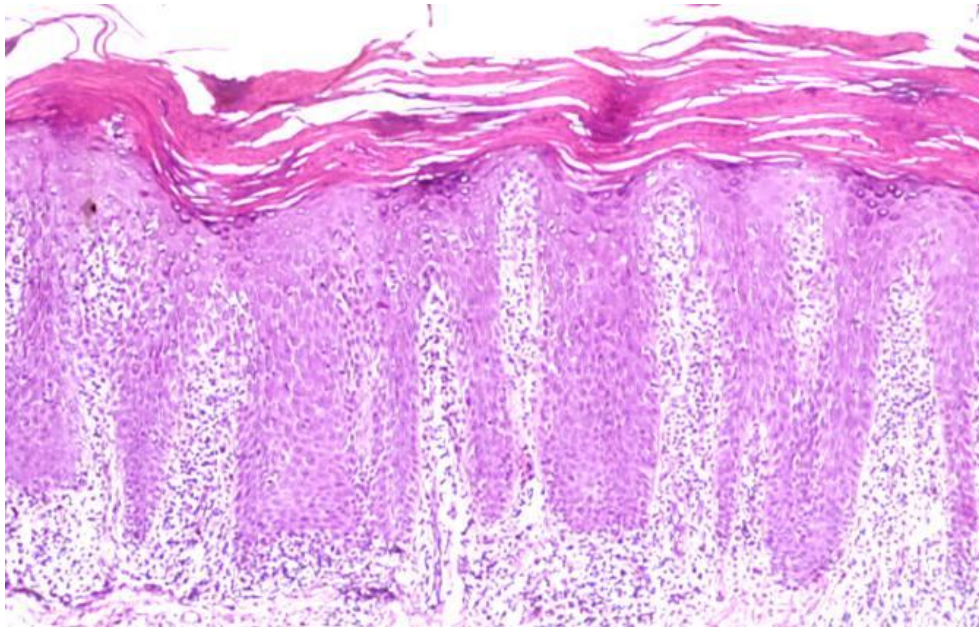


Figura 10.- Histopatología de una placa de psoriasis desarrollada completamente.

Existen variantes clínicas de psoriasis con variación también en los hallazgos histopatológicos. Estos casos más atípicos son más frecuentemente biopsiados en busca de un diagnóstico histopatológico definitivo o para excluir clínicas similares a la psoriasis.

a. Histopatología de la psoriasis en gotas

En el caso de la psoriasis en gotas, las lesiones se desarrollan de manera aguda o eruptiva, por lo tanto los hallazgos histopatológicos no son tan llamativos como en la psoriasis crónica en placas, ya que no ha dado tiempo a que se desarrolle la hiperplasia epidérmica y la exocitosis de neutrófilos no es tan marcada. Los hallazgos comunes son la presencia de capilares congestivos y dilatados en las papilas dérmicas, con un discreto infiltrado linfocitario perivascular superficial, con escasa exocitosis, discreta espongirosis y áreas salpicadas de paraqueratosis.

b. Histopatología de la psoriasis invertida

Debido a la maceración por el roce que se produce en los pliegues, estas lesiones tienen menor hiperqueratosis y presentan palidez en los queratinocitos de las capas altas de la epidermis, que muestra una apariencia histopatológica similar a la epidermis en trastornos carenciales tipo pelagra, acrodermatitis enteropática, etc.

c. Histopatología de psoriasis pustulosa

La característica histopatológica diagnóstica de este subtipo de psoriasis es la presencia de pústulas intraepidérmicas (pústula espongiforme de Kogoj) en sus diferentes estadios evolutivos. Estas pústulas son de mayor tamaño que las observadas en otros tipos de psoriasis y por lo tanto visibles clínicamente. Como en otras variantes, los neutrófilos de la pústula espongiforme migran en ocasiones al estrato córneo, con apariencia similar a microabscesos de Munro. Los otros rasgos histopatológicos típicos de psoriasis serán más o menos evidentes dependiendo de si se trata de pústulas sobre placa típica previa o si el proceso es de instauración aguda.

d. Histopatología de la eritrodermia psoriásica

Como ocurre en la psoriasis en gotas, la eritrodermia psoriásica se desarrolla habitualmente de forma aguda y por ello la epidermis no ha tenido tiempo de desarrollar la hiperplasia. Además estas lesiones presentan ausencia de estrato córneo como resultado de una descamación menor y más fina en estas lesiones que se pierde al biopsiar. La eritrodermia psoriásica presenta hiperqueratosis escasa o ausente, focos de paraqueratosis escasos, hiperplasia epidérmica poco marcada, infiltrado superficial perivascular linfocitario y capilares congestivos y dilatados en papilas dérmicas.

e. Localizaciones especiales

- **Palmoplantar**

Las lesiones crónicas de psoriasis afectando palmas y plantas pueden ser muy difíciles de distinguir histopatológicamente de las de un eccema crónico palmoplantar. A veces estas lesiones muestran una histopatología típica de psoriasis en placas pero en ocasiones las lesiones son muy espongíóticas simulando un eccema. Es recomendable no biopsiar palmas o plantas si existen lesiones en otras localizaciones para lograr un mayor rendimiento diagnóstico.

- **Mucosas**

En las mucosas puede existir más componente espongiforme y en menor grado hiperplasia epidérmica.

- Cuero cabelludo

Hallazgos histopatológicos típicos del cuero cabelludo son la atrofia de glándulas sebáceas, la disminución del tamaño de los folículos pilosos y la presencia de tallos pilosos más delgados.

1.5. Diagnóstico diferencial clínico

En el caso de la psoriasis vulgar, el diagnóstico diferencial debe establecerse con el eccema numular, tiña corporis y micosis fungoide (linfoma cutáneo de células T) como entidades más probables. En lesiones únicas resistentes a tratamiento siempre hay que descartar carcinoma espinocelular in situ (enfermedad de Bowen, eritroplasia de Queyrat y enfermedad de Paget extramamario).

La psoriasis en gotas puede confundirse entre otras entidades con la pitiriasis rosada, la pitiriasis liquenoide crónica o erupción por fármacos. Por su importancia clínica se debe descartar siempre una sífilis secundaria.

La eritrodermia psoriásica plantea un diagnóstico diferencial con otras causas de eritrodérmica como la producida por fármacos, un eccema generalizado, síndrome de Sézary y la pitiriasis rubra pilaris.

Cuando aparecen pústulas sobre fondo eritematoso se deben considerar diagnósticos como impétigo, candidiasis, síndrome de la artritis reactiva (enfermedad de Reiter), foliculitis reactiva, pustulosis exantémica generalizada aguda, enfermedad de Sneddon-Wilkinson, melanosis pustulosa neonatal, acropustulosis de la infancia, pénfigo foliáceo y pénfigo IgA.

Aunque la dermatitis seborreica y el liquen simple crónico se incluyen dentro del diagnóstico diferencial de la psoriasis, es fundamental recordar que ambos pueden coexistir con la psoriasis.

La psoriasis palmoplantar hiperqueratósica y el eccema queratósico de las palmas y plantas pueden tener una apariencia similar con descamación y grietas. El examen del resto de la superficie cutánea puede proporcionar claves para el diagnóstico.

El intertrigo candidiásico es uno de los diagnósticos diferenciales de la psoriasis invertida, teniendo siempre en cuenta que pueden coexistir. La afectación de pliegues puede deberse a una dermatitis seborreica, tiña incógnita, una dermatitis de contacto y una dermatitis atópica.

1.6. Psoriasis y calidad de vida

Aunque la psoriasis generalmente no afecta la supervivencia, tiene efectos negativos importantes en sus afectados, lo que se demuestra por un detrimento significativo en su calidad de vida (101).

El empeoramiento en la calidad de vida de los pacientes psoriásicos se vio remarcado principalmente por el trabajo de Finlay (102, 103). Los enfermos con psoriasis tienen una disminución en la calidad de vida similar o peor que pacientes con enfermedades crónicas como cardiopatía isquémica, diabetes, cáncer o enfermedades pulmonares crónicas (102, 104). Está bien establecido que los pacientes con psoriasis están estigmatizados (105). Esta estigmatización contribuye a una discapacidad diaria que conlleva depresión e ideas de suicidio en más del 5% de los enfermos (106).

Varios factores parecen contribuir a una menor calidad de vida en los pacientes con psoriasis. La naturaleza crónica y recurrente de esta enfermedad crea un sentimiento de desesperanza en términos de curación (107). Los pacientes además están constantemente preocupados sobre planes futuros y la posibilidad de un nuevo brote. Esta falta de control sobre la enfermedad es uno de los aspectos más agobiantes de la psoriasis. Muchos pacientes psoriásicos experimentan dificultades sociales y psicológicas en su entorno. Pueden sentirse humillados cuando exhiben su cuerpo al nadar, mantener relaciones íntimas, o condiciones donde no tengan una privacidad apropiada (108). Muchos enfermos optan por esconderse, lo que afecta de forma severa su autoconfianza.

En la práctica clínica diaria, se usan como medidas de la severidad del proceso el área de superficie corporal afectada (BSA: body surface area) y el índice de severidad y área psoriásica (PASI: psoriasis area and severity index), pero hay autores que consideran la calidad de vida como el mejor método determinante en cuanto a la severidad y apoya el uso del índice de calidad de vida en dermatología (DLQI: dermatology life quality index).

El estrés entendido como preocupación patológica tiene un efecto negativo en la respuesta al tratamiento (108). Por lo tanto, la intervención psicológica en los pacientes psoriásicos juega un papel fundamental en el manejo de estos enfermos.

1.7. Tratamiento

Para el tratamiento de la psoriasis existe una gama amplia de terapias tópicas y sistémicas. Como en el caso de cualquier enfermedad crónica, el tratamiento a largo plazo requiere una individualización del mismo, intentando valorar la extensión de la enfermedad, la percepción de la misma por el paciente así como los efectos secundarios potenciales de los tratamientos específicos. En este contexto un estudio encontró que el 40% de los pacientes se sintieron frustrados por la ineffectividad de sus actuales tratamientos y un 33% revelaron que su tratamiento no era suficientemente agresivo (109).

La mayoría de los casos de psoriasis se tratan de forma tópica. Como los tratamientos tópicos son muchas veces estéticamente inaceptables y conlleva mucho tiempo su cumplimiento, la falta de adherencia está en el orden del 40% (109). Entre los agentes de uso tópico se encuentran los corticoides, la vitamina D y análogos, la antralina, el alquitrán de hulla, retinoides tópicos con el tazaroteno, inhibidores tópicos de la calcineurina y los emolientes.

Otra modalidad de tratamiento en la psoriasis es la fototerapia. La fototerapia parece involucrar la depleción selectiva de las células T, especialmente las que residen en la epidermis (110, 111). El mecanismo de depleción parece actuar a través de apoptosis (112) y se acompaña por un desplazamiento de una respuesta inmunitaria Th1

a una respuesta Th2 en la piel lesionada (113). La fototerapia con ultravioleta B (UVB) y la fotoquimioterapia con ultravioleta A (UVA) tras la ingestión o el tratamiento tópico con psoraleno son dos tratamientos clásicos para pacientes con psoriasis moderada a grave. Más tarde se desarrolló el tratamiento con UVB de banda estrecha (311-313 nm.) que parece ser la irradiación óptima disponible hoy en día.

Dentro de los tratamientos sistémicos clásicos, el metotrexate, la ciclosporina y el acitretino son los fármacos usados con más frecuencia. Otros fármacos usados en la psoriasis son: los fumaratos, el micofenolato de mofetilo, la hidroxiurea, la 6-tioguanina, etc... El tratamiento combinado puede aumentar la eficacia y reducir los efectos colaterales al permitir que dosis menores alcancen el mismo nivel de mejoría que la obtenida con monoterapia (114).

En la última década y a la luz de los nuevos conocimientos sobre la patogenia de la psoriasis se han desarrollado nuevos fármacos que se centran en el mecanismo causante de la enfermedad. Son las denominadas terapias biológicas. Estas terapias ofrecen una alta eficacia en el manejo de la enfermedad moderada a severa, con menos toxicidad que la observada de forma habitual con los tratamientos sistémicos clásicos. Actualmente hay tres tipos de agentes biológicos aprobados o en desarrollo para la psoriasis: citocinas humanas recombinantes, proteínas de fusión (etanercept) y anticuerpos monoclonales quiméricos (infliximab) o humanizados (adalimumab, ustekinumab).

2. CICLO CELULAR

2.1. Ciclo celular y psoriasis

La epidermis es un epitelio escamoso estratificado, que se encuentra en estado constante de proliferación, diferenciación terminal, y eliminación. De esta forma, la integridad funcional del tejido se mantiene. La epidermis intacta posee la capacidad de responder a diversidad de estímulos ambientales, y a través de su reemplazo continuo puede mantener su estado normal de homeostasis. En epidermis normal, la mayoría de las células basales germinativas están en estado quiescente y sólo una pequeña fracción está proliferando. En la psoriasis, que se caracteriza por hiperproliferación y maduración regenerativa, la mayoría de las células germinativas están proliferando. Los mecanismos que conducen en la psoriasis a la hiperproliferación de los queratinocitos son desconocidos. En epidermis psoriásica, un gran número de células están en proceso activo del ciclo celular, no sólo en la capa basal sino también en estratos suprabasales. Muchas terapias antipsoriásicas van dirigidas a suprimir el crecimiento queratinocítico, aunque es desconocido cómo consiguen sus efectos antiproliferativos. Podrían existir varias posibilidades: los agentes antipsoriásicos podrían conducir a las células a la fase G0 del ciclo celular o promover la diferenciación normal a nivel de las células basales (115).

En el cáncer, el descubrimiento de la relación entre distintos procesos neoplásicos y las alteraciones en algunos genes, especialmente aquellos con un papel clave en el control del ciclo celular ha permitido comprender la trascendencia y los mecanismos de funcionamiento de este control. Distintas alteraciones de las proteínas que regulan el ciclo de división celular pueden tener como consecuencia la división celular excesiva o incontrolada, dando lugar a una proliferación celular desmedida con acumulación de anomalías genéticas y fisiológicas en las células, que pasan a constituir el tumor (116) o estados hiperproliferativos, como es el caso de la psoriasis.

2.2. Regulación del ciclo celular

La función básica del ciclo celular es la de duplicar en forma exacta la gran cantidad de DNA cromosómico y luego distribuir las copias en células hijas genéticamente iguales. La duración del ciclo celular varía de manera significativa en los distintos tipos celulares.

El ciclo celular de las células eucariotas se divide tradicionalmente en cuatro fases. Los dos acontecimientos más notables del ciclo celular consisten en la división del núcleo, proceso denominado mitosis, y la división de la célula en dos partes, proceso denominado citocinesis. Ambos procesos constituyen la fase M del ciclo celular. El periodo entre una fase M y la siguiente se denomina interfase. La interfase comprende las tres fases restantes del ciclo celular. Durante la fase S (S de síntesis) ocurre la replicación del DNA nuclear, requisito para la división celular. La fase S es precedida y seguida, respectivamente por dos fases en las que la célula continúa su crecimiento. La fase G1 (G del inglés gap, intervalo) es el tiempo entre el final de la fase M y el comienzo de la S. La fase G2 es el tiempo entre el final de la fase S y el comienzo de la M. En puntos determinados de G1 y G2 la célula debe decidir si pasa a la fase siguiente o efectúa una pausa que permita completar la preparación.

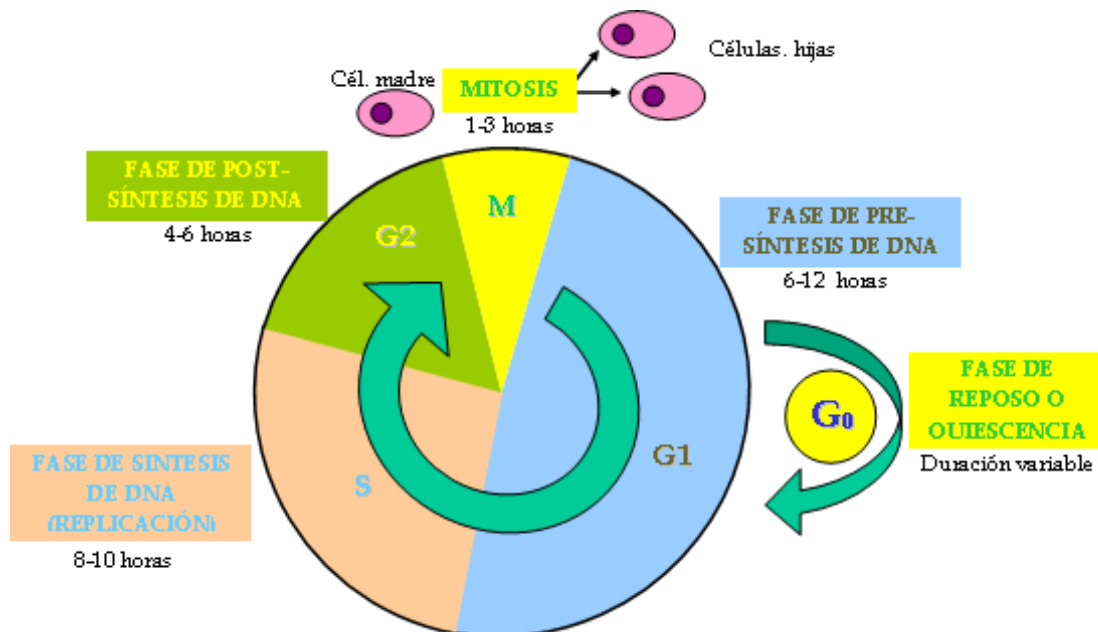


Figura 11.- Ciclo celular

La repetición ordenada y controlada del ciclo celular determina el grado de proliferación normal de las células en cada tejido. Cuando la proliferación celular es continua, excesiva y descontrolada se origina el cáncer o enfermedades con carácter inflamatorio proliferativo como la psoriasis. Esto puede ser consecuencia de un acúmulo sucesivo (a veces durante años) de alteraciones o mutaciones genéticas (117).

2.2.1. Puntos de control en el ciclo de división celular

La regulación del ciclo se ejerce en tres puntos bien definidos, que dependen en su conjunto de las condiciones ambientales más favorables (nutrientes, temperatura, sales) y la presencia de factores de crecimiento celular necesarios. Los dos puntos de control principales se sitúan en la interfase, concretamente en las transiciones de G1 a S y de G2 a M (118). El punto de control G1 permite que la célula se asegure de que el medio para su proliferación y que el DNA se encuentre intacto antes de pasar a la fase S. La proliferación celular depende de nutrientes y de moléculas de señalización específicas del medio extracelular; si las condiciones extracelulares son desfavorables, las células pueden retardar el progreso a través de G1 e incluso pueden ingresar en un estadio de reposo llamado G0. Se piensa que algunas células como las nerviosas y las células musculares esqueléticas, permanecen en G0 durante toda la vida del organismo. El punto de control G2 garantiza que las células no ingresen en la fase de mitosis hasta que no se haya reparado el DNA y se complete su replicación.

El tercer punto de control se localiza en plena mitosis. Gracias a este triple control, las células sólo inician una nueva fase de división cuando se han cumplido las condiciones necesarias en cada punto y se ha finalizado la fase anterior. Cada punto de control actúa a modo de freno de la etapa previa. Cualquier circunstancia anormal en uno de ellos hace cesar la división y la consiguiente proliferación celular. Estos puntos actúan en respuesta a determinadas señales celulares, tales como hipoxia, citokinas, contacto célula-célula o daño celular (119).

a. Punto de control en G1/S

Ocurre cerca del final de G1, antes de entrar en fase S, y una vez superado se dispara la replicación del DNA. Este punto se llama inicio en levaduras de gemación y punto R o de restricción en mamíferos, dónde es el control principal del ciclo. Al ser la fase G1 la más prolongada del ciclo (6-12 h), es en ella dónde más intervienen las condiciones extracelulares, el único punto donde el ciclo responde a señales externas y progresa sin dependencia de estímulos mitóticos. G1/S es un punto de control de especial importancia, ya que gracias a él la célula puede parar el ciclo antes de gastar energía en duplicar su DNA. De igual manera, la célula puede reparar un posible error en el DNA antes de replicarlo (120). El paso por este punto lo regulan fundamentalmente las proteínas intracelulares llamadas ciclinas de G1 (121, 122).

b. Punto de control en G2/M

Ocurre al final de G2, antes del inicio de la mitosis M. Si la célula no supera este punto, permanece con ese complemento doble de dotación cromosómica. Su regulación anómala puede ser importante en la transformación neoplásica. El paso por este punto lo regulan las proteínas intracelulares llamadas ciclinas de G2 o mitóticas.

c. Punto M

Se ejerce durante la mitosis, entre la metafase (cromosomas condensados dispuestos en el plano ecuatorial de la célula) y la anafase (separación de las cromátidas hermanas unidas al huso mitótico hacia cada polo celular). Asegura que la célula no se divida si hay errores en la formación del huso acromático o en la alineación de los cromosomas en la placa ecuatorial. Es el punto de control cuyo mecanismo es menos conocido, pero posiblemente también depende de las ciclinas mitóticas (121).

2.2.2. Proteínas que controlan el ciclo celular

El sistema de control del ciclo celular se lleva a cabo mediante la activación y la inactivación cíclica de proteínas y complejos proteicos que inician o regulan la replicación del DNA, la mitosis y la citocinesis. En los puntos de control G1/M y G2/S intervienen dos tipos característicos de proteínas, las ciclinas y las proteínas quinasas, que se asocian formando complejos Cdk-ciclina para controlar la actividad del ciclo celular.

a. Ciclinas

El nombre de este grupo de proteínas se debe a que su concentración en la célula fluctúa de acuerdo con la etapa del ciclo celular, de modo que están presentes en una etapa concreta y desaparecen durante el resto del ciclo. Existen numerosas ciclinas; las principales en humanos son las ciclinas A, B, D y E. Algunas de ellas están relacionadas entre sí; por ejemplo, las ciclinas B1 y B2 o las D1, D2, D3 y D4. La función exacta de otras ciclinas (C, F, G, H e I) se conoce peor; la ciclina F parece estar implicada en el control de la transición entre las fases S y G2 (120-122).

Las alteraciones cíclicas de las concentraciones de ciclinas contribuyen a la formación y la activación cíclicas de los complejos ciclina-CDK; a su vez, la activación de estos complejos desencadena diversos procesos del ciclo celular, como el ingreso en la fase S o en la M.

- **Ciclinas de la fase G1 o ciclinas de inicio**

Son aquellas que intervienen regulando el punto de control G1/S. En humanos pertenecen a este grupo las ciclinas del tipo D (D1, D2, D3, D4) y la ciclina E. Ambas se sintetizan durante la fase G1 (por ejemplo, al entrar la célula en el ciclo desde G0) y su concentración celular se regula por la transcripción. Debido a su rápida degradación,

tienen una vida media corta (unos 25 minutos para las D) (Fig. 12). El balance entre síntesis y degradación hace que aparezcan en la fase final de G1 y desaparezcan durante la fase S o al acabar ésta (123, 124).



Figura 12.- Las ciclinas son proteínas cuya presencia en la célula sufre variaciones acordes con la etapa del ciclo, debido a su síntesis y degradación en distintas fases del mismo.

- Ciclinas mitóticas o de la fase G2

Este grupo, formado por las ciclinas A, B1 y B2, regula el punto de control G2/M. En este caso se sintetizan durante las fases previas a la mitosis (S o G2) y se degradan rápida y específicamente durante la mitosis. La ciclina B, que sólo participa en la mitosis, se considera la ciclina por antonomasia, pues es la homóloga en mamíferos de la primera ciclina descubierta al comenzar el estudio del control del ciclo celular en los oocitos de la rana *Xenopus Laevis*, la que forma parte del factor promotor de la maduración o de la fase M (MFP en inglés) (116).

b. Proteínas quinasas dependientes de ciclinas (CdK)

Las proteinquinasas que constituyen la parte principal del sistema de control del ciclo celular se encuentran presentes durante todo el ciclo celular en las células en proliferación. Sin embargo, estas proteínas sólo son activadas en momentos

determinados del ciclo y luego pasan con rapidez al estado de desactivación. La activación y desactivación de esas quinasas en los momentos apropiados dependen en parte de un segundo grupo de componentes proteicos del sistema de control, las ciclinas, que no ejercen actividad enzimática por si mismas, pero deben unirse a las quinasas para que éstas adquieran actividad enzimática. Por esta razón, estas quinasas se conocen con el nombre de proteínquinasas dependiendo de ciclinas, o Cdk. De acuerdo con ello, se considera que en el complejo activo (Cdk-ciclina) la Cdk es la subunidad catalítica y la ciclina la subunidad reguladora (125, 126).

Constituyen una familia de proteínas con una gran homología de secuencia (superior al 50%), que fosforilan residuos serina y treonina de proteínas sustrato específicas (127, 128). Se trata, por tanto, de serina-treonina quinasas. Sin embargo, sólo pueden ejercer esta actividad enzimática cuando están asociadas con una ciclina, por ello se las llama quinasas dependientes de las ciclinas, CdK o CDK (de cyclin-dependent-kinases). Una vez fosforiladas por las CdK, las proteínas sustrato pueden perder los grupos fosfato por acción de fosfoproteína fosfatasas igualmente específicas. Esta reversibilidad de la fosforilación es crucial para el control del ciclo celular.

A diferencia de las ciclinas, la concentración de las CdK no varía de forma importante durante el ciclo celular, aunque puede estar regulada por ciertas señales estimuladoras o inhibitoras del crecimiento. Esto es, las quinasas dependientes de las ciclinas están presentes en cantidad similar a lo largo de todo el ciclo, pero sólo son activas cuando están unidas a ciclinas (figura 13).

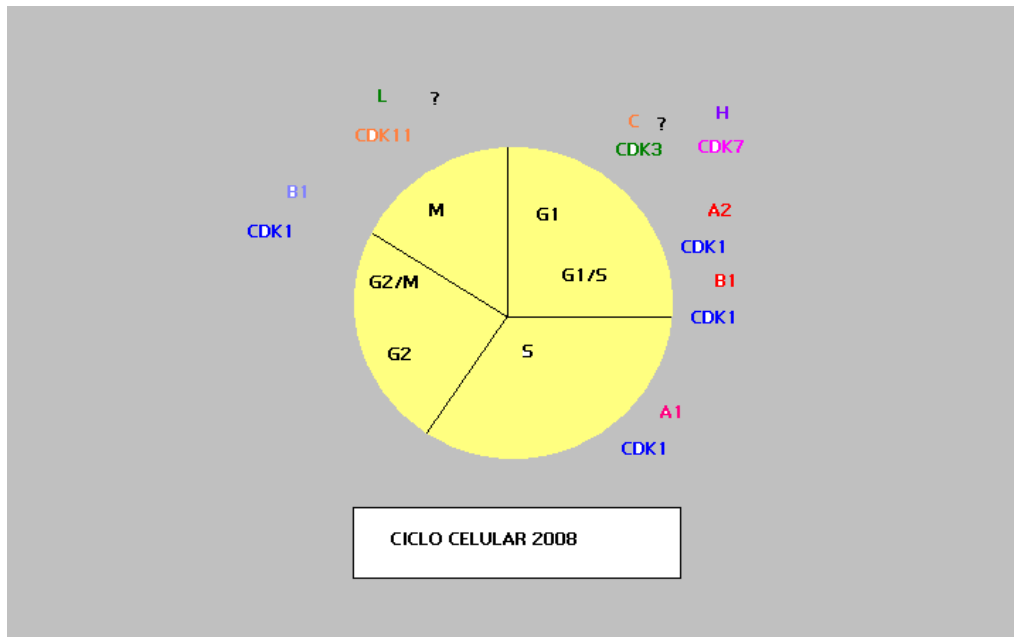


Figura 13.- Esquema de las distintas ciclinas y quinasas dependientes de las ciclinas. Se muestran las parejas que se asocian y los puntos de control del ciclo en los que actúan (127).

En algunos organismos (levaduras por ejemplo), existe una sola CdK, que actúa tanto en el punto de control G1/S como en el G2/M (uniéndose a distintas ciclinas), mientras que en otros (mamíferos) esas funciones se distribuyen entre varias CdK. En humanos se han encontrado al menos 8 miembros de esa familia, denominados CdK1 a CdK8, cada uno de los cuales forma complejos quinasa activos con distintas ciclinas (121).

c. Actividad de los complejos CDK-ciclina

La activación de las CdK como proteínas quinasas, no consiste simplemente en su unión con una ciclina, sino que su regulación depende de otros mecanismos:

- 1) Posibilidad de que se forme el complejo CdK-ciclina depende de la disponibilidad de ambas proteínas; puesto que las CdK están presentes de forma continua en la célula, son las ciclinas las que las regulan.
 - a. Tasa de síntesis de las ciclinas: como se ha indicado, la síntesis está controlada en función de la etapa del ciclo, aumentando en ciertos

puntos del mismo, diferentes para las ciclinas A y B que para las D y E.

b. Tasa de degradación de las ciclinas: determina, junto con la síntesis, la concentración disponible para su unión a las CdK.

2) Una vez formado el complejo CdK-ciclina, su actividad como quinasa está sometida a regulación por otras proteínas.

a. Modificación de la CdK por fosforilación y desfosforilación: la actividad del complejo CdK-ciclina precisa la fosforilación de ciertos residuos aminoacídicos de la CdK y no de otros, lo cual está regulado por distintas quinasas y fosfatasas, que a su vez están reguladas por la propia CdK activa (128-130).

Interacción de las quinasas como proteínas inhibidoras: el último mecanismo regulador de la actividad de los complejos CdK-ciclina se basa en la existencia de muchas proteínas que se unen a las CdK inhibiendo directamente su actividad; se las llama inhibidores de los complejos CdK-ciclina o CKI (130). Su efecto es, por tanto, bloquear el ciclo de división, por lo que funcionan como oncosupresoras. Los CKI se agrupan en dos en función de su estructura (existe similitud de sus secuencias), modo de acción y especificidad de sustrato (126, 131) (Tabla 4).

FAMILIA	NOMBRE	OTROS NOMBRES		ACCIÓN INHIBIDORA
KIP	p21	CIP1	WAF1	Preferentemente sobre complejos <u>Cdk-ciclina de G1 y S</u> . En menor medida sobre los complejos Cdk1-ciclina de G2. (E)
	p27	KIP1		
	p57	KIP2		
INK 4	p16	INK4a	MTS1	Específicamente sobre los complejos de <u>ciclinas de G1 con Cdk4 o Cdk6</u> , pues compiten con las ciclinas D.
	p15	INK4b	MTS2	
	p18	INK4c		
	p19	INK4d	ARF	

Tabla 4.- Familia de inhibidores de las quinasas y función inhibidora.

d.p63

p63 es un oncogén localizado en el cromosoma 3q27-28, que pertenece junto a p73 a la familia de supresores tumorales de p53, con la que comparte homologías estructurales y funcionales. Esta proteína tiene la capacidad de actuar como factor de transcripción regulando la progresión del ciclo celular, manteniendo la capacidad proliferativa, o induciendo apoptosis, en función del estímulo ambiental recibido por la célula. Se encuentra principalmente en la capa basal del epitelio escamoso estratificado y del epitelio de transición. p63 juega un papel esencial en la diferenciación ectodérmica durante el desarrollo y el mantenimiento de las células progenitoras del epitelio estratificado (132-136). El programa de diferenciación epidérmica se lleva a cabo gracias a una variedad de genes que contribuyen a la formación de la barrera cutánea. Los últimos estudios consideran a p63 como un marcador potencial de células progenitoras basándose en el fenómeno que ratones p63^{2/2} no consiguen desarrollar epitelio escamoso estratificado (137). Aunque aún se desconoce el control molecular exacto de p63 en la diferenciación epidérmica, recientes estudios concluyen que la expresión de las diferentes isoformas de p63 está perturbada en condiciones hiperproliferativas, incluyendo psoriasis (138, 139). Se precisarán estudios para entender el control molecular de p63 en la diferenciación epidérmica. Gu y col. (139), encontraron diferencias en la regulación de la isoforma TAp63 en la psoriasis, con discrepancia entre los niveles de mRNA y la expresión inmunohistoquímica de la proteína, lo que sugiere una regulación post-transcripcional análoga a la observada en p53.

En piel normal adulta en humanos, p63 se expresa en los queratinocitos menos diferenciados de la epidermis y sus anejos y en las células mioepiteliales de las glándulas sudoríparas (140-143). p63 también se expresa en tumores primarios cutáneos, como el carcinoma basocelular y espinocelular, así como en tumores anexiales benignos y malignos (144-148).

e. p53

La p53 es una proteína supresora de tumores que ejerce su función uniéndose al ADN y regulando la expresión de distintos genes. La p53 es un factor de transcripción que regula la transcripción de un conjunto de genes que son clave en la generación de tumores. Ante determinadas situaciones oncogénicas y genotóxicas la p53 responde produciendo detención del ciclo celular o apoptosis. El gran interés de p53 en medicina es su enorme trascendencia en la génesis y mantenimiento de tumores. En individuos con alteraciones en la función de la p53 son muy frecuentes los tumores. Por otra parte en el mantenimiento del crecimiento tumoral es muy importante que ocurran alteraciones o inactivaciones de la función de la p53 en las células tumorales. La p53 es una proteína que responde a daños celulares. Normalmente la p53 está presente en las células a niveles muy bajos, pero cuando se produce un daño en el ADN por diversos motivos como radiaciones o sustancias químicas aumenta mucho su nivel y ejerce sus acciones anti-oncogénicas. La p53 es una proteína de unión a ADN. Se une a diversos sitios específicos de regulación de expresión de genes ocasionando que se produzcan proteínas que detienen el ciclo celular hasta que los mecanismos de reparación de ADN lo reparen.

Cuando el daño es muy grande e irreparable, la p53 ejerce la otra función importante: induce apoptosis, suicidio celular, en la célula dañada mediante la regulación de la transcripción de genes que producen proteínas involucradas en apoptosis. En la piel, el proceso de la apoptosis regula la proliferación y la diferenciación queratinocítica manteniendo el equilibrio en el compartimento epidérmico. En la psoriasis este equilibrio está alterado, lo que presupone una expresión diferente de la p53.

Baran (149), estudió la expresión de la proteína p53 en la psoriasis. Acerca de ello comentó que la proteína p53 es una fosfoproteína, que muestra las propiedades de transcripción factor-like (150). En 1992, Lane (151) propuso una hipótesis que habla acerca de que la proteína p53 actúa como un guardián del genoma: su activación protege el organismo de la tumorigénesis. Los agentes perjudiciales para el DNA inducen la actividad de esta proteína, lo cual lleva a que el ciclo celular se detenga en la fase G1 o G2, y en el caso del DNA ineficaz se inicia la reparación de la apoptosis (152) en

humanos. La proteína p53 se expresa de forma constitutiva en la mayoría de las células, pero debido al corto lapso de su media vida es extremadamente difícil detectar una p53 “wild-type” en la inmunohistoquímica estándar. La forma activada o mutada acumulada en células y la detección inmunohistoquímica es posible (153). Algunos genes, particularmente oncogenes y genes supresores de tumores, pueden verse envueltos en la regulación anómala del ciclo celular (incrementando la división celular), lo cual es probablemente importante en el desarrollo de las lesiones psoriásicas (154, 155). Aunque la inmunoreactividad de la p53 ha sido también encontrada en varias lesiones de la piel inflamatorias, tales como psoriasis, liquen plano, dermatitis crónica y lupus eritematoso (156), los resultados son frecuentemente controvertidos.

f. p27

El gen p27^{Kip1} tiene una secuencia de ADN similar a otros miembros de la familia “Cip/Kip”, que incluyen los genes p21^{Cip/Waf1} y p57^{Kip2}. Además de su semejanza estructural, las proteínas “Cip/Kip” comparten la característica funcional de ser capaces de unirse a diversas clases de ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas. Por ejemplo, p27^{Kip1} se une a la ciclina D tanto sola como formando un complejo con su subunidad catalítica Cdk4. De este modo, p27^{Kip1} inhibe la actividad catalítica de Cdk4, por lo que impide que Cdk4 ceda fosfatos a su principal sustrato, la proteína del retinoblastoma. Niveles elevados de la proteína p27^{Kip1} suelen causar la parada del ciclo celular en la fase G1. Asimismo, p27^{Kip1} es capaz de unirse a otras Cdks cuando forman complejos con determinadas subunidades de ciclina, como en el caso de los complejos ciclinaE/Cdk2 y ciclina A/Cdk2.

Una mutación en este gen podría conducir a la pérdida del control sobre el ciclo celular, provocando una proliferación celular descontrolada (157-159). Estudios con ratones p27 Kip null (-/-) muestran un aumento global en la proliferación celular con el resultado de un aumento aproximado del 30% en el tamaño corporal, hiperplasia en múltiples órganos y desorganización del epitelio sensorial en la retina y oído interno (157, 160, 161). Además, los ratones null exhiben esterilidad femenina debido a los ovarios defectuosos y función uterina alterada. Una reducción del 50% de los niveles de

la proteína p27 en ratones heterocigotos (+/-) predispone a tumores en múltiples órganos cuando se combina con la administración de carcinógenos o cuando genéticamente se añaden oncogenes o supresores tumorales (162). En humanos, la deficiencia de la proteína p27 se ha asociado con el origen de tumores de forma esporádica. Los primeros casos notificados con bajas cantidades de p27 se asociaron con una mayor agresividad y un pobre resultado clínico en cáncer de mama y de colón (163).

3. MATRICES TISULARES

3.1. Recuerdo histórico y principios de la tecnología de matrices tisulares

El concepto básico de la tecnología del tissue microarray es una modificación novedosa del bloque multitejido propuesto y publicado por Héctor Battifora en 1968, conocido coloquialmente como el “bloque salchicha” (164), y posteriormente modificado y denominado “bloque en tablero de ajedrez” (164). La tecnología del tissue microarray avanza significativamente en la precisión y sofisticación del concepto de emplear gran número de pequeños fragmentos tisulares en un único bloque de parafina. Desde la descripción inicial del tissue microarray por Kononen y cols (165), se han realizado múltiples publicaciones detallando la utilidad de esta técnica para la evaluación simultánea de gran número de muestras tisulares (166-173).

Mediante el empleo de un instrumento equipado con agujas de acero inoxidable de pared fina (Beecham Instruments, Hackensack, figura 14), se toman cuidadosamente cilindros-biopsias de zonas previamente seleccionadas y representativas del bloque de parafina original (llamado “bloque donante”), y son llevadas a un nuevo bloque de parafina en blanco (llamado “bloque receptor”).

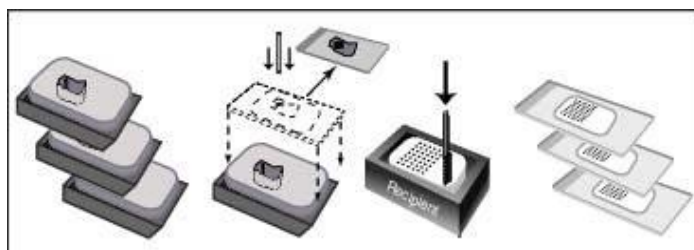


Figura 14.- Esquema de la técnica de TMA tal y como la describió Kononen en su artículo.

Un sistema digital de precisión permite colocar espacialmente todos los cilindros en el bloque receptor, encontrándose separados por una distancia uniforme. El tissue microarray o matriz tisular resultante puede contener entre cientos y miles de biopsias tisulares dependiendo del diámetro seleccionado para los cilindros. Con él podremos

contar con hasta 200 cortes consecutivos de 5 micras de idénticos sets de tumores o muestras tisulares, dependiendo del grosor origen de los bloques originales de parafina donantes. Los cortes del microarray pueden ser teñidos con hematoxilina-eosina, y paralelamente permitir la detección de DNA, RNA, o expresión proteica de cada uno de los cientos de especímenes de la matriz, empleando hibridación in situ con fluorescencia (FISH), PCR in situ, hibridación in situ de RNA o inmunohistoquímica (IHQ). Todo esto permitirá en definitiva realizar análisis consecutivos de más de 200 marcadores empleando un único bloque (microarray), y establecer correlaciones de las características morfológicas, genotípicas y fenotípicas en la entidad a estudiar. Además, la técnica permite un alto grado de estandarización de las técnicas inmunohistoquímicas y de hibridación, dado que todas las muestras son pretratadas, teñidas e hibridadas en idénticas condiciones.

3.2. Aspectos técnicos de la construcción de los tissue microarrays

La construcción de un tissue microarray es una labor relativamente sencilla que requiere un corto periodo de práctica y que se puede realizar en pocos días. Para la obtención de buenos resultados hay una serie de puntos a tener en cuenta:

a) Diámetro de los cilindros tisulares:

El diámetro de las agujas que se distribuyen con los instrumentos para la realización de microarrays (arrayer), varía entre 0.6 y 2 mm. Cada disco de tejido de 0.6 mm representa sólo alrededor de 1.4×10^6 micras cúbicas, lo que equivale a 2 o 3 campos de gran aumento (174). El objetivo fundamental y la razón de esta técnica es poder aumentar al máximo el número de muestras en un único bloque de parafina, y cuanto más finas sean las agujas, mayor será ese número. Sin duda esta es la prioridad fundamental en estudio de grandes series de casos, y puede ser muy útil en estudios multicéntricos centralizados en los que se podrían estudiar miles de muestras al mismo tiempo (175). Sin embargo, en estudios más modestos no es necesario el disponer de tantos cilindros en un mismo bloque. Fácilmente un bloque de parafina puede reunir más de 200 cilindros de un diámetro superior a 0.6 mm. (1 mm. por ejemplo). Incluso se

podrían utilizar cilindros más gruesos (2mm.) dispuestos en dos o más bloques, lo que sigue suponiendo un ahorro enorme en tiempo y recurso comparado con la técnica convencional.

A efectos prácticos, tanto la construcción como el corte son mucho más sencillos cuando se emplean cilindros tisulares “gruesos”. De igual manera la valoración de la técnica es mucho más sencilla al disponer de más tejido (cada cilindro de 1.5 mm. posee aproximadamente seis veces la cantidad de tejido de uno de 0.6 mm.) (176). Este dato es importante ya que con frecuencia los discos tisulares se doblan o rompen durante la fase de microtomía. En esos casos la presencia de discos pequeños impide realizar el análisis, mientras que con discos más grandes generalmente permanece una cantidad de tejido suficiente para el análisis.

En particular, los estudios inmunohistoquímicos pueden dar lugar a resultados indeterminados en discos doblados o fragmentados en las muestras que se colocan en los extremos de los bloques receptores debido al artefacto que se produce habitualmente en las preparaciones convencionales. El empleo de agujas más gruesas permite también un menor grado de error a la hora de “pinchar” los bloques donantes, especialmente cuando la zona a biopsiar es muy pequeña (ejemplo: la zona infiltrante de un carcinoma prostático) o cuando la lesión es heterogénea (ejemplo: tumores con grados variables). Por el contrario, el empleo de agujas más finas permite realizar una disección más acertada cuando lo que se trata es de tomar zonas muy específicas de las lesiones (177). Otra ventaja de emplear agujas finas es que se dañará menos el espécimen original. En casos en los que las muestras sean pequeñas esto es de importancia, ya que cuanto más fina sea la aguja empleada más material quedará disponible para nuevos estudios en los archivos. En caso de que las muestras sean grandes, como en el caso de resecciones tumorales, la diferencia será irrelevante. Por esto, a la hora de seleccionar el grosor de la aguja a emplear habrá que tener en cuenta el tamaño de la lesión en el bloque donante.

b) Realización de los cortes del tissue microarray:

Este es uno de los puntos críticos en la realización de la técnica de matrices tisulares. El método original recomendaba el empleo de sistemas de ayuda de corte basados en el empleo de portaobjetos y cintas adhesivas y una lámpara de luz ultravioleta (164). Se ha recomendado el uso de esta técnica en técnicos sin demasiada experiencia (176); sin embargo, en centros con experiencia se recomienda el método de

corte de rutina, enfriando ligeramente el bloque antes de cortarlo, empleando un baño de agua caliente y portaobjetos cargados electrostáticamente, iguales que los empleados para inmunohistoquímica de rutina. Utilizando este método entre un 90 y un 95 % de los discos quedan presentes en el corte cuando se emplean agujas de 0.6 mm., y prácticamente el 100 % empleando agujas de mayor grosor (176). Con respecto a la inmunohistoquímica y al FISH, se ha descrito que la ausencia de adhesivo en los portaobjetos mejora los resultados. Particularmente la señal de FISH es mucho menos clara cuando se emplean portaobjetos adhesivos.

3.3. Validación de los resultados obtenidos con la técnica de tissue microarrays

La demostración de la validez de la técnica de TMA comparándola con la técnica convencional ha sido un requerimiento fundamental para la adopción de este método a escala masiva. Debemos entender que el mayor potencial de esta técnica reside en su capacidad de realizar un “screening” de potenciales marcadores, y que los resultados extraídos pueden ser posteriormente confirmados con la técnica convencional. Así se evitarán estudios innecesarios y que requieren mucho tiempo de marcadores sin relevancia clínica ni pronóstica. Podría ocurrir que empleando agujas de 0.6 mm., las muestras a analizar no fuesen suficientemente representativas (173). Sin embargo la mayoría de estudios de TMA que han analizado marcadores conocidos han confirmado los datos comparándolos con los obtenidos previamente en estudios convencionales. Estos estudios son aún exclusivos de patología tumoral. En estudios de FISH con TMA empleando numerosos tumores diferentes, Scharml y cols (173) demostraron poder detectar al menos un 92% de las amplificaciones génicas conocidas cuando se estudiaban al menos 25 casos de cada tumor. Evaluando los resultados del estudio con TMA y comparándolos con secciones convencionales de los mismos casos, Moch y cols. (175) sugirieron que la heterogeneidad tumoral no influía significativamente en la identificación de factores pronósticos en carcinomas de mama y vejiga. Sallinen y cols. (172) describieron escasa variación entre los niveles de expresión inmunohistoquímica de p53 en gliomas estudiados con TMA y mediante técnica convencional. Camp y cols. (174) validaron los resultados obtenidos con TMA

comparándolos con los de la IHQ normal, estudiando una serie de 38 casos de carcinoma ductal infiltrante de mama, y la expresión de tres marcadores comúnmente empleados: receptores estrogénicos, progesterónicos y la expresión del oncogén Her2/neu. Comparando la tinción de 2 a 10 cortes de 0.6 mm. de diámetro con la tinción de toda la muestra tisular, determinaron que los resultados extraídos con dos cilindros eran superponibles a los obtenidos con el análisis de la sección tumoral completa en más de un 95 % de los casos. Proverbs-Singh y cols. (170) en un estudio de Ki67 con IHQ en carcinoma de próstata establecieron que tres cilindros de 0.6 mm. suponían una muestra satisfactoria para reflejar el nivel de expresión de toda la lesión. Recientemente, Skacel y cols. sugieren que el tejido obtenido con dos cilindros de 0.6 mm. asegura una cantidad suficiente de tejido para representar la lesión original (176) en al menos un 95% de los casos, incluso cuando los discos contienen una escasa población celular (<100 células). La presencia de tres cilindros compensará la posible pérdida de uno de ellos por toma inadecuada del bloque donante o por problemas en el corte del bloque máster. Ellos sugieren que si las agujas empleadas son las de 1.5 mm. de diámetro, la toma de 2 cilindros es suficiente para generar datos representativos de prácticamente el 100 % de los casos. Además la pérdida de un disco en el proceso de corte o como consecuencia del mal muestreo del bloque donante ocurre con menos frecuencia en cilindros gruesos que en finos. Incluso se comenta que en caso de que sólo se disponga de un cilindro, si éste es de 1.5 mm. de diámetro, proveerá material suficiente para el análisis del tumor (casi el doble de lo que ofrecen tres cilindros de 0.6 mm.) (176). Según Skacel, una de las causas que determinan que los cilindros más gruesos se pierdan con menor frecuencia es que su manejo más sencillo facilita su colocación perfecta en el bloque receptor (evitando el colocarlo en una posición muy profunda, lo que supondría que ese cilindro no saldría en los primeros cortes) (176).

3.4. Ventajas de la metodología de los TMA

Las ventajas de la metodología de los TMA son (178):

1. Posibilidad de estudiar gran cantidad de casos con nuevos marcadores a medida que estos van estando disponibles, permitiendo la caracterización

del patrón de expresión de estos marcadores en grandes series de tumores y tejidos normales.

2. Posibilidad de estudiar una serie completa de tumores para un anticuerpo en concreto empleando tan sólo una preparación.
3. Las condiciones de procesamiento son idénticas para todos los especímenes evaluados.
4. La cantidad de tejido de archivo necesario para realizar los estudios se reduce considerablemente, al comparar esta técnica con la tradicional.
5. La cantidad de tumor analizado se reduce considerablemente, al comparar esta técnica con la tradicional.
6. A pesar de que los estudios son limitados, trabajos iniciales indican que la mayoría de las proteínas mantienen su antigenicidad durante más de 70 años en los bloques de parafina.
7. La validación de resultados realizados hasta la fecha demuestra una excelente correlación entre el método TMA (si se emplean 2-3 cilindros) y los estudios con secciones completas.
8. Tanto el tiempo como los costes empleados para el estudio de técnicas inmunohistoquímicas o de hibridación in situ de grandes series de casos se reducen considerablemente con la técnica de los TMA.

3.5. Manejo de datos con TMA

Como se ha comentado, los TMA permiten el estudio sistemático y simultáneo de múltiples marcadores en cientos o incluso miles de casos. Es fácil comprender que una de las consecuencias inmediatas de su empleo es la obtención de enormes cantidades de datos que deben ser posteriormente analizados, lo que constituye realmente el fin del proceso. Para tal fin se recomienda emplear aplicaciones

informáticas, en particular bases de datos y distribuir en ellas los tres tipos de datos extraídos:

1. Datos de elaboración de los TMA: plantillas empleadas, distribución de los casos en los bloques receptores, anticuerpos empleados, etc.
2. Datos clínicos y patológicos de cada paciente.
3. Resultados de las técnicas (tras la valoración inmunohistoquímica o de FISH, etc.).

Con el desarrollo reciente de tecnología basada en Internet, Manley y col. han descrito recientemente la posibilidad de manejar grandes bases de datos por la red, lo que a su juicio supone un método eficaz, barato, y que permite realizar estudios multicéntricos entre instituciones separadas geográficamente (179).

3.6. Tissue microarrays y enfermedades cutáneas

Hasta la fecha no hemos encontrado publicaciones de estudios de expresión de proteínas del ciclo celular empleando la técnica de tissue microarrays en psoriasis u otras dermatosis, lo que supone una aplicación novedosa de esta técnica en el campo de la dermatología.

En dermatología, se ha utilizado la técnica de tissue microarrays en el estudio de tumores cutáneos (178, 180-192). Estos trabajos se comentarán en el apartado Discusión (página 149).

II. Justificación, hipótesis y objetivos

1. JUSTIFICACIÓN

En la práctica habitual dermatológica, el diagnóstico de psoriasis se realiza mediante una historia clínica detallada y la observación clínica de lesiones. Existen sin embargo pacientes en los que es preciso realizar una biopsia cutánea para confirmar el diagnóstico de psoriasis o descartar otro proceso con similitudes clínicas. En estos casos, la histopatología puede también presentar dificultades porque los hallazgos de algunas de estas enfermedades, clínicamente similares a la psoriasis muestran características histopatológicas semejantes también. En ocasiones, a pesar del intento de correlación clinicopatológica, un diagnóstico de certeza no es posible. En el ejercicio clínico, un buen ejemplo son las lesiones palmoplantares. Las lesiones crónicas de psoriasis afectando estas localizaciones a menudo son clínica e histopatológicamente indistinguibles de las de un eccema crónico palmoplantar. En estos casos, o en los estadios precoces o muy evolucionados de las lesiones psoriásicas, no existen técnicas que ayuden al diagnóstico.

La arquitectura histológica y función de la epidermis depende de un equilibrio bien regulado entre la proliferación y la diferenciación epidérmica. Este equilibrio se altera en la psoriasis, donde se observa un recambio epidérmico aumentado, con queratinocitos que siguen un programa regenerativo intenso similar al de la respuesta a una herida (5). La población de células en proliferación (queratinocitos epidérmicos) se dobla en la psoriasis acortándose el ciclo celular (36 vs. 311 horas) consiguiendo una producción de queratinocitos 28 veces mayor comparada con una epidermis normal (8). La hiperproliferación queratinocitaria es estimulada por citocinas liberadas tanto por los linfocitos T como por los propios queratinocitos. Con el fin de encontrar marcadores que ayuden a realizar un diagnóstico definitivo de psoriasis nos planteamos llevar a cabo un estudio de patrones de expresión inmunohistoquímica de proteínas del ciclo celular en psoriasis y en otras dermatosis partiendo de la hipótesis de que puedan existir diferencias que nos permitan discernir entre la entidad a estudio (psoriasis) y otras enfermedades inflamatorias cutáneas.

2. HIPÓTESIS

Basándonos por lo tanto en la regulación anómala del ciclo celular que existe en la psoriasis, expresada en la hiperproliferación queratinocítica, planteamos la siguiente hipótesis de trabajo:

Los queratinocitos sufren alteraciones en la regulación del ciclo celular que pueden ser demostrables mediante el estudio de expresión de sus proteínas reguladoras. Los patrones de expresión de estas proteínas podrían ser empleados como herramienta diagnóstica en casos dónde la clínica, la histopatología y la correlación clinicopatológica no sean suficientes.

3. OBJETIVOS

Los objetivos de nuestra línea de investigación son los siguientes:

1. Valorar la expresión inmunohistoquímica de muestras cutáneas de pacientes con psoriasis, en particular proteínas del ciclo celular, y compararla con el perfil de expresión en varios procesos inflamatorios.
2. Valorar y comparar la expresión inmunohistoquímica de las proteínas del ciclo celular en los subgrupos psoriasis/eccema, psoriasis/psoriasis palmoplantar y psoriasis palmoplantar/eccema.
3. Buscar marcadores inmunohistoquímicos que faciliten el diagnóstico dermatológico de la psoriasis.
4. Valorar la aplicación de la técnica de matrices tisulares en biopsias de procesos inflamatorios cutáneos.

III. Material y métodos

1. SELECCIÓN DE LOS CASOS Y CONTROLES

1.1. Selección de los casos

Se han estudiado en total 73 pacientes con psoriasis. Para su elección, se escogieron 73 biopsias con diagnóstico histológico de psoriasis de la base de datos de histopatología del Servicio de Dermatología del Complejo Asistencial de Salamanca desde el año 1988.

De cada biopsia con diagnóstico previo de psoriasis se llevó a cabo un estudio por dos observadores de la histología convencional teñida con hematoxilina-eosina, descartando aquellas biopsias que no representaban un diagnóstico histopatológico claro de psoriasis.

Además se seleccionaron para la realización de los tissue microarrays ocho muestras de diferentes tejidos sin lesiones histológicas significativas. El empleo de estas muestras se realizó con el fin de poseer controles internos de la técnica en cada tissue-microarray. Estas muestras corresponden a: tejido linfoide de ganglio linfático, amígdala, mama, pulmón, riñón y próstata.

1.2. Selección de los controles

Como controles se seleccionaron 63 biopsias de enfermedades inflamatorias cutáneas diferentes a la psoriasis, de la base de datos histopatológica del Servicio de Dermatología del Complejo Asistencial de Salamanca desde el año 1988. Se incluyeron 26 biopsias con diagnóstico histológico de eccema, 16 de lupus eritematoso, 11 de pitiriasis liquenoide y 10 de pitiriasis rosada.

Al igual que en los casos de psoriasis, dos observadores estudiaron la histología convencional de cada una de ellas, comprobando que se tratase de casos que no planteasen dudas en su diagnóstico histopatológico.

2. VARIABLES CLÍNICAS ESTUDIADAS

De todos los pacientes se revisaron las historias clínicas con el objeto de incluir los siguientes datos clínicos:

1.Nº de historia clínica

2.Nº de biopsia

3.Nº de estudio

4.Edad. Se valoró la edad de inicio de la psoriasis, estableciendo dos grupos: '> de 40 años' y '≤ de 40 años'. Variable cualitativa dicotómica.

5.Sexo. Variable cualitativa dicotómica.

6.Antecedentes familiares de psoriasis. Se consideraron 4 categorías: 'no tener antecedentes familiares', 'antecedentes familiares de primer grado', 'antecedentes familiares de segundo grado', 'antecedentes lejanos'. Variable cualitativa, escala nominal.

7.Tipo de psoriasis: se valoraron 5 posibilidades diagnósticas dentro de la psoriasis, 'psoriasis en placas', 'psoriasis en gotas', 'eritrodermia psoriásica', 'psoriasis palmoplantar', 'psoriasis pustuloso'. Variable cualitativa, escala nominal.

8.Clínica predominante: dentro de este apartado se consideraron cada característica clínica como una variable cualitativa dicotómica. Se valoraron:

- **Clínica desconocida**
- **Eritema**
- **Induración**
- **Descamación**
- **Prurito**
- **Pústulas**

9.Localización de la biopsia: variable cualitativa, escala nominal, con las siguientes categorías, 'cuero cabelludo', 'tronco', 'extremidades superiores', 'extremidades inferiores', 'palmoplantar'.

10.Piel fotoexpuesta: variable cualitativa dicotómica. Se consideró como piel fotoexpuesta las siguientes localizaciones: cara, cuello, escote y antebrazos.

11. Diagnóstico clínico de presunción: se realizó una valoración previa de los diagnósticos clínicos de presunción y los 4 más frecuentes se consideraron como variables independientes cualitativas dicotómicas,

- **P. Liquenoide**
- **P. Rosada**
- **Eccema**
- **Psoriasis**
- **Otros**

12. Tiempo de evolución de la lesión: variable cualitativa, escala nominal con las siguientes categorías, ‘desconocido’, ‘días’, ‘semanas’, ‘meses’, ‘años’.

13. Localización de lesiones: transformamos cada posibilidad en variables cualitativas dicotómicas:

- **Cuero cabelludo**
- **Tronco**
- **Extremidades superiores**
- **Extremidades inferiores**
- **Palmoplantar**
- **Lesión única**

14. Antecedentes y comorbilidades. Variables cualitativas dicotómicas:

- **Dermatológicos**
- **Autoinmunes**
- **DM**
- **HTA**
- **Enfermedad cardiovascular**
- **Obesidad**
- **Tabaco**
- **Alcohol**
- **Rasgo atópico**
- **Hipercolesterolemia**
- **Otras**

En aquellos casos donde faltaba la historia clínica o no estaba detallado alguno de los datos que buscábamos, se intentaba localizar al paciente telefónicamente, preguntando aquellos datos que no quedaban claros en la historia clínica.

3. REALIZACIÓN DE LAS MATRICES TISULARES

3.1. Selección de las muestras histológicas

Todas las muestras seleccionadas procedían de punch de 4 mm de diámetro, siendo toda la muestra representativa de la patología en cuestión (psoriasis, eccema, pitiriasis rosada, pitiriasis liquenoide o lupus eritematoso). De cada punch de 4 mm se obtuvieron 2 cilindros de 1 mm de diámetro para la configuración del bloque 1 y 2.

3.2. Diseño del tissue microarray

Para nuestro estudio diseñamos una plantilla con la distribución final de los casos y los controles en los bloques receptores. Además de los casos y controles seleccionados previamente se añadieron 8 muestras de diferentes tejidos extraídos de una autopsia que se distribuyeron aleatoriamente en la plantilla como controles de las tinciones inmunohistoquímicas. Con el fin de tener perfectamente localizado cada caso, se asignó una letra a cada columna y un número a cada caso (tablas 5 y 6).

3.3. Selección de los bloques donantes

Una vez decididas las preparaciones de los casos y controles que queríamos estudiar, seleccionamos del archivo histológico del Servicio de Dermatología del Hospital Clínico Universitario de Salamanca los respectivos bloques.

3.4. Selección de la zona a pinchar en el bloque

Para realizar correctamente un TMA es importante tomar la muestra del bloque donante del lugar correcto para que sea representativo de la patología a estudio. En nuestro caso, toda la muestra era representativa ya que correspondía a biopsias tipo punch de 4 mm. de lesiones de enfermedades cutáneas. Por consiguiente y a diferencia de los estudios de tumores mediante TMA, donde es preciso seleccionar previamente una parte concreta, en nuestro estudio de psoriasis no fue preciso. Se estableció como único requisito que la epidermis quedara incluida, ya que en la psoriasis la mayor alteración histológica se localiza en esa capa.

Cada bloque se pinchó 2 veces para la creación del bloque 1 y 2 respectivamente, gastando prácticamente la muestra, al tratarse de una biopsia tipo punch de 4 mm (figura 15).

3.5. Realización del bloque máster

La fase de realización de las matrices tisulares se realizó en el laboratorio de Dermatopatología del Hospital Universitario de Salamanca (Departamento de Anatomía Patológica y Servicio de Dermatología). Se empleó un arrayer de la marca Beecham Instruments, Hackensack, USA dotado de medición digital micrométrica y agujas de 1 mm. de diámetro (figuras 15 a 19).

A-2 1													
A-1 2													
A1 3	B1 24	C1 25	D1 46	E1 47	F1 68	61 69	H1 90	I1 91	J1 112	K1 113	L1 134	M1 135	
A2 4	B2 23	C2 26	D2 45	E2 48	F2 67	62 70	H2 89	I2 92	J2 111	K2 114	L2 133	M2 136	
A3 5	B3 22	C3 27	D3 CONTROL 44	E3 49	F3 66	63 71	H3 88	I3 93	J3 CONTROL 110	K3 115	L3 132	M3 137	
A4 6	B4 21	C4 28	D4 43	E4 50	F4 65	64 72	H4 87	I4 94	J4 109	K4 116	L4 131	M4 138	
A5 7	B5 20	C5 29	D5 42	E5 51	F5 CONTROL 64	65 73	H5 CONTROL 86	I5 95	J5 108	K5 117	L5 130	M5 139	
A6 8	B6 19	C6 30	D6 41	E6 52	F6 63	66 74	H6 85	I6 96	J6 107	K6 118	L6 129	M6 140	
A7 9	B7 18	C7 31	D7 40	E7 53	F7 CONTROL 62	67 75	H7 CONTROL 84	I7 97	J7 106	K7 119	L7 128	M7 141	
A8 10	B8 17	C8 32	D8 39	E8 54	F8 61	68 76	H8 83	I8 98	J8 105	K8 120	L8 127	M8 142	
A9 11	B9 16	C9 33	D9 CONTROL 38	E9 55	F9 60	69 77	H9 82	I9 99	J9 CONTROL 104	K9 121	L9 126	M9 143	
A10 12	B10 15	C10 34	D10 37	E10 56	F10 59**	610 78	H10 81	I10 100	J10 103	K10 122	L10 125	M10 144	
A11 13	B11 14	C11 35	D11 36	E11 57	F11 58	611 79	H11 80	I11 101	J11 102	K11 123	L11 124		

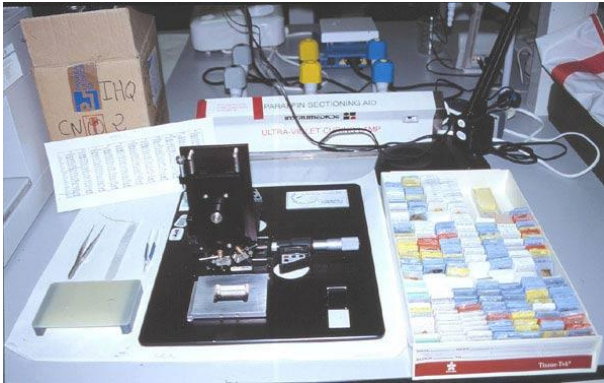
PSORIASIS	NO PSORIASIS
-----------	--------------

Tabla 5.- Plantilla de distribución de los casos y controles. Se han omitido los números de biopsia por cuestiones de confidencialidad.

A-2 1												
A-1 2												
A1 3	B1 24	C1 25	D1 46	E1 47	F1 68	G1 69	H1 90	I1 91	J1 112	K1 113	L1 134	M1 135
A2 4	B2 23	C2 26	D2 45	E2 48	F2 67	G2 70	H2 89	I2 92	J2 111	K2 114	L2 133	M2 136
A3 5	B3 22	C3 27	D3 CONTROL 44	E3 49	F3 66	G3 71	H3 88	I3 93	J3 CONTROL 110	K3 115	L3 132	M3 137
A4 6	B4 21	C4 28	D4 43	E4 50	F4 65	G4 72	H4 87	I4 94	J4 109	K4 116	L4 131	M4 138
A5 7	B5 20	C5 29	D5 42	E5 51	F5 CONTROL 64	G5 73	H5 CONTROL 86	I5 95	J5 108	K5 117	L5 130	M5 139
A6 8	B6 19	C6 30	D6 41	E6 52	F6 63	G6 74	H6 85	I6 96	J6 107	K6 118	L6 129	M6 140
A7 9	B7 18	C7 31	D7 40	E7 53	F7 CONTROL 62	G7 75	H7 CONTROL 84	I7 97	J7 106	K7 119	L7 128	M7 141
A8 10	B8 17	C8 32	D8 39	E8 54	F8 61	G8 76	H8 83	I8 98	J8 105	K8 120	L8 127	M8 142
A9 11	B9 16	C9 33	D9 CONTROL 38	E9 55	F9 60	G9 77	H9 82	I9 99	J9 CONTROL 104	K9 121	L9 126	M9 143
A10 12	B10 15	C10 34	D10 37	E10 56	F10 59**	G10 78	H10 81	I10 100	J10 103	K10 122	L10 125	M10 144
A11 13	B11 14	C11 35	D11 36	E11 57	F11 58	G11 79	H11 80	I11 101	J11 102	K11 123	L11 124	

PSORIASIS	PSORIASIS PALMOPLANTAR	LUPUS ERITEMATOSO DISCOIDE	ECZEMAS
	PITIRIASIS ROSADA	PITIRIASIS LIQUENOIDE CRÓNICA	

Tabla 6.- Plantilla de distribución de los casos y controles especificando cada diagnóstico por código de colores. Se han omitido los números de biopsia por cuestiones de confidencialidad.



A



B

Figura 15.- A.- Material necesario para la realización de las matrices tisulares: arrayer de la marca Beecher Instruments, y casos y controles organizados. B.- Sistema digital de medición micrométrica.

Figura 16.- Paso 1: Se toma una "biopsia" de la zona marcada en el bloque donante con una aguja de centro hueco.



Figura 17.- Paso 2: con otra aguja similar a la anterior, pero de calibre más fino se extrae un molde de parafina del bloque receptor. Empleamos coordenadas específicas medidas con precisión micrométrica.

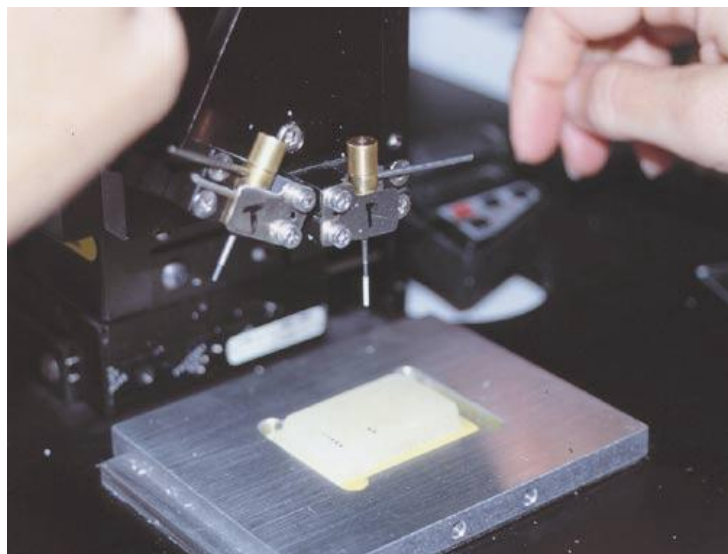


Fig. 18.- Paso 3: Introducimos el core tomado del bloque tumoral en el hueco que hemos dejado en el bloque donante. El cilindro se empuja con un émbolo situado en el interior de la aguja.

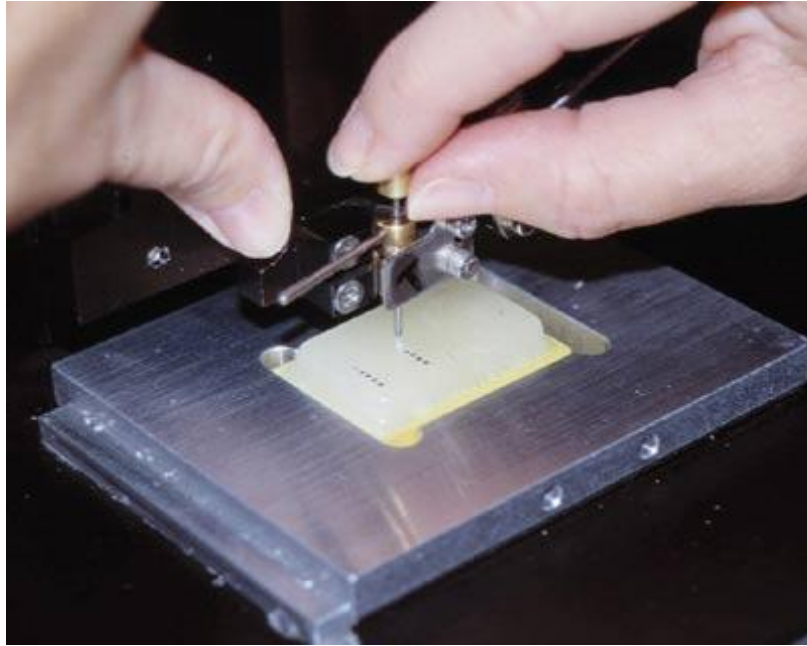
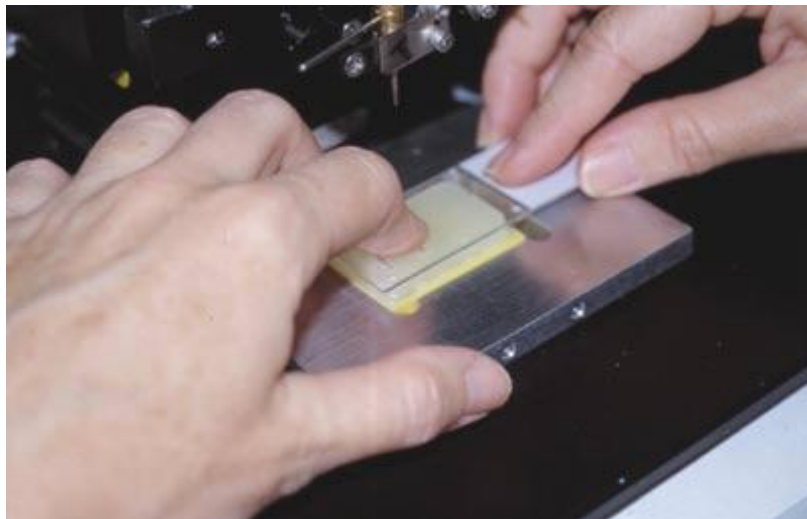


Figura 19.- Paso 4: Presionamos con un portaobjetos el cilindro inducido con el fin de dejarlos todos a la misma altura. Así evitamos perder los primeros cortes.



Se tomaron dos muestras de cada cilindro, que se distribuyeron en 13 filas y 13 columnas, separados unos de otros por una distancia de 1.5 mm. El proceso se explica en la figura 20.

En total se emplearon dos bloques receptores, cada uno de los cuales contenía un cilindro de cada caso y de cada control.

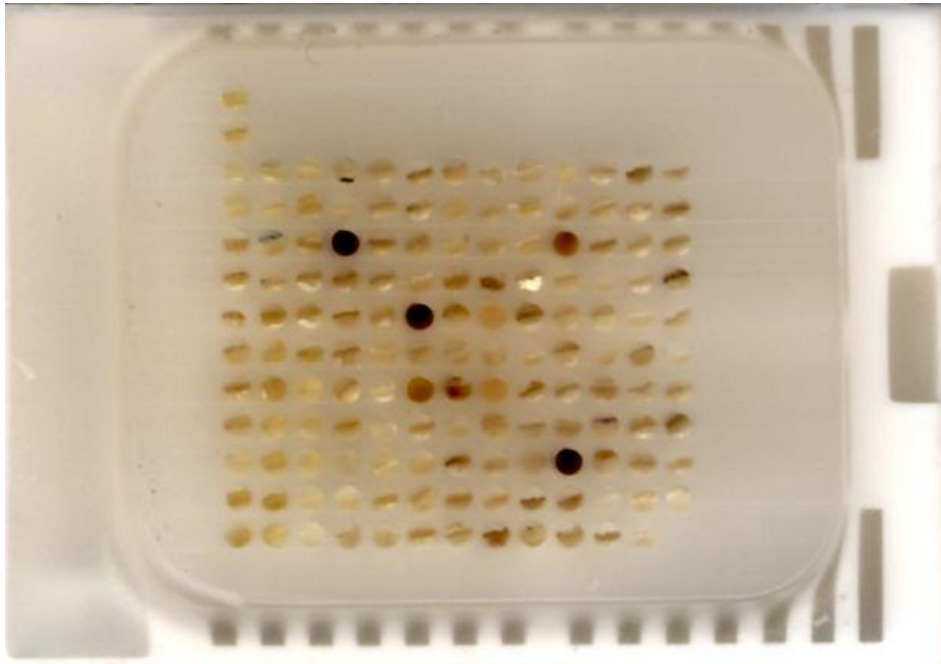


Figura 20a.- Bloque I

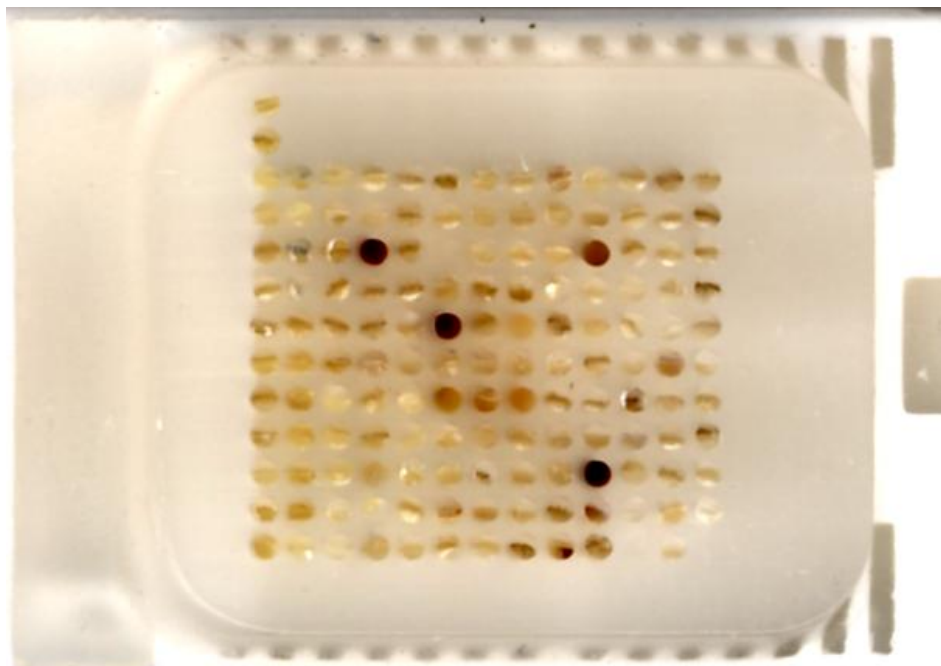


Figura 20b.- Bloque II

Figura 20.- Iconografía de los tissue microarrays

3.6. Corte de los TMA

Se realizaron 50 cortes iniciales de 3 micras de cada uno de los bloques receptores mediante la técnica tradicional de microtomía (figura 21).

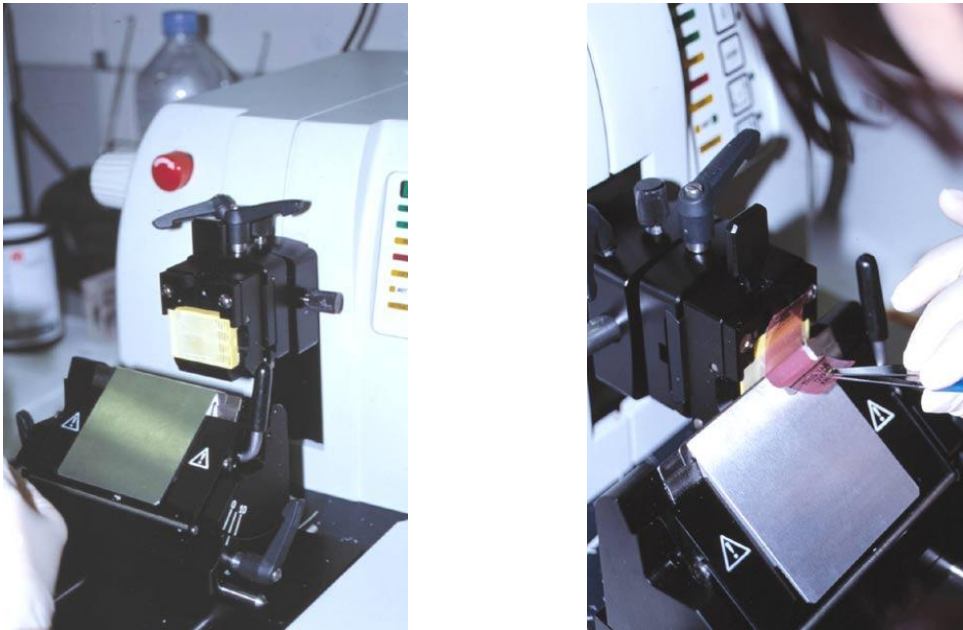


Figura 21.- Para nuestro estudio de los bloques se cortaron de la manera tradicional (izquierda). Se desestimó el uso de sistemas de ayuda, como cintas autoadhesivas (derecha).

4. PROTOCOLO DEL MÉTODO INMUNOHISTOQUÍMICO

El estudio inmunohistoquímico se realizó sobre material fijado en formol e incluido en parafina, sobre secciones de los tissue microarrays de 3 micras colocadas en portaobjetos xilenados. Los anticuerpos empleados, clon, casa comercial, referencia y dilución se especifican en la tabla 7.

Para todos los anticuerpos se empleó la técnica de visualización LSAB (Novolink TM Novocastra TM Ref. 7140-K, Newcastle, Reino Unido), siguiendo los pasos que a continuación se detallan:

a. Paso 1: Bloqueo de actividad Peroxidasa endógena

- Eliminación del exceso de agua y secado cuidadoso de los bordes de la preparación
- Añadir suficiente cantidad de Peróxido de Hidrógeno al 3 % sobre la muestra
- Incubar durante 5 minutos
- Lavar con agua destilada

Anticuerpo	Clon	Casa comercial	Referencia	Dilución
Ki-67	MIB-1	DAKO	M-7240	1:100
p-21(WAF-1)	EA-10	ONCOGENE	OP-64	1:25
p-27	57	Transduction Lab.	K25020	1:1000
p-53	DO-7	Novocastra	NCL-p53-DO7	1:50
CDK-1	1	BD-transduction lab	610038	1:1500
CDK-2	8D4	NeoMarkers	MS-463-P1	1:500
ciclina A	6E6	Novocastra	NCL-Cyclin A	1:100
ciclina D1	DCS-6	DAKO	M7155	1:100
ciclina E	13A3	Novocastra	NCL-Cyclin E	1:10
p-63	BC4A4	Biocave	LM163,A,B,L,JJ	1:100
bcl-2	BCL-2/100/D5	Novocastra	NCL-L-BCL2	1:80

Tabla 7.- Relación de anticuerpos empleados.

b. Paso 2: bloqueo de proteínas o de uniones inespecíficas

- Eliminación del exceso de agua y secado cuidadoso de los bordes de la preparación
- Añadir Protein Block
- Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente

- Lavar con PBS o TBS

c.Paso 3: anticuerpo 1º o reactivo control negativo

- Eliminación del exceso de agua y secado cuidadoso de los bordes de la preparación
- Añadir el anticuerpo 1º o el reactivo control negativo según su ficha de optimización
- Colocar un cubreobjetos e introducir la preparación en cámara húmeda
- Incubar al menos durante 25 o 40 minutos (ver referencias de cada anticuerpo)
- Retirar el cubreobjetos con cuidado de no dañar el tejido
- Lavado con PBS o TBS

d.Paso 4: anticuerpo 2º o puente (link)

- Eliminación del exceso de agua y secado cuidadoso de los bordes de la preparación
- Añadir unas gotas del anticuerpo 2º o Post Primary Block sobre la preparación
- Colocar un cubreobjetos e introducir la preparación en cámara húmeda
- Incubar durante 25 minutos a temperatura ambiente
- Retirar el cubreobjetos y lavar como en el paso anterior

e.Paso 5: Peroxidasas-Estreptavidina

- Secado como antes
- Añadir la enzima (reactivo de color rosa) hasta cubrir la muestra
- Colocar un cubreobjetos e introducir la preparación en cámara húmeda
- Incubar 25 minutos a temperatura ambiente
- Lavar como antes

f.Paso 6: Solución de substrato-cromógeno

- Ecurrir los cristales como anteriormente
- Añadir la solución preparada de Substrato Cromógeno (50 µl de DAB Cromogen por cada 1000 µl de DAB Substrate Buffer)
- Incubar 5 minutos
- Lavar con agua destilada

g.Paso 7: Contratación

- Cubrir las muestras con hematoxilina
- Incubar de 1 – 5 minutos, dependiendo del tipo de hematoxilina
- Lavar con agua destilada
- Sumergir 10 veces en agua amoniacal (opcional)
- Colocar las muestras en agua destilada o agua desionizada durante 2 minutos

h.Paso 8: Montaje

- Cuando se utiliza como cromógeno AEC se debe usar un medio de montaje acuoso tal como: DAKO Glicergel (código No. C563). El producto de la reacción con el substrato-cromógeno AEC es soluble en disolventes orgánicos y por ello no es compatible ni con Tolueno ni Xilol.
- Cuando se usa DAB como cromógeno se puede utilizar un medio de montaje permanente no acuoso.

5. VALORACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se analizaron dos discos de un milímetro de diámetro de cada caso (psoriasis) y control (enfermedad inflamatoria cutánea no psoriasis), lo que supone una superficie

total a estudiar de 904 mm². Con el fin de garantizar la reproductibilidad del método decidimos emplear criterios de valoración sencillos y reproducibles.

5.1. Tinción con hematoxilina-eosina

Con la tinción de hematoxilina-eosina se estudiaron mediante microscopía convencional las siguientes variables en los 73 casos (psoriasis) y en los 63 controles (no psoriasis):

1. **Hiperplasia epidérmica regular.** Variable cualitativa dicotómica con las categorías de presencia y ausencia. Para nuestro estudio consideramos positivo la existencia de un aumento de grosor de la epidermis con elongación de las crestas epidérmicas de forma regular (psoriasiforme).
2. **Hipogranulosis.** Variable cualitativa dicotómica con dos categorías, presencia o ausencia de una capa granulosa de menor grosor.
3. **Paraqueratosis.** Variable cualitativa dicotómica con dos categorías, presencia o ausencia de núcleos en los queratinocitos de la capa córnea.
4. **Exocitosis de neutrófilos** (pústula espongiiforme de Kogoj). Variable cualitativa dicotómica con las categorías de presencia o ausencia de permeación de neutrófilos dentro de la epidermis desde los vasos de la dermis papilar.
5. Pequeños grupos de **neutrófilos** en la capa córnea (**microabcesos de Munro**). Variable cualitativa dicotómica con dos posibilidades, presencia o ausencia.
6. **Mitosis suprabasales.** Variable cualitativa dicotómica con las categorías de presencia o ausencia. Se consideraba como positivo (presencia) la visualización de 1 o más mitosis por encima de la capa basal epidérmica.
7. **Edema en dermis papilar.** Variable cualitativa dicotómica con las categorías de presencia o ausencia.
8. **Capilares en las papilas dérmicas.** Variable cualitativa dicotómica con dos posibilidades, presencia o ausencia de capilares dilatados y tortuosos dispuestos verticalmente en las papilas dérmicas.

- 9. Infiltrado inflamatorio dérmico.** Variable cualitativa dicotómica con las categorías de presencia o ausencia.
- 10. Atrofia suprapapilar.** Variable cualitativa dicotómica con dos posibilidades, presencia o ausencia de adelgazamiento de la epidermis en la región suprapapilar.
- 11. Espongiosis.** Variable cualitativa dicotómica con las posibilidades de presencia o ausencia de edema intraepidérmico.
- 12. Grosor epidérmico.** Para calcular el grosor epidérmico se realizaron 3 mediciones mediante el programa informático CELL de 3 grosores suprapapilares del punch de cada muestra, hallando su media, expresada en micrómetros. Con estos datos se consideró la variable como cuantitativa continua para la realización de la estadística descriptiva. Posteriormente se transformó en variable cualitativa dicotómica considerando el punto de corte la mediana.
- 13. Perímetro epidérmico.** Mediante el programa informático CELL se calculaba el perímetro epidérmico en 0.5 mm. de superficie del punch. Con estos datos se consideró la variable como cuantitativa continua para la realización de la estadística descriptiva. Posteriormente se transformó en variable cualitativa dicotómica considerando el punto de corte de la mediana.
- 14. Área epidérmica.** Mediante el programa informático CELL se calculaba el área epidérmica en 0.5 mm. de superficie del punch. Con estos datos se consideró la variable como cuantitativa continua para la realización de la estadística descriptiva. Posteriormente se transformó en variable cualitativa dicotómica considerando el punto de corte de la mediana.

5.2. Tinciones inmunohistoquímicas

Tal y como se recomienda para la valoración de los tissue microarrays, la valoración de los resultados obtenidos mediante técnicas de inmunohistoquímica se realizó estableciendo un baremo de evaluación que permita la máxima reproductibilidad de los mismos. Basándonos en estudios previos, se consideró como criterio de

positividad para la valoración de proteínas del ciclo celular la presencia de más de un 5% de células positivas (193). Ocasionalmente se dio la circunstancia de que discos de la misma muestra (bloque 1 y bloque 2) ofrecían resultados variables en la expresión de proteínas. Cada uno de estos casos fue examinado individualmente, y en términos generales se consideran positivos aquellos casos con dos cilindros positivos.

Todos los datos recogidos se trasladarán a una base de datos. Sobre ella se realizaron estudios estadísticos con el fin de encontrar diferencias significativas tanto en los datos clínicos como histopatológicos e inmunohistoquímicos, entre los pacientes con psoriasis y el resto de los casos (piel sana y otras enfermedades inflamatorias cutáneas).

Se valoraron las siguientes proteínas del ciclo celular:

- 1.ki-67.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Se realizó un conteo celular: número de células con núcleo teñido por 0,5 mm. de superficie de membrana basal. La mediana de los valores resultó 47,5 que utilizamos como punto de corte (positivo > mediana y negativo \leq mediana).
- 2.ciclina A.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Se llevó a cabo un conteo de células teñidas (tinción nuclear) de la capa basal y suprabasal de toda la epidermis del punch, excluyendo anejos (pelos y glándulas). La mediana de los valores, 35, se empleó como punto de corte (positivo > mediana y negativo, \leq mediana).
- 3.ciclina D1.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Consideramos positivo la tinción nuclear de queratinocitos en capas basales > 5%.
- 4.p63.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Se consideraba positivo una tinción nuclear > 5% de queratinocitos en capa basal y 7-8 capas superiores con pérdida de tinción en estratos más altos. Se valoró como negativo los casos donde la tinción nuclear era uniforme en capas inferiores y superiores epidérmicas.
- 5.ciclina E.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Valoramos

como positivo la tinción nuclear > 5 % de las células en capas altas epidérmicas con nula expresión en capas inferiores.

- 6. CDK-1.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Consideramos positivo la tinción nuclear > 5% de los queratinocitos en capas altas epidérmicas además de tinción difusa en capa basal y suprabasal.
- 7. CDK-2.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Se consideraba positivo la tinción nuclear > 5% en la porción superior del estrato de Malpigio.
- 8. p21.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Consideramos positivo la tinción nuclear > 5% de los queratinocitos en todo el grosor epidérmico.
- 9. p27.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Consideramos positivo la tinción nuclear > 5% en estratos supraespinosos.
- 10. p53.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Se valora como positivo la tinción nuclear > 5% de los queratinocitos.
- 11. bcl-2.** Los resultados se expresaron en forma de variable cualitativa dicotómica con los siguientes valores: positivo y negativo. Se valoraba únicamente la tinción citoplasmática de células epiteliales, considerando positiva la tinción > 5% de las células.

6. ALMACENADO DE DATOS

Todos los datos recogidos se trasladaron a una base de datos del programa informático SPSS versión 15. La base de datos creada contenía 106 campos y 144 registros, lo que supone un total de 15264 variables.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio estadístico se empleó la aplicación informática SPSS versión 15. Sobre ella se realizaron estudios estadísticos con el fin de encontrar diferencias significativas tanto en datos clínicos como histopatológicos e inmunohistoquímicos entre los dos grupos (psoriasis y no psoriasis). Se realizó un análisis descriptivo de las variables. Para la variable edad se empleó el test de la t de Student. Para mostrar la dependencia o independencia entre las variables se diseñaron tablas de contingencia. Para el resto de variables empleamos la prueba chi-cuadrado de Pearson para determinar la significación de las diferencias entre dos grupos independientes. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con valores de $p < 0.05$. Para identificar la magnitud o fuerza de la asociación entre variables calculamos la Odds Ratio (OR).

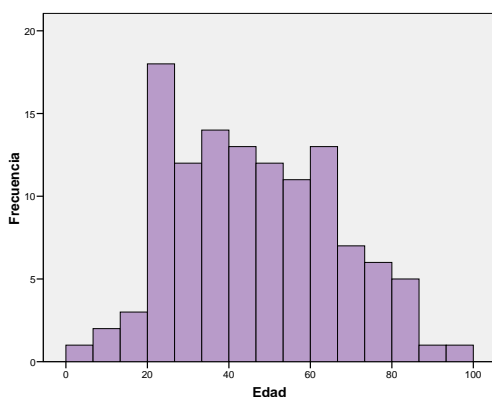
IV. Resultados

1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

1.1. Variables demográficas

1.1.1. Edad

Las edades de los pacientes estudiados en el momento del diagnóstico histopatológico, considerando la fecha de realización de la biopsia cutánea, oscilan entre 3 y 95 años con una media de 46,18 y una desviación típica de 19,58. El resto de variables descriptivas quedan reflejadas en la siguiente tabla:



	VÁLIDOS	PERDIDOS
CASOS	119	25
MEDIA	46,18	
MEDIANA	45,00	
MODA	24,00	
DESVIACIÓN TÍPICA	19,58	
VARIANZA	383,40	
MÍNIMO	3,00	
MÁXIMO	95,00	
PERCENTILES	25,00	29,00
	50,00	45,00
	75,00	62,00

Tabla 8.- Estadística descriptiva y distribución de las edades de los pacientes estudiados (casos y controles).

a. Edad de inicio de la psoriasis

De acuerdo con la bimodalidad observada en la mayoría de los estudios en población blanca, transformamos esta variable cuantitativa discreta en una variable cualitativa dicotómica con el punto de corte en los 40. De esta forma se consideraron

dos categorías: “pacientes menores de 40 años” o psoriasis tipo I, y “pacientes con edad mayor o igual de 40 años” o psoriasis tipo II. La distribución de los pacientes con psoriasis según la edad del diagnóstico fue la siguiente:

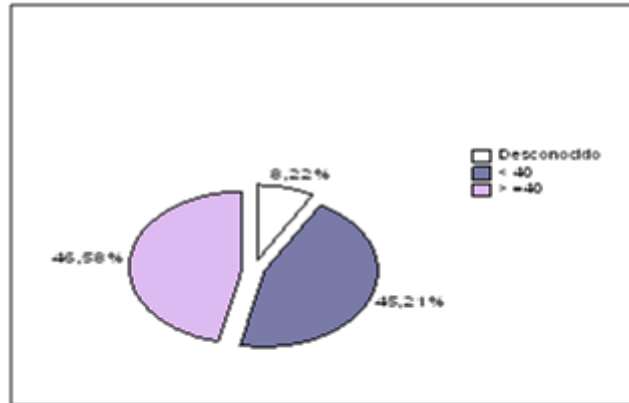


Figura 22.- Distribución de casos según la edad de inicio de la psoriasis.

1.1.2.Sexo

La distribución de los pacientes según el sexo queda reflejada en la siguiente tabla, dónde se muestra la distribución del sexo en la muestra total así como diferenciando entre pacientes psoriásicos y no psoriásicos:

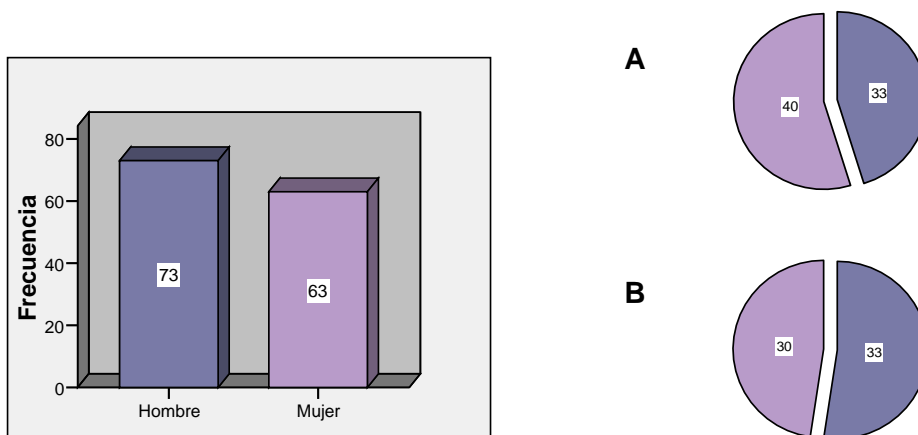


Tabla 9.- Distribución de los pacientes según el sexo. A.- Distribución de los pacientes con psoriasis según el sexo. B.- Distribución de los pacientes no psoriásicos según el sexo.

1.2. Variables clínicas

1.2.1. Diagnóstico

De los 136 pacientes incluidos en el estudio, 73 tenían un diagnóstico histopatológico de psoriasis (CASOS) y 63 presentaban un diagnóstico histopatológico distinto al de psoriasis (CONTROLES).

a. Psoriasis (CASOS)

De los 73 pacientes estudiados con psoriasis, 32 (44%), presentaba un psoriasis en placas, 15 (20,8%), psoriasis hiperqueratósico palmoplantar, 8 (11,1%), psoriasis pustuloso, 5 (6,9%) psoriasis invertido y 4 (5,6%) eritrodermia psoriásica.

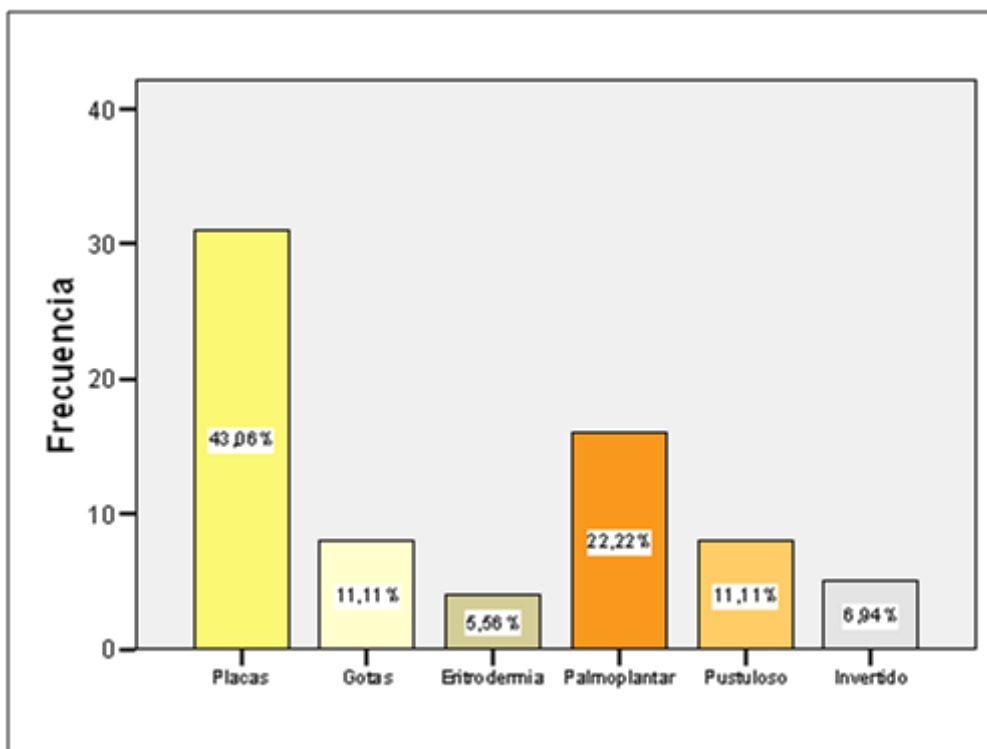


Figura 23.- Porcentajes de frecuencias en los distintos tipos de psoriasis en el grupo de casos.

b.No psoriasis (CONTROLES)

De los 63 pacientes con diagnóstico histopatológico distinto a psoriasis, 26 (41,3%) presentaban eccema, 16 (25,4%) lupus eritematoso, 11 (17,5%) pitiriasis liquenoide y 10 (15,9%) pitiriasis rosada.

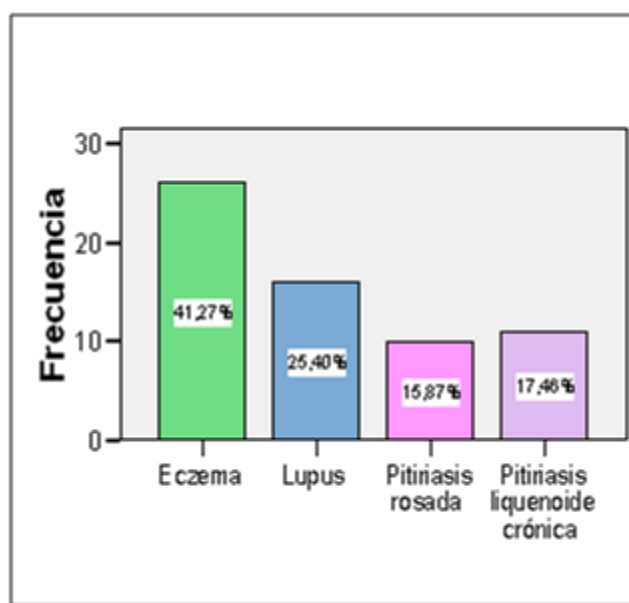


Figura 24.- Porcentajes de frecuencias de los diferentes diagnósticos en el grupo control.

1.2.2.Diagnóstico clínico de presunción

Como en ocasiones, el diagnóstico de presunción emitido por el clínico previo a la biopsia era múltiple, decidimos valorar únicamente el primer diagnóstico, suponiéndolo como la sospecha clínica más fuerte.

La sospecha diagnóstica realizada por el clínico y reflejada en el informe de la biopsia resultó ser en 56 (41,5%) pacientes de psoriasis, seguida del diagnóstico de eccema en 25 (18,5%), otros en 20 (14,8%), lupus eritematoso en 15 (11,1%), pitiriasis liquenoide crónica en 10 (7,4%) y pitiriasis rosada en 9 (6,7%). Entre los diagnósticos incluidos en otros figuraban liquen ruber plano, intertrigo candidiásico, verruga vulgar, micosis fungoide, escabiosis, queratoma, eritrodermia paraneoplásica, eritema anular

centrífugo, dermatitis seborreica, enfermedad de Paget, liquen escleroso, mucinosis, urticaria pigmentosa y carcinoma espinocelular.

a. Concordancia entre diagnósticos

En la siguiente tabla se muestra en porcentaje la concordancia entre el diagnóstico histopatológico conocido al seleccionar las muestras para realizar el tissue microarray y el diagnóstico clínico de presunción investigado revisando las historias así como los informes de biopsias.

	Dº CLÍNICO	DºHISTOPAT.	CONCORDANCIA
PSORIASIS	52	73	71,2%
ECCEMA	18	26	72%
LUPUS	15	16	93,8%
P.LIQUENOIDE	6	11	54,5%
P.ROSADA	7	10	70%

Tabla 10.- Porcentaje de concordancia entre diagnóstico clínico e histopatológico.

1.2.3.Localización de la biopsia

La localización de la biopsia predominante fue en extremidades tanto en la muestra completa con 62 (47%) como separando casos (psoriasis) con 29 (40,8%) y controles (no psoriasis) con 33 (54,1 %). En 22 (30,1%) de los casos (psoriasis) se realizó una biopsia palmoplantar (segunda localización más frecuente) seguida de 17 (23,9%) en tronco y 3 (4,2%) en cuero cabelludo. Ninguna biopsia de los pacientes afectados con psoriasis se realizó en la cara. En los controles (no psoriasis) la segunda

localización más frecuente después de las extremidades fue el tronco con 12 (19,7%) de biopsias seguida muy de cerca por la localización en la cara con 11 (18%) biopsias. Únicamente 2 (3,3%) pacientes fueron biopsiados en palmas o plantas. En la siguiente tabla queda reflejada la distribución de la localización de las biopsias en la muestra general, en los casos (psoriasis) y en los controles (no psoriasis). (Tabla 11).

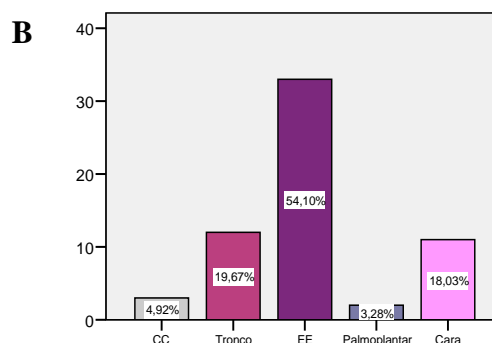
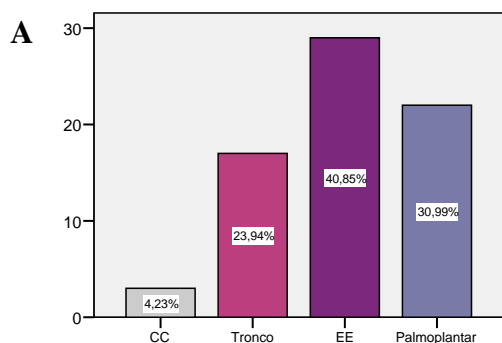
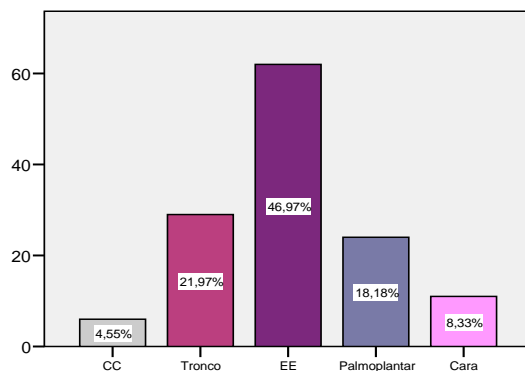


Tabla 11.- Distribución en porcentajes de la localización de la biopsia. CC: cuero cabelludo. EE: extremidades. A.- Localización de las biopsias en los casos (psoriasis). B.- Localización de las biopsias en los controles (no psoriasis).

a. Piel fotoexpuesta

Teniendo en cuenta la muestra total de pacientes, en 37 (27,2%) de ellos la biopsia se había realizado en una zona corporal fotoexpuesta, entendiéndose por ello las siguientes localizaciones: cara, cuello, escote, antebrazo y dorso de manos. En caso de los pacientes con psoriasis únicamente 3 (4,1%) biopsias se realizaron en áreas

fotoexpuestas, mientras que en los controles (no psoriasis) el número aumenta a 34 (42,9 %). (Tabla 12).

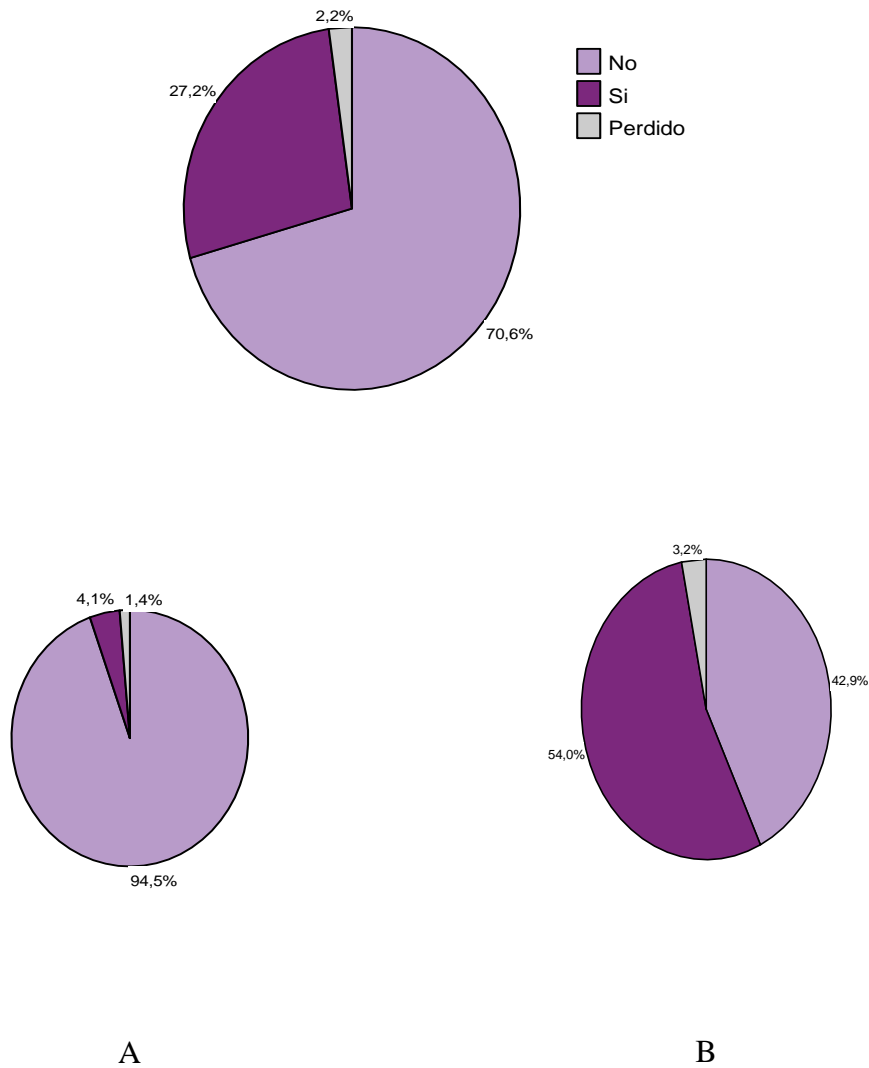


Tabla 12.- Porcentaje de las biopsias realizadas en áreas fotoexpuestas. A.- Porcentaje de biopsias en áreas fotoexpuestas en los casos (psoriasis). B.- Porcentaje de biopsias en áreas fotoexpuestas en los controles (no psoriasis).

1.2.4. Tiempo de evolución de las lesiones

Para esta variable tuvimos en cuenta el tiempo de evolución de la lesión biopsiada que quedaba reflejado en el informe del clínico al realizar la prueba. Como

“días” se contabilizó hasta 7 días de evolución, “semanas” hasta 4 semanas de evolución, “meses” hasta 12 meses de evolución y “años” más de 12 meses.

Tanto en la muestra total de los pacientes como separando por casos (psoriasis) y controles (no psoriasis), la mayoría de las lesiones fueron biopsiadas cuando llevaban más de 4 semanas de evolución y menos de 12 meses. En los pacientes con psoriasis se biopsiaron lesiones con mayor tiempo de evolución; 46 (63,9%) eran lesiones que al menos tenían un mes de evolución, mientras que en los controles (no psoriasis) 47 (75,8%) eran lesiones de más de una semana y hasta 12 meses de evolución. El porcentaje de lesiones biopsiadas con días de evolución era muy similar tanto en casos (psoriasis) como en controles (no psoriasis). En los casos (psoriasis) como era de esperar, el 75% de las lesiones biopsiadas con días de evolución correspondían a psoriasis en gotas, subtipo de psoriasis con evolución más aguda.

La distribución del tiempo de evolución de las lesiones tanto en la muestra total y en los casos (psoriasis) y controles (no psoriasis) queda reflejada en la tabla 13.

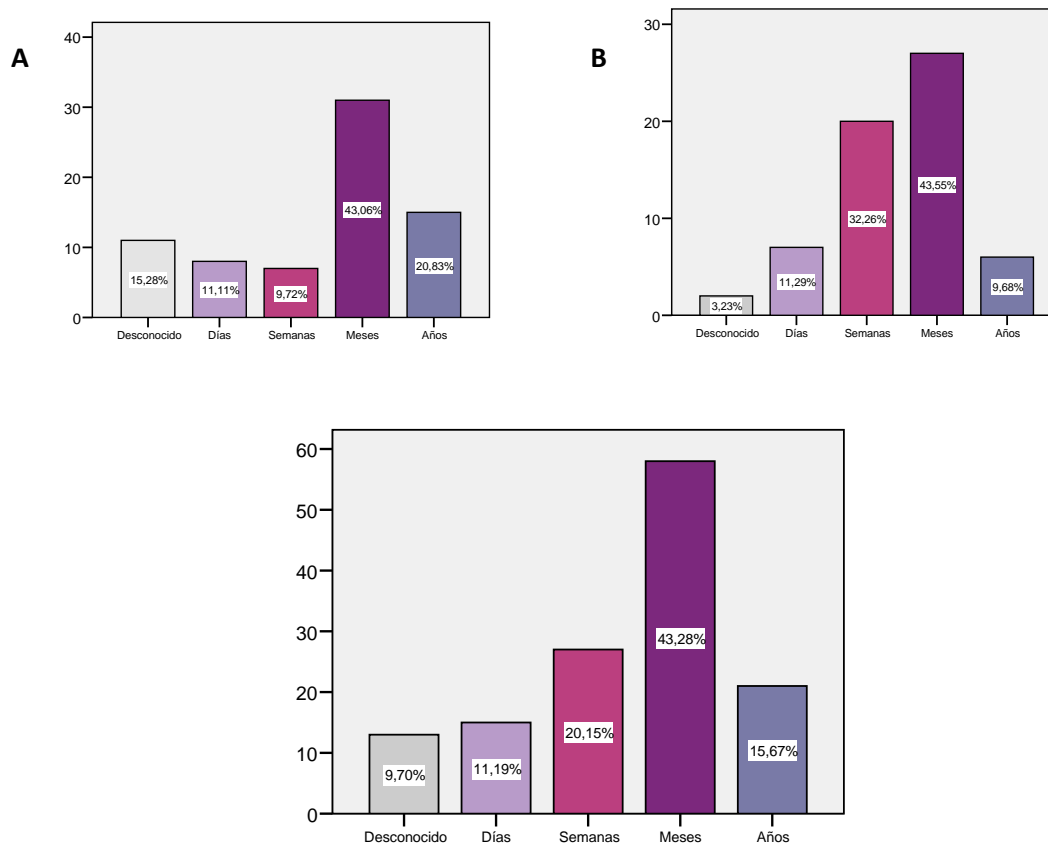


Tabla 13.- Distribución del tiempo de evolución de las lesiones biopsiadas en la muestra. A.- Distribución del tiempo de evolución en los casos (psoriasis). B.- Distribución del tiempo de evolución de los controles (no psoriasis).

1.2.5. Clínica lesión biopsiada

Considerando las características clínicas como variables cualitativas dicotómicas, encontramos que de 136 casos, 99 (73,3%) presentaban eritema, 70 (51,9%) descamación, 44 (32,6%) prurito, 22 (16,3%) induración y 8 (5,9%) pústulas.

En la tabla 14 se muestran las frecuencias y porcentajes de las combinaciones de 2 características clínicas.

	ERITEMA	DESCAMACIÓN	PRURITO	INDURACIÓN	PÚSTULAS
ERITEMA n=99		47,5%	35,4%	16,2%	4%
DESCAMACIÓN n=70	67,1%		24,3%	10%	2,9%
PRURITO n=44	79,5%	38,6%		18,2%	2,3%
INDURACIÓN n=22	72,7%	31,8%	36,4%		0
PÚSTULAS n=8	50%	25%	12,5%	0	

Tabla 14.- Frecuencias y porcentajes de las combinaciones de dos características clínicas.

1.2.6. Comorbilidades

Mediante la revisión de historias clínicas o mediante localización telefónica del paciente se pudieron recoger estos datos en 57 de los 73 casos de psoriasis. De los 57 casos, 2 (3,5%) presentaban antecedentes dermatológicos, 5 (8,8%) antecedentes de enfermedades autoinmunes, 7 (12,3%) diabetes mellitus, 11 (19,3%) hipertensión arterial, 2 (3,5%) enfermedad cardiovascular, 3 (5,3%) obesidad, 11 (19,3%) eran fumadores, 2 (3,5%) consumían alcohol diariamente, 2 (3,5%) antecedentes de atopia, 10 (17,5%) hipercolesterolemia, 10 (17,5%) otros antecedentes no especificados y 13 (43%) no presentaban antecedentes.

1.2.7. Antecedentes familiares

Aquellos pacientes dónde en la historia clínica no quedaban reflejados los antecedentes familiares, se intentaron localizar telefónicamente. De los 73 pacientes con psoriasis, el 47,9% no se llegó a saber si tenían antecedentes de psoriasis en la familia. De los 38 pacientes con antecedentes familiares conocidos, 20 (52.6%) no tenían antecedentes familiares, 9 (23.7%) tenían antecedentes de primer grado, 7 (18.4%) antecedentes de segundo grado y el 5.3% (2) antecedentes lejanos.

1.3. Variables histológicas

1.3.1. Hiperplasia epidérmica psoriasiforme

De los 133 casos favorables, 56 (42,1%) presentaban hiperplasia epidérmica psoriasiforme (Fig. 25). La distribución de la hiperplasia epidérmica psoriasiforme en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 15.

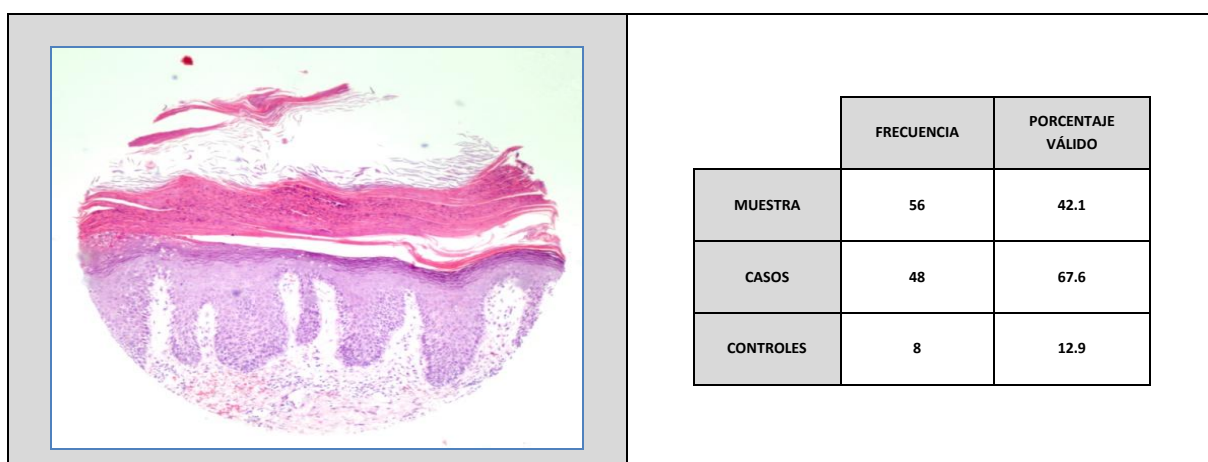


Figura 25.- Microfotografía ejemplo de hiperplasia epidérmica psoriasiforme.

Tabla 15.- Distribución de preparaciones con hiperplasia epidérmica psoriasiforme.

1.3.2.Hipogranulosis

133 casos fueron valorables para esta variable, de los cuales 67 (50,4%) presentaban hipogranulosis (Fig. 26). La distribución de la hipogranulosis en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 16.

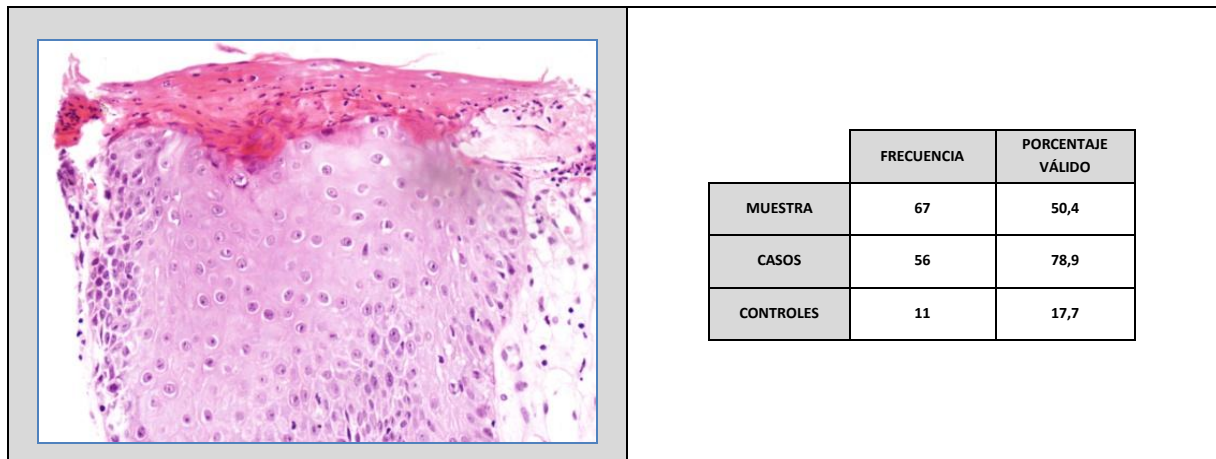


Figura 26.- Microfotografía ejemplo de hipogranulosis.

Tabla 16.- Distribución de preparaciones con hipogranulosis.

1.3.3.Paraqueratosis

De las 133 preparaciones estudiadas, 87 (65,4%) presentaban paraqueratosis (Fig. 27). La distribución de la paraqueratosis en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 17.

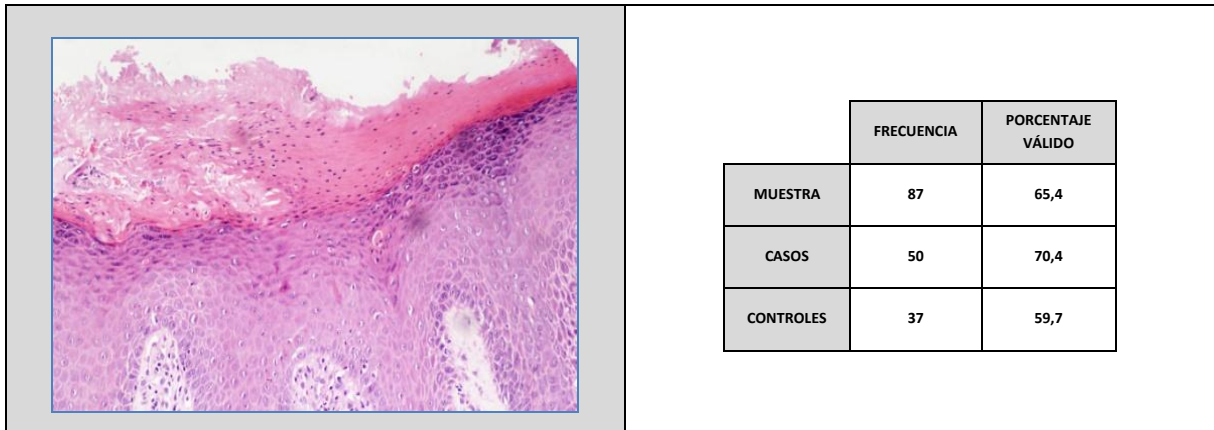


Figura 27.- Microfotografía ejemplo de paraqueratosis.

Tabla 17.- Distribución de preparaciones con paraqueratosis.

1.3.4.Exocitosis de neutrófilos

De los 132 casos valorables, 39 (29,5%) presentaban exocitosis de neutrófilos (Fig. 28). La distribución de la exocitosis de neutrófilos en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 18.

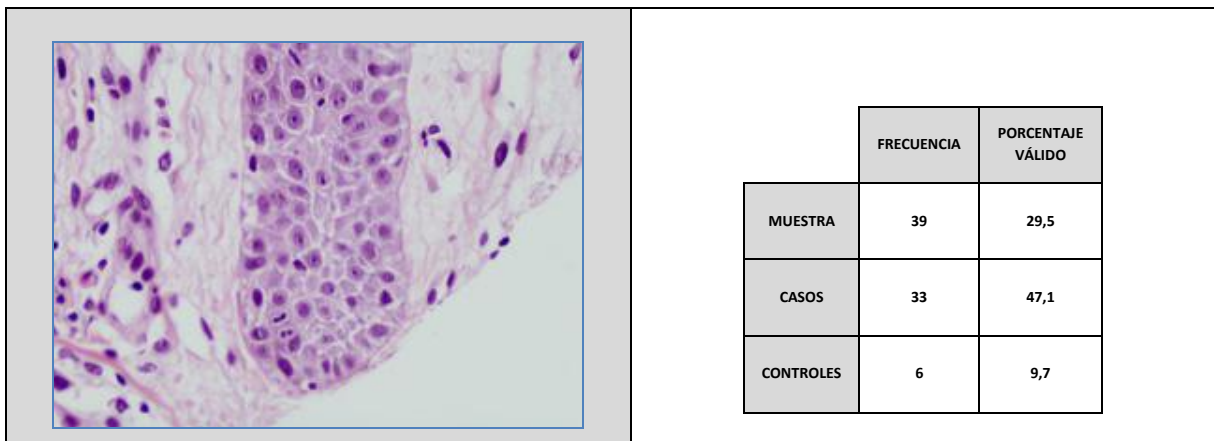


Figura 28.- Microfotografía ejemplo de exocitosis de neutrófilos.

Tabla 18.- Distribución de preparaciones con exocitosis de neutrófilos.

1.3.5. Neutrófilos en capa córnea

De los 133 casos estudiados, 50 (37,6%) presentaban neutrófilos en capa córnea (Fig. 29). La distribución de los neutrófilos en capa córnea en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 19.

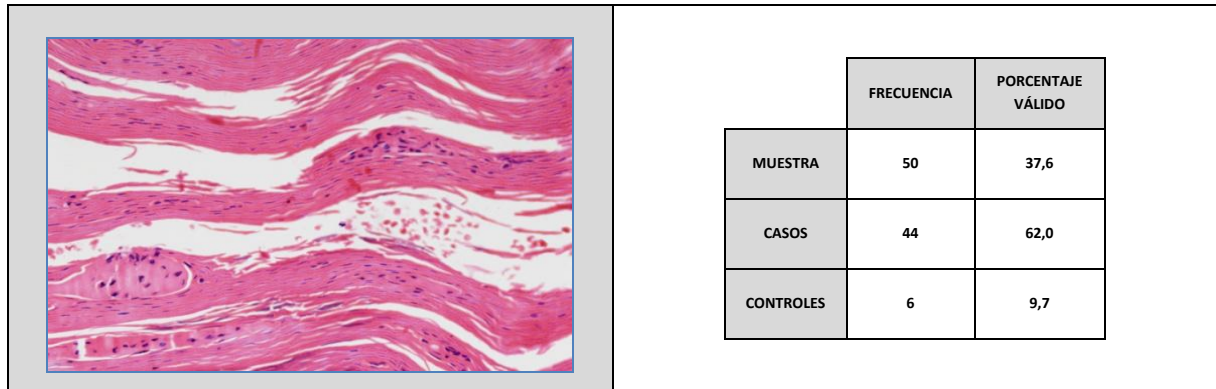


Figura 29.- Microfotografía ejemplo de neutrófilos en capa córnea.

Tabla 19.- Distribución de preparaciones con neutrófilos en capa córnea.

1.3.6. Mitosis suprabasales

Consideramos positivo para esta variable la presencia de al menos una mitosis por campo en epidermis (Fig. 30). De los 133 casos valorables, 33 (24,8%) presentaban mitosis, todos ellos correspondientes al grupo de casos (psoriasis). La distribución de las mitosis suprabasales en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 20.

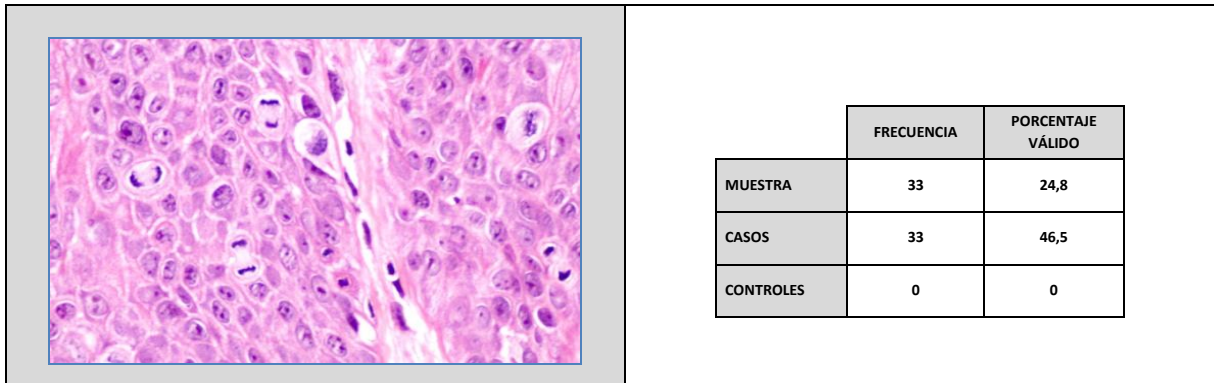


Figura 30.- Microfotografía ejemplo de mitosis suprabasales.

Tabla 20.- Distribución de preparaciones, mitosis suprabasales.

1.3.7. Edema en dermis papilar

De los 133 casos valorables, 66 (49,6%) presentaban edema en dermis papilar (Fig. 31). La distribución del edema en dermis papilar en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 21.

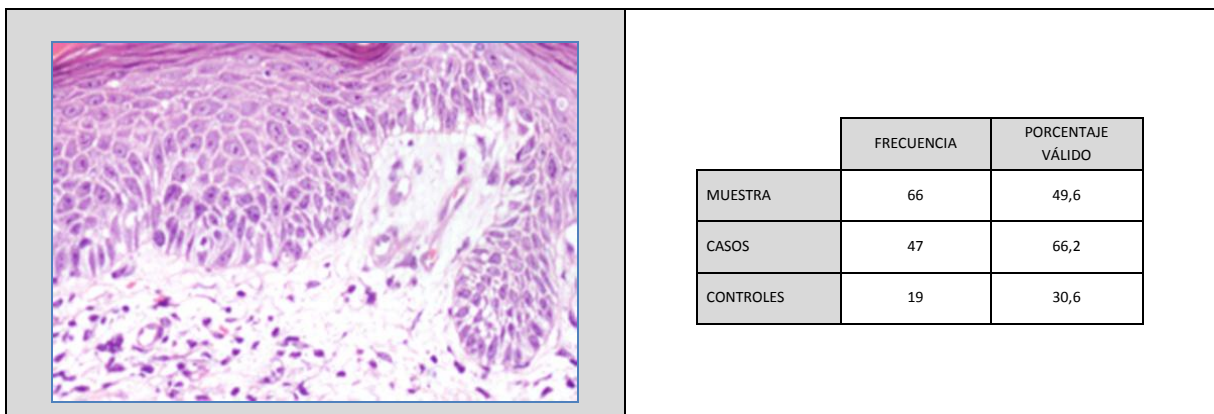


Figura 31.- Microfotografía ejemplo de edema en dermis papilar.

Tabla 21.- Distribución de preparaciones de edema en dermis papilar.

1.3.8. Capilares dilatados y congestivos en papilas dérmicas

129 casos fueron valorables para esta variable, de los cuales 97 (75,2%) presentaban capilares dilatados y congestivos en dermis papilar (Fig. 32). La distribución de los capilares dilatados y congestivos en papilas dérmicas en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 22.

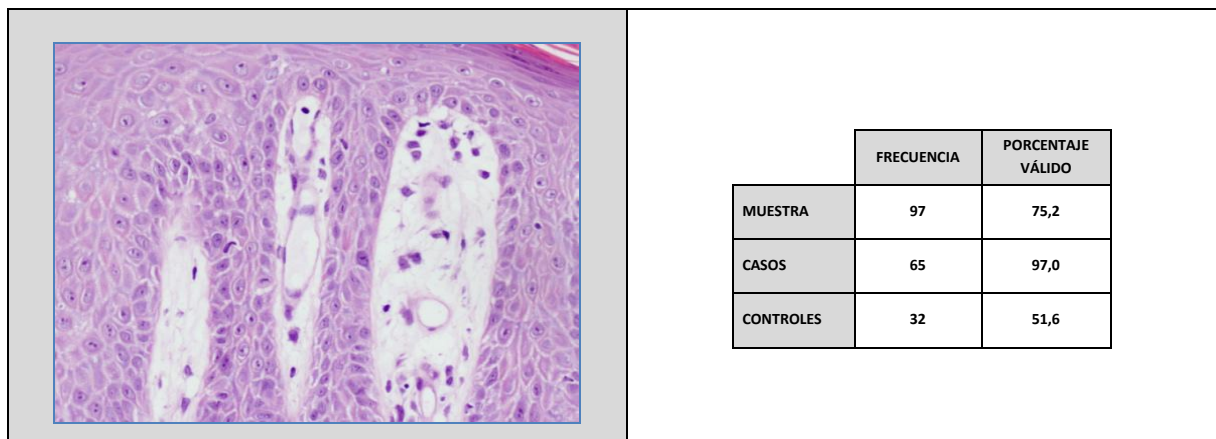


Figura 32.- Microfotografía ejemplo de capilares dilatados en papilas dérmicas.

Tabla 22.- Distribución de preparaciones de capilares dilatados en papilas dérmicas.

1.3.9. Infiltrado inflamatorio dérmico

De los 133 casos valorables, 128 (96,2%), mostraron infiltrado inflamatorio dérmico (Fig. 33). La distribución del infiltrado inflamatorio dérmico en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 23.

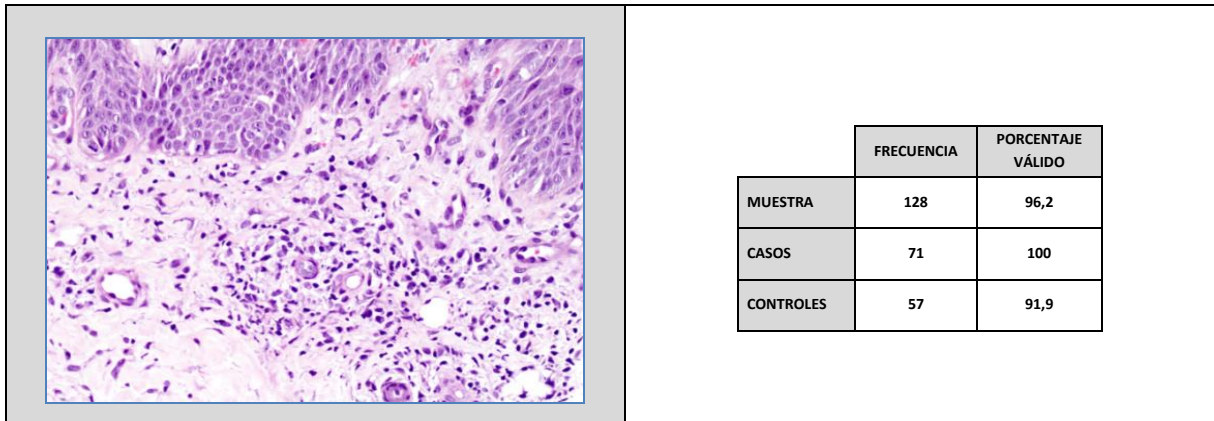


Figura 33.- Microfotografía ejemplo de infiltrado inflamatorio dérmico.

Tabla 23.- Distribución de preparaciones con infiltrado inflamatorio dérmico.

1.3.10. Espongiosis

De los 131 casos valorables para esta variable, 68 (51,9%) presentaban espongiosis (Fig. 34). La distribución de la Espongiosis en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 24.

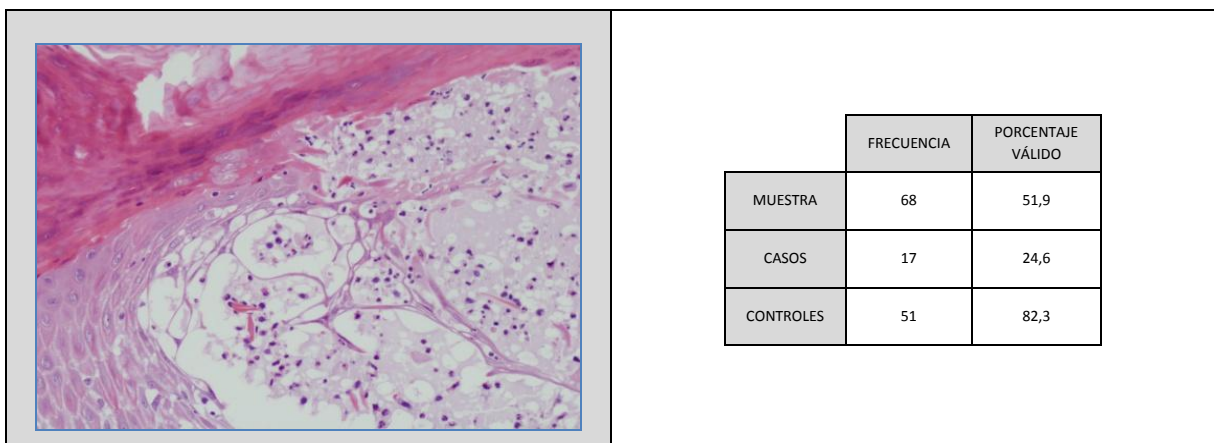


Figura 34.- Microfotografía ejemplo de espongiosis.

Tabla 24.- Distribución de preparaciones con espongiosis.

1.3.11. Atrofia suprapapilar

Consideramos que de los 132 casos valorables, 42 (31,8%) presentaban atrofia suprapapilar (Fig. 35). La distribución de la atrofia suprapapilar en los dos grupos se encuentra reflejada en la tabla 25.

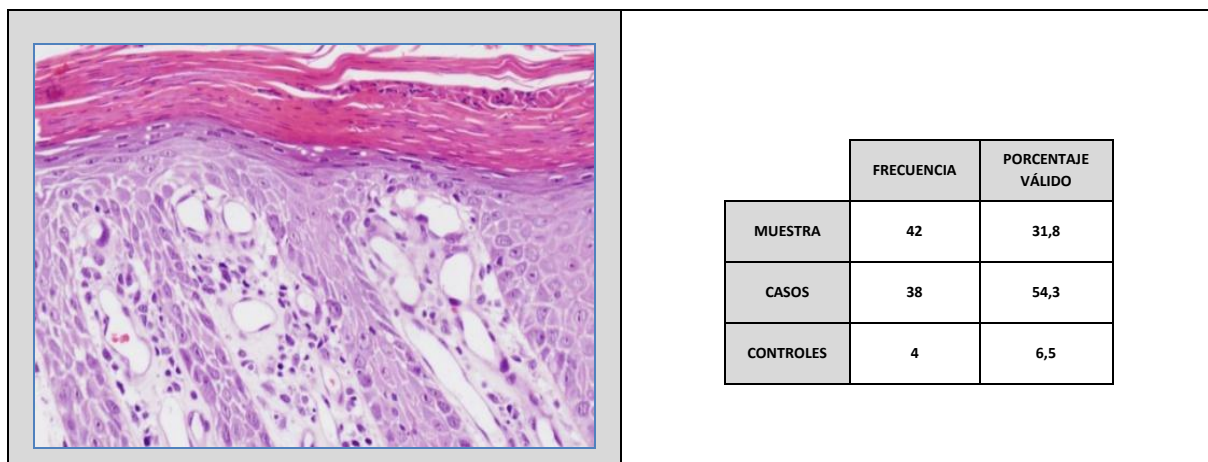


Figura 35.- Microfotografía ejemplo de atrofia suprapapilar.

Tabla 25.- Distribución de preparaciones con atrofia suprapapilar.

1.3.12. Grosor epidérmico

Para esta variable se empleó el programa informático CELL, que permite realizar mediciones sobre iconografías previas. El grosor epidérmico se halló como la media de 3 mediciones en cada muestra, desde crestas interpapilares a capa córnea. En la figura 36 se muestran ejemplos de estas mediciones. En 129 casos se pudo estudiar el grosor epidérmico, que osciló entre 31 y 289 micrómetros (μm), con una mediana de 80. El resto de variables descriptivas quedan reflejadas en la tabla 26 A.

1.3.13. Área epidérmica en 0,5 mm.

Mediante el programa informático CELL, se realizó la medición del área epidérmica en 0.5 mm. de epidermis. En la figura 36 se muestran ejemplos de estas mediciones. En 129 casos se pudo estudiar el área epidérmica, que osciló 14.556 y 246.330 μm^2 . El resto de variables descriptivas quedan reflejadas en la tabla 26 B.

1.3.14. Perímetro epidérmico en 0,5 mm.

Mediante el programa informático CELL, se realizó la medición del perímetro epidérmico en 0.5 mm. de epidermis. En la figura 36 se muestran ejemplo de estas mediciones. Se pudo estudiar el perímetro epidérmico en 129 casos, oscilando entre 1207 y 4103 μ . El resto de variables descriptivas quedan reflejadas en la tabla 26 C.

CASOS	VÁLIDOS	PERDIDOS
	129	7
MEDIA	89,48	
MEDIANA	79,95	
MODA	135,32	
DESVIACIÓN TÍPICA	43,48	
VARIANZA	1890,10	
MÍNIMO	30,92	
MÁXIMO	288,52	
PERCENTILES	25	58,91
	50	79,95
	75	110,54

A

CASOS	VÁLIDOS	PERDIDOS
	129	7
MEDIA	99428,25	
MEDIANA	91619,50	
MODA	132683	
DESVIACIÓN TÍPICA	51221,04	
VARIANZA	3E+009	
MÍNIMO	14556	
MÁXIMO	246330	
PERCENTILES	25	57162,67
	50	91619,50
	75	136139,50

B

CASOS	VÁLIDOS	PERDIDOS
	129	7
MEDIA	2345,52	
MEDIANA	2093,53	
MODA	3456,66	
DESVIACIÓN TÍPICA	803,09	
VARIANZA	644948,79	
MÍNIMO	1207,08	
MÁXIMO	4102,72	
PERCENTILES	25	1686,34
	50	2093,53
	75	2971,57

C

Tabla 26.- A.- Grosor epidérmico. B.- Área epidérmica en 0,5 mm. C.- Perímetro epidérmico en 0,5 mm.

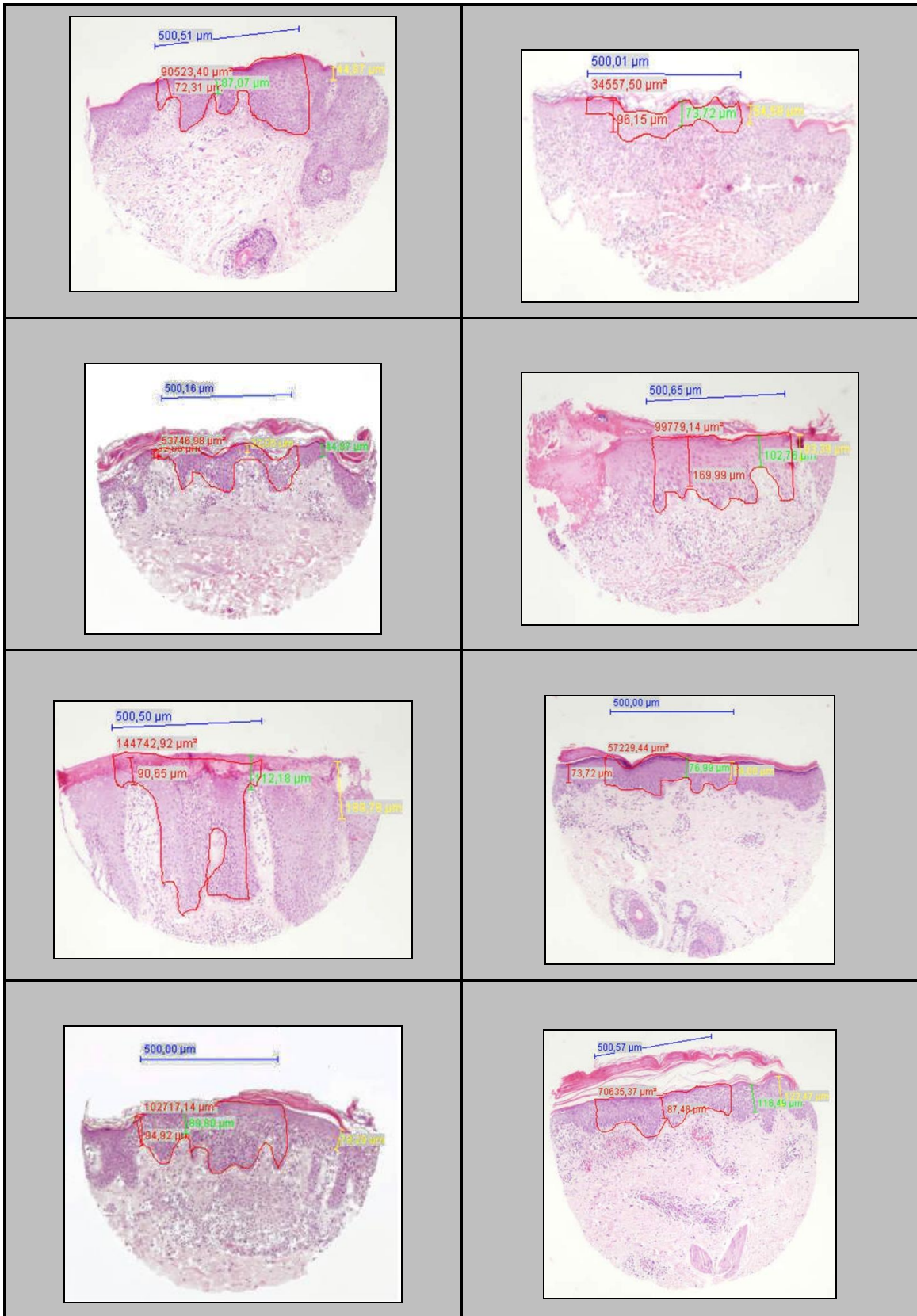


Figura 36.- Microfotografías ejemplo de mediciones mediante el programa CELL del grosor epidérmico, área epidérmica en 0.5 mm y perímetro epidérmico en 0.5 mm.

1.4. Variables histológicas

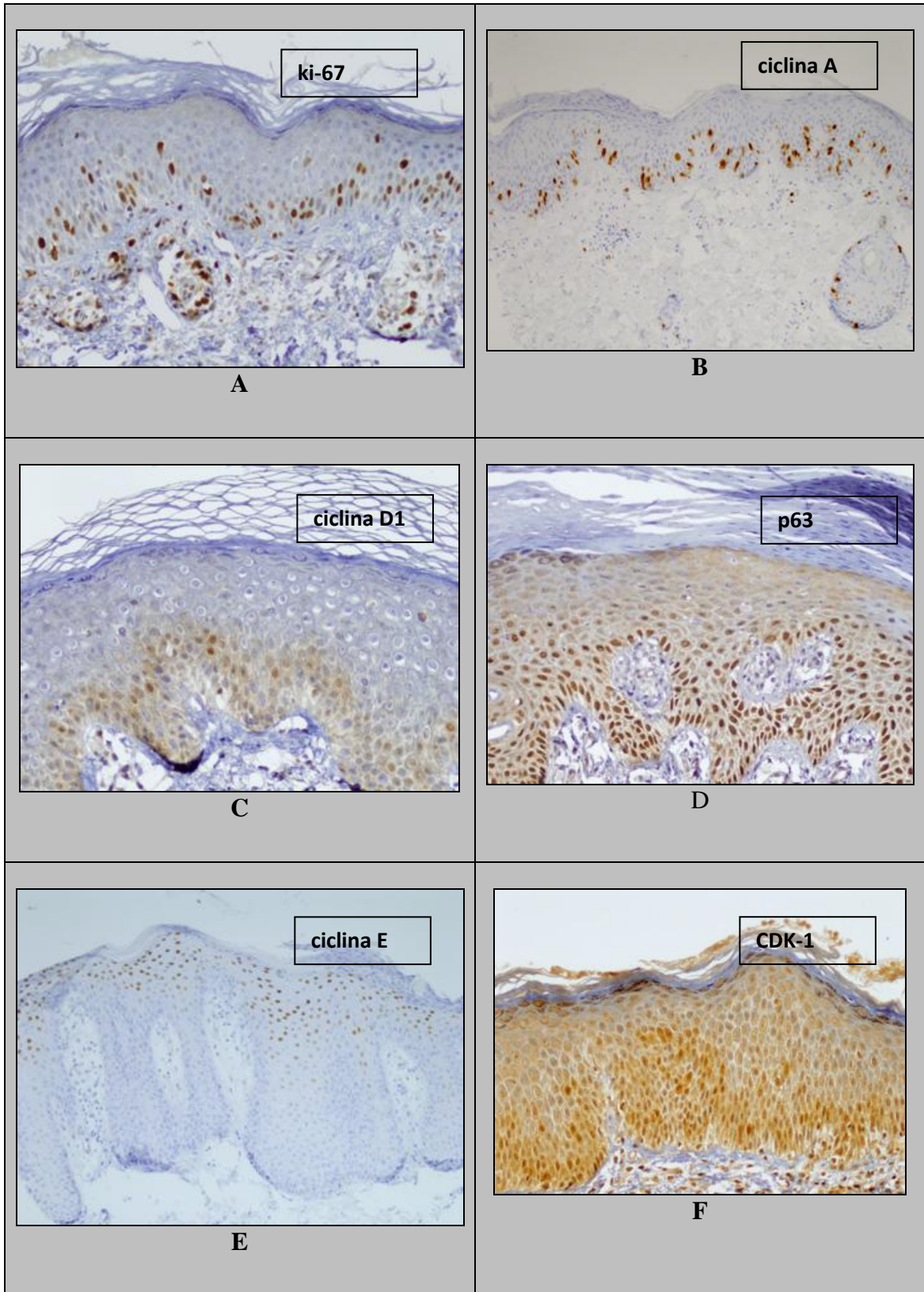
1.4.1. Valoración inmunohistoquímica de las proteínas estudiadas

En la tabla 27 se presentan los resultados obtenidos en toda la serie (136 pacientes) tras la valoración inmunohistoquímica de las diferentes proteínas estudiadas.

En la figura 37 se muestran microfotografías ejemplo de positividades. Observamos diferentes patrones de expresión inmunohistoquímica entre las proteínas estudiadas. Un patrón de expresión proteica en capas basales como ocurre con ki67, ciclina A, ciclina D1, p63, CDK1, p53 y bcl-2. Y un patrón donde las capas más altas epidérmicas son las que tienen más expresión inmunohistoquímica como sucede con ciclina E, CDK2, p21 y p27.

PROTEÍNA			FRECUENCIA	PORCENTAJE	PORCENTAJE VÁLIDO	PORCENTAJE ACUMULADO
ki-67	Válidos	NEG	65	47,8	50,0	50,0
		POS	65	47,8		
		Total	130	95,6		
	Perdidos	Sist.	6	4,4	100,0	
		Total	136	100,0		
CICLINA A	Válidos	NEG	63	46,3	49,6	49,6
		POS	64	47,1		
		Total	127	93,4		
	Perdidos	Sist.	9	6,6	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
CICLINA D1	Válidos	NEG	30	22,1	22,2	22,2
		POS	105	77,2		
		Total	135	99,3		
	Perdidos	Sist.	1	0,7	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
p63	Válidos	NEG	52	38,2	40,3	40,3
		POS	77	56,6		
		Total	129	94,9		
	Perdidos	Sist.	7	5,1	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
CICLINA E	Válidos	NEG	51	37,5	38,6	38,6
		POS	81	59,6		
		Total	132	97,1		
	Perdidos	Sist.	4	2,9	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
CDK 1	Válidos	NEG	86	63,2	69,4	69,4
		POS	38	27,9		
		Total	124	91,2		
	Perdidos	Sist.	12	8,8	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
CDK2	Válidos	NEG	88	64,7	65,7	65,7
		POS	46	33,8		
		Total	134	98,5		
	Perdidos	Sist.	2	1,5	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
p21	Válidos	NEG	113	83,1	85,6	85,6
		POS	19	14,0		
		Total	132	97,1		
	Perdidos	Sist.	4	2,9	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
p27	Válidos	NEG	16	11,8	11,8	11,8
		POS	120	88,2		
		Total	136	100,0		
	Perdidos	Sist.	0		100,0	100,0
		Total	136			
p53	Válidos	NEG	59	43,4	46,1	46,1
		POS	69	50,7		
		Total	128	94,1		
	Perdidos	Sist.	8	5,9	100,0	100,0
		Total	136	100,0		
bcl-2	Válidos	NEG	47	34,6	37,0	37,0
		POS	80	58,8		
		Total	127	93,4		
	Perdidos	Sist.	9	6,6	100,0	100,0
		Total	136	100,0		

Tabla 27.- Resultados obtenidos tras la valoración inmunohistoquímica de las proteínas estudiadas.



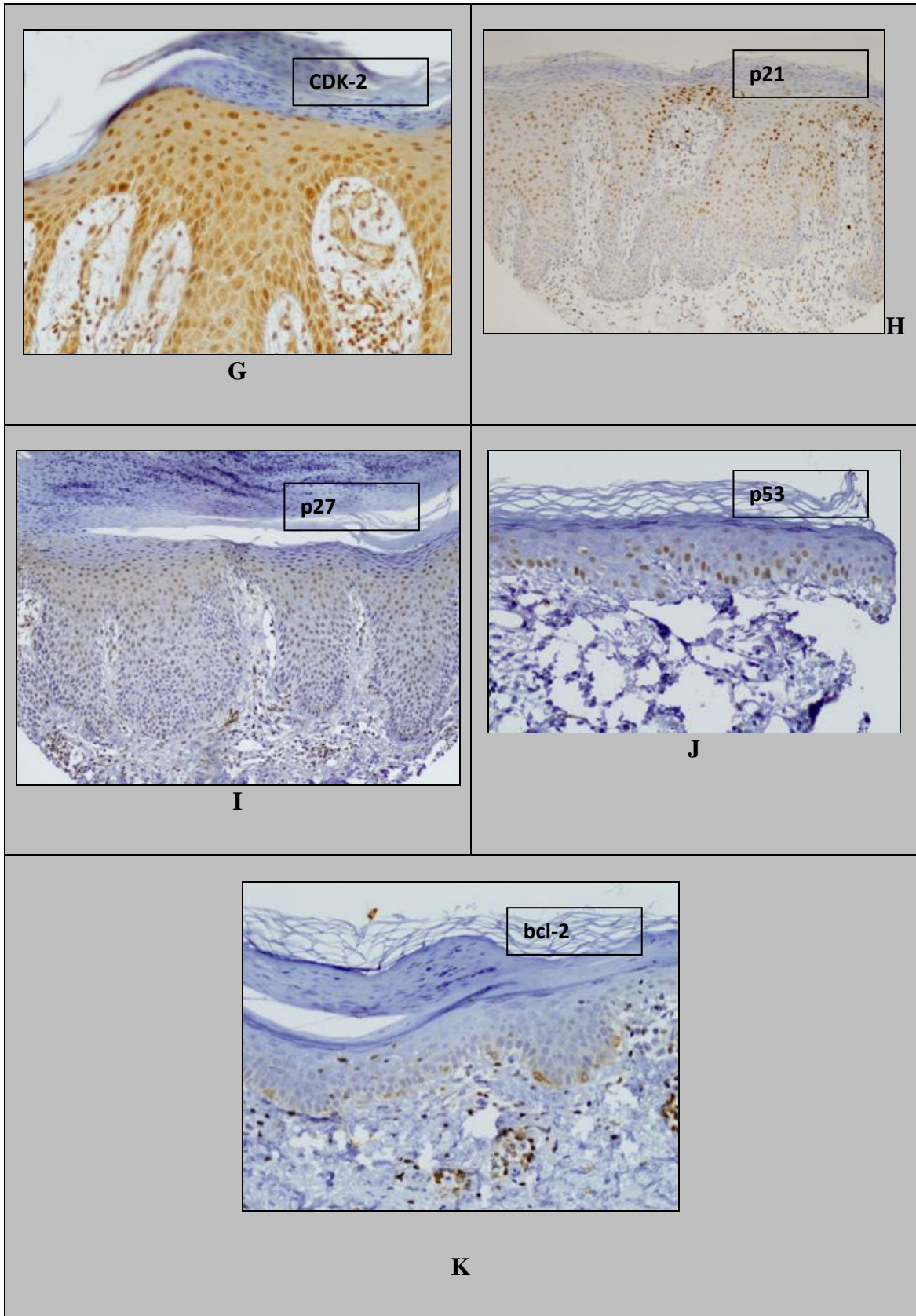


Figura 37.- Ejemplo de las positividades de expresión de las proteínas. A.- ki-67, B.- ciclina A, C.- ciclina D1, D.- p63, E.- ciclina E, F.- CDK-1, G.- CDK-2, H.- p21, I.- p27, J.- p53, K.- bcl-2.

1.4.2.Frecuencias de las variables biológicas desglosando por diagnóstico

A continuación se desglosan las frecuencias de positividad de las proteínas según el diagnóstico.

Destacar que todas las biopsias con diagnóstico de psoriasis en gotas mostraron positividad en 3 proteínas: ciclina E, p27 y bcl-2. La proteína p27 fue positiva en todas las muestras de psoriasis en gotas, psoriasis eritrodérmica, psoriasis palmoplantar y psoriasis pustulosa. La proteína bcl-2 fue positiva en todas las biopsias de psoriasis en gotas y psoriasis eritrodérmica. La proteína p53 resultó positiva en todas las biopsias de lupus eritematoso. La ciclina A fue positiva en todos los casos de psoriasis invertida. La proteína p21 fue negativa en todos los casos de psoriasis en gotas, psoriasis eritrodérmica y psoriasis pustulosa. La proteína p63 resultó negativa en todos los casos de pitiriasis rosada. La proteína CDK2 fue negativa en todos los casos de lupus eritematoso. La ciclina E fue negativa en todos los casos de pitiriasis liquenoide crónica.

DIAGNÓSTICO	ciclina A	ciclina D	ciclina E	CDK1	CDK2	p21	p27	p53	p63	bcl2	ki67	Total
Psoriasis en placas	23 (79,3%)	23 (74,2%)	29 (96,7%)	16 (55,2%)	22 (71%)	2 (6,7%)	30 (96,8%)	15 (50%)	25 (86,2%)	25 (83,3%)	2(76,7%)	31
Psoriasis en gotas	6 (75%)	5 (62,5%)	8 (100%)	2 (25%)	4 (50%)	0 (0%)	8 (100%)	1 (12,5%)	5 (62,5%)	8 (100%)	5(62,5%)	8
Psoriasis eritrodérmica	2 (50%)	3 (75%)	3 (75%)	1 (25%)	3 (75%)	0 (0%)	4 (100%)	3 (75%)	4 (100%)	4 (100%)	4 (100%)	4
Psoriasis palmoplantar	4 (30,7%)	10 (66,7%)	10 (66,7%)	4 (30%)	1 (7,1%)	1 (6,7%)	16 (100%)	3 (23,1%)	14 (93,3%)	2 (16,6%)	6(42,9%)	16
Psoriasis pustulosa	3 (42,9%)	4 (50%)	5 (62,5%)	2 (28,6%)	3 (37,5%)	0 (0%)	8 (100%)	3 (42,9%)	6 (85,7%)	1 (14,3%)	6 (85,7%)	8
Psoriasis invertida	5 (100%)	4 (80%)	5 (100%)	1 (20%)	4 (80%)	1 (20%)	4 (80%)	2 (40%)	4 (80%)	4 (80%)	2 (50%)	5
Eczema	14 (56%)	23 (88,5%)	13 (52%)	8 (34,8%)	7 (26,9%)	2 (7,7%)	23 (88,5%)	18 (72%)	10 (40%)	13 (52%)	8(30,8%)	26
Lupus	3 (18,7%)	15 (93,7%)	5 (31,25%)	1 (6,2%)	0 (0%)	10 (62,5%)	10 (62,5%)	16 (100%)	5 (31,2%)	11 (68,7%)	5(33,3%)	16
Pitiriasis rosada	2 (22,2%)	7 (70%)	3 (30%)	1 (10%)	1 (10%)	2 (20%)	9 (90%)	2 (20%)	0 (0%)	5 (50%)	2 (20%)	10
Pitiriasis liquenoide crónica	2 (20%)	10 (90,9%)	0 (0%)	2 (20%)	1 (9,1%)	1 (10%)	7 (63,6%)	6 (60%)	4 (40%)	7 (70%)	3(27,8%)	11
Total	64 (47,4%)	84 (62,2%)	81 (60%)	38 (28,1%)	46 (34,1%)	19 (14,1%)	119 (88,1%)	69 (51,1%)	77 (57%)	80 (59,3%)	65 (50%)	135

Tabla 28.- Frecuencia de las variables biológicas desglosadas por diagnóstico.

2. RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ESTUDIADAS

2.1. Relación entre las variables clínicas

A continuación se detallan las asociaciones estadísticamente significativas entre las distintas variables clínicas estudiadas (edad de los pacientes, sexo, diagnóstico, características clínicas, localización de la biopsia y el tiempo de evolución).

2.1.1. Relación entre el diagnóstico y las características clínicas

En nuestra serie, como podía ser previsible, encontramos que los pacientes con diagnóstico de psoriasis presentaban con mayor frecuencia descamación y pústulas, de una manera estadísticamente significativa ($p < 0.0001$ y $p = 0.006$ respectivamente). El porcentaje de descamación dentro de los enfermos de psoriasis fue de 66,7%, y el porcentaje de enfermos que presentan descamación, dentro de los que no son psoriasis fue de 34,9%. Destacar que la descamación es 3,7 veces más frecuente en pacientes con psoriasis que en los controles (no psoriasis). El prurito sin embargo estaba presente con mayor frecuencia en aquellos pacientes con un diagnóstico diferente al de psoriasis, de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$). El prurito se presenta con una incidencia de un 12,5 % en los psoriasis, y un 55,5% en los no psoriasis. (Tablas 29 y 30).

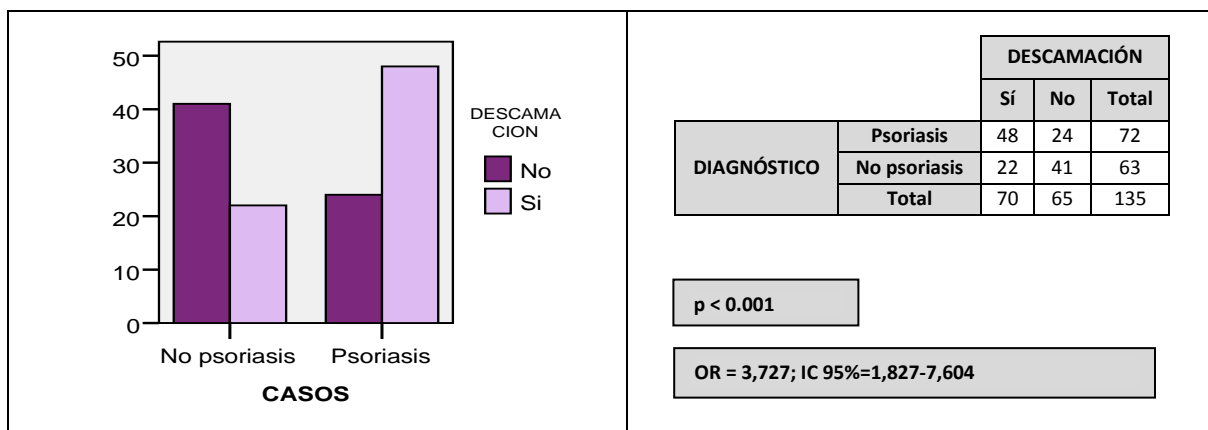


Tabla 29.- Distribución de casos con descamación.

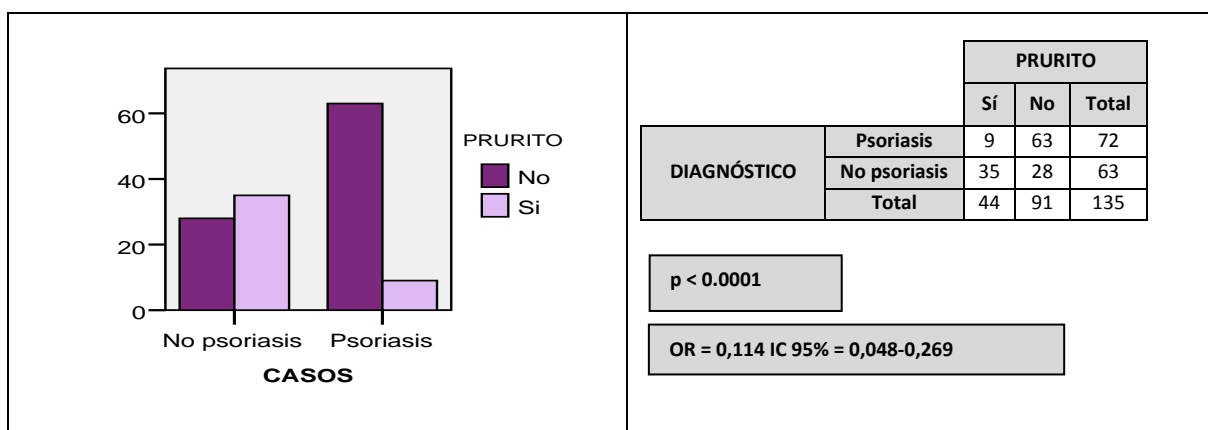


Tabla 30.- Distribución de casos con prurito.

2.1.2. Relación entre las características clínicas

En nuestra serie los pacientes con descamación en la lesión cutánea presentaban con menor frecuencia induración y prurito de una forma estadísticamente significativa ($p=0,040$ y $p=0,033$ respectivamente). Dentro de los enfermos que presentaban descamación en la lesión cutánea, un 10% presentaban a la vez induración. En los que no presentaban descamación, un 23% si presentaban induración. En el caso del prurito, había una incidencia del 24,3% en los pacientes con descamación, y de un 41% en los pacientes sin descamación. (Tablas 31 y 32).

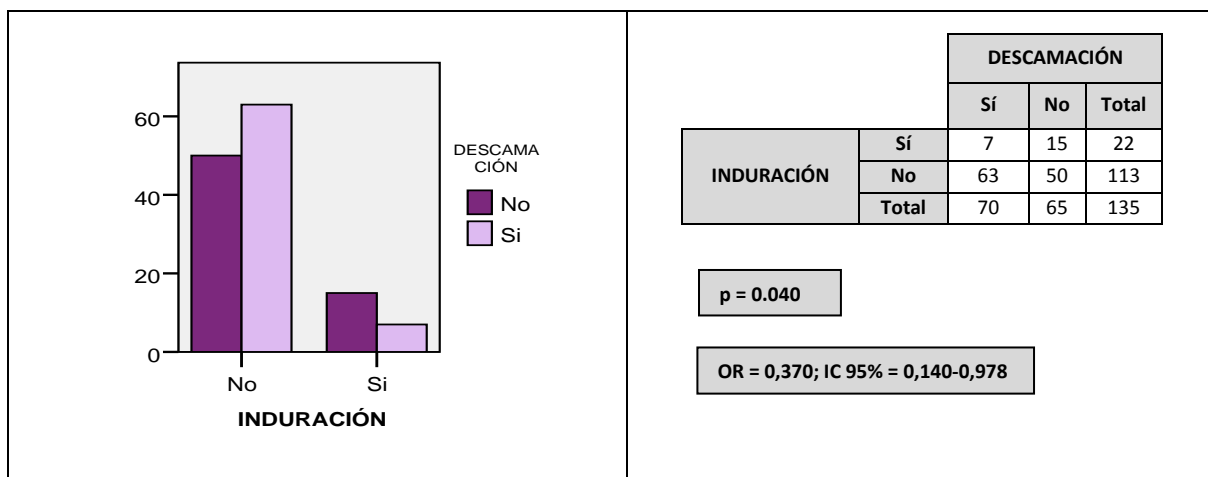


Tabla 31.- Pacientes con descamación en la lesión cutánea biopsiada frente a induración.

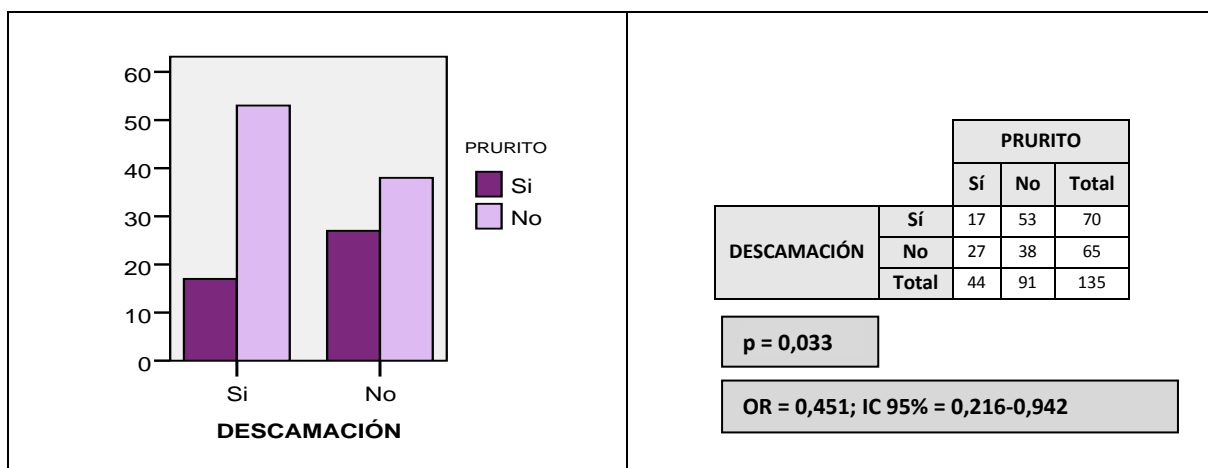


Tabla 32.- Pacientes con descamación en la lesión cutánea biopsiada frente a prurito.

2.2. Relación entre las variables histológicas

En las tablas 33 y 34 se expresa la relación estadística entre las distintas variables histológicas estudiadas. El estudio estadístico empleando el test Chi cuadrado reveló un gran número de asociaciones significativas entre las variables histológicas. La mayor intensidad de asociación entre variables se evidenció entre la hiperplasia epidérmica psoriasiforme y la atrofia suprapapilar, los capilares dilatados, e hipogranulosis (OR: 11,3; 34,3 y 38,9 respectivamente). También mostraron una

intensidad de asociación fuerte la hipogranulosis y los capilares dilatados, la exocitosis de neutrófilos, mitosis suprabasales y la presencia de capilares dilatados (OR: 15,7; 13,0; 9,99 y 13,2).

2.3. Relación entre las variables inmunohistoquímicas

Respecto a la asociación estadística entre las proteínas reguladoras del ciclo celular se observa que la ciclina E es la proteína con mayor número de asociaciones estadísticamente significativas, seguida por CDK2 y Ki67. En cuanto a la fuerza de la asociación, las OR más elevadas se apreciaron entre CDK2 y Ciclina E, CDK2 y p27, y Ciclina E y Ciclina A (tablas 35 y 36).

	Esgongiosis		Atrofia suprapapilar		Infiltrado		Capilares		Edema		Mitosis		Neutrófilos capa córnea		Exocitosis de neutrófilos		Paraqueratosis		Hipogranulosis	
	χ^2	P	χ^2	p	χ^2	P	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	P	χ^2	p	χ^2	P	χ^2	p	χ^2	p
Hiperplasia epidérmica	8,634	0,003	34,518	<0.001	1,04	0,307	24,456	<0.001	12,863	<0.001	16,883	<0.001	29,374	<0.001	24,341	<0.001	11,966	0,001	64,081	<0.001
Hipogranulosis	9,991	0,002	23,606	<0.001	0,224	0,636	23,523	<0.001	11,442	0,001	17,357	<0.001	32,053	<0.001	30,607	<0.001	13,758	<0.001		
Paraqueratosis	0,332	0,570	6,774	0,009	0,489	0,485	6,234	0,013	1,063	0,303	5,221	0,022	21,407	<0.001	2,067	0,151				
Exocitosis de neutrófilos	5,444	0,020	1,664	0,197	0,227	0,633	4,438	0,035	20,259	<0.001	14,471	<0.001	20,702	<0.001						
Neutrófilos capa córnea	3,454	0,063	16,210	<0.001	0,685	0,408	13,454	<0.001	4,909	0,027	23,092	<0.001								
Mitosis	17,142	<0.001	26,557	<0.001	1,714	0,190	9,663	0,002	14,933	<0.001										
Edema	3,030	0,082	3,952	0,047	1,824	0,177	11,691	0,001												
Capilares	22,151	<0.001	6,503	0,011	0,644	0,422														
Infiltrado	4,741	0,029	0,335	0,563																
Atrofia suprapapilar	16,854	<0.001																		

Tabla 33.- Relación estadística entre las variables histopatológicas en toda la muestra (n=136). Valor de la χ^2 y nivel de significación (p).

	Esgongiosis		Atrofia suprapapilar		Infiltrado		Capilares		Edema		Mitosis		Neutrófilos capa cornea		Exocitosis de neutrófilos		Paraqueratosis		Hipogranulosis	
	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%
Hiperplasia epidérmica	0,343	0,167-0,707	11,333	4,701-27,323	3,014	0,328-27,722	34,370	4,510-261,906	3,694	1,784-7,652	5,667	2,365-13,577	8,100	3,653-17,961	7,473	3,196-17,476	4,039	1,784-9,146	38,888	13,328-113,466
Hipogranulosis	0,320	0,156-0,655	7,703	3,186-18,625	1,548	0,250-9,575	15,676	4,458-55,114	3,350	1,645-6,821	6,750	2,557-17,822	9,987	4,236-23,547	12,963	4,620-36,369	4,154	1,915-9,009		
Paraqueratosis	1,233	0,598-2,543	3,106	1,293-7,461	0,461	0,050-4,250	2,793	1,228-6,351	1,459	0,711-2,994	3,000	1,136-7,921	8,786	3,171-24,346	1,832	0,798-4,205				
Exocitosis de neutrófilos	0,400	0,183-0,872	1,681	0,761-3,713	1,708	0,185-15,788	2,961	1,045-8,394	6,724	2,777-16,283	4,837	2,071-11,295	6,087	2,693-13,759						
Neutrófilos en capa córnea	0,506	0,246-1,042	4,734	2,165-10,362	2,481	0,269-22,846	8,025	2,290-28,125	2,238	1,091-4,589	7,590	3,127-18,424								
Mitosis	0,159	0,063-0,403	8,800	3,600-21,510	1,053	1,006-1,101	13,221	1,722-101,493	5,571	2,208-14,058										
Edema	0,540	0,269-1,084	2,125	1,004-4,496	4,127	0,449-37,943	4,677	1,846-11,846												
Capilares	0,093	0,030-0,286	4,016	1,301-12,397	2,089	0,333-13,098														
Infiltrado	0,504	0,424-0,600	1,907	0,207-17,605																
Atrofia suprapapilar	0,187	0,081-0,432																		

Tabla 34.- Intensidad de asociación entre variables histopatológicas expresadas mediante OR.

	bcl-2		Ciclina D		Ciclina E		Ciclina A		CDK2		CDK1		p53		p27		p21		p63	
	χ^2	p	χ^2	P	χ^2	p	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	p	χ^2	p	χ^2	P	χ^2	p	χ^2	p
Ki67	0,329	0,566	0,145	0,703	19,281	<0,001	14,230	<0,001	11,872	0,001	1,688	0,194	0,019	0,890	4,561	0,033	1,354	0,245	5,607	0,018
p63	0,804	0,370	1,338	0,247	18,276	<0,001	0,719	0,396	13,634	<0,001	3,623	0,057	6,707	0,010	2,735	0,098	1,406	0,236		
p21	1,029	0,310	0,608	0,435	4,654	0,031	8,419	0,004	6,014	0,014	1,936	0,164	1,892	0,169	2,069	0,150				
p27	0,065	0,798	0,993	0,319	8,593	0,003	0,001	0,975	6,354	0,012	2,406	0,121	1,113	0,291						
p53	0,875	0,350	1,763	0,184	1,892	0,169	0,001	0,972	0,196	0,658	0,031	0,860								
CDK1	0,461	0,497	0,754	0,385	4,417	0,036	1,039	0,308	1,800	0,180										
CDK2	3,394	0,065	1,441	0,230	24,019	<0,001	12,717	<0,001												
Ciclina A	1,938	0,164	0,226	0,635	28,696	<0,001														
Ciclina E	4,676	0,031	2,346	0,126																
Ciclina D	0,986	0,321																		

Tabla 35.- Relación estadística entre la expresión de diferentes proteínas en toda la cohorte (n=136). Valor de la χ^2 y nivel de significación (p).

	bcl-2		Ciclina D		Ciclina E		Ciclina A		CDK2		CDK1		p53		p27		p21		p63	
	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%
Ki67	1,238	0,597-2,569	1,177	0,509-2,723	5,509	2,502-12,128	4,100	1,940-8,666	3,804	1,745-8,293	1,677	0,766-3,670	1,052	0,516-2,142	3,453	1,050-11,349	0,536	0,185-1,551	2,425	1,157-5,082
p63	0,712	0,339-1,497	0,597	0,247-1,439	5,123	2,364-11,101	1,364	0,665-2,794	4,652	1,990-10,875	2,240	0,967-5,193	0,382	0,183-0,798	2,477	0,824-7,442	0,556	0,209-1,480		
p21	0,603	0,226-1,612	1,674	0,453-6,185	0,335	0,120-0,934	0,172	0,047-0,633	0,179	0,039-0,814	0,406	0,110-1,495	2,051	0,726-5,788	0,404	0,114-1,435				
p27	1,154	0,383-3,476	0,464	0,099-2,168	5,294	1,584-17,690	1,018	0,335-3,091	9,247	1,181-72,407	3,205	0,686-14,971	0,546	0,176-1,700						
p53	1,412	0,685-2,911	1,744	0,764-3,981	0,602	0,291-1,244	0,987	0,487-2,004	0,848	0,410-1,757	1,072	0,495-2,231								
CDK1	0,760	0,343-1,682	1,522	0,587-3,946	2,484	1,049-5,882	1,502	0,685-3,293	1,709	0,778-3,752										
CDK2	2,094	0,947-4,630	1,773	0,691-4,550	9,926	3,569-27,611	4,012	1,832-8,786												
Ciclina A	1,682	0,807-3,508	1,226	0,529-2,842	8,775	3,770-20,426														
Ciclina E	2,254	1,072-4,738	0,499	0,203-1,227																
Ciclina D	1,529	0,659-3,549																		

Tabla 36.- Relación estadística entre la expresión de diferentes proteínas en toda la cohorte (n=136). Valor de la OR e IC 95%.

2.4. Relación entre variables clinicopatológicas

2.4.1. Relación entre el diagnóstico y las características histopatológicas

El estudio estadístico empleando el test de Chi cuadrado y calculando la Odds Ratio mostró un gran número de asociaciones estadísticamente significativas que se representan en la tabla 38. Únicamente no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la paraqueratosis. Con excepción de la espongirosis, que mostraba una relación inversa con el grupo casos (psoriasis), el resto de variables se dio con mayor frecuencia en este grupo, destacando la intensidad de la asociación entre los casos y la hiperplasia epidérmica, hipogranulosis, neutrófilos en capa córnea, capilares dilatados, así como atrofia suprapapilar.

	Psoriasis	No psoriasis	P	OR	IC 95 %
Capilares	65 (97%)	32 (51,6%)	<0,0001	30,469	6,849-135,548
Hipogranulosis	56 (78,9%)	11 (17,7%)	<0,0001	17,309	7,284-41,133
Atrofia	38 (54,3%)	4 (6,4%)	<0,0001	17,219	5,635-52,616
Neutrófilos capa cornea	44 (62%)	6 (9,7%)	<0,0001	15,210	5,773-40,072
Hiperplasia epidérmica	48 (67,6 %)	8 (12,9%)	<0,0001	14,087	5,765-34,424
Área epidérmica	52 (76,5%)	12 (19,7%)	<0,0001	13,271	5,706-30,866
Grosor epidérmico	42 (61,8%)	22 (36,1%)	0,004	12,000	5,231-27,530
Exocitosis neutrófilos	33 (47,1%)	6 (9,7%)	<0,0001	8,324	3,175-21,825
Edema	47 (66,2%)	19 (30,6%)	<0,0001	4,432	2,135-9,199
Perímetro epidérmico	52 (76,5%)	13 (21,3%)	<0,0001	2,834	1,400-5,858
Mitosis	33 (46,5%)	0 (0%)	<0,0001	2,632	2,049-3,380
Infiltrado	71 (100%)	57 (91,9%)	0,015	0,445	0,367-0,540
Espongirosis	17 (24,6%)	51 (82,3%)	<0,0001	0,071	0,030-0,165

Tabla 37.- Resultados histopatológicos, indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con o sin psoriasis. En el estudio estadístico se ha realizado el test de chi cuadrado y cálculo de odds ratio.

2.4.2. Relación entre la descripción clínica y las características histopatológicas

a. Eritema

Encontramos asociación estadísticamente significativa entre el eritema, como manifestación clínica, la hiperplasia epidérmica psoriasiforme y la atrofia suprapapilar ($p = 0,029$ y $p = 0,036$ respectivamente). Los pacientes con hiperplasia epidérmica psoriasiforme o atrofia suprapapilar presentaban con mayor frecuencia eritema como descripción clínica. En los pacientes con hiperplasia, un 83,9 % presentan eritema frente a un 16,1% que no lo presentan. En el caso de los pacientes con atrofia, un 85,7% presentan a su vez eritema. Resumiendo, la hiperplasia epidérmica es 2,6 veces más frecuente y la atrofia suprapapilar es 2,7 veces más frecuente en los pacientes con eritema respecto a los que no presentan esta característica clínica. (Tablas 38 y 39).

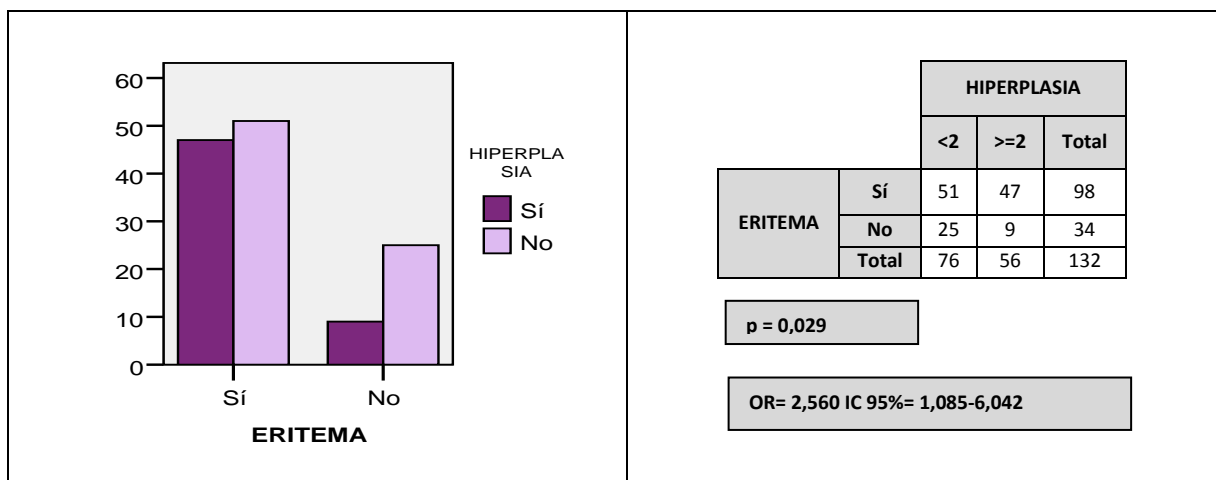


Tabla 38.- Asociación estadísticamente significativa entre la hiperplasia y el eritema.

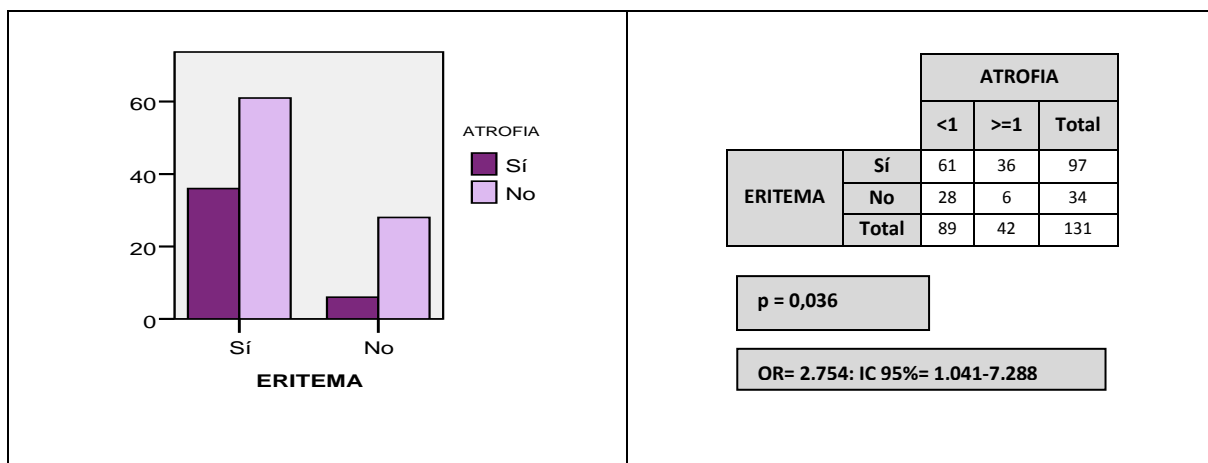


Tabla 39.- Asociación estadísticamente significativa entre el eritema y la atrofia suprapapilar.

b. Induración

Las biopsias con paraqueratosis pertenecían a lesiones que presentaban con menor frecuencia induración de una forma estadísticamente significativa ($p = 0,034$). Dentro de las lesiones con paraqueratosis un 11,6% presentaban a la vez induración, y el porcentaje de las que no presentaban induración era de un 88,4%. (Tabla 40).

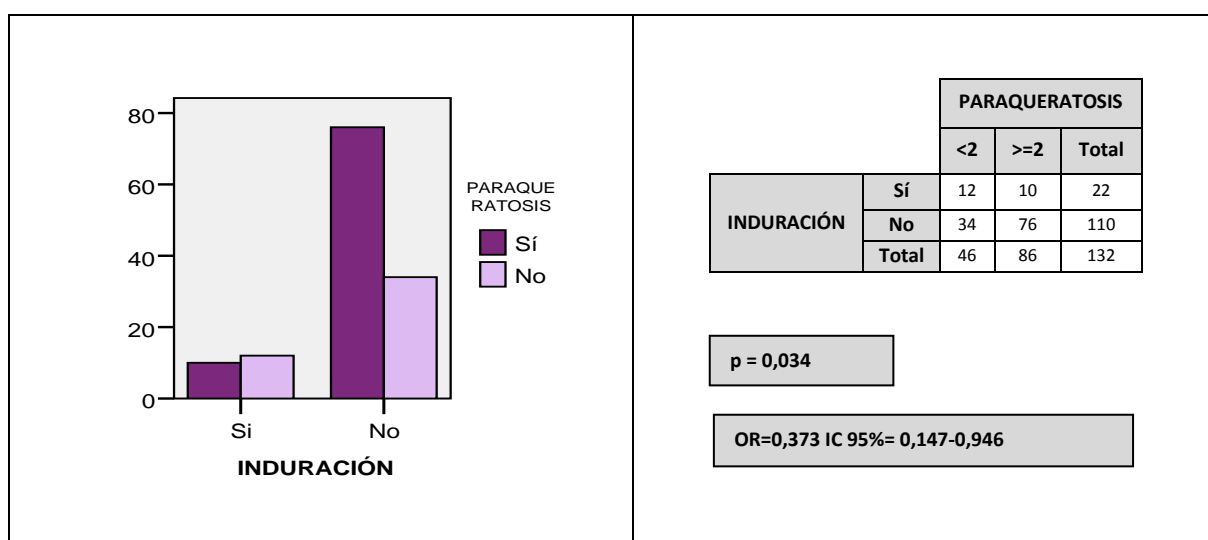


Tabla 40.- Paraqueratosis relacionada con la menor frecuencia de la induración.

c. Descamación

La variable clínica descamación presentaba numerosas asociaciones estadísticamente significativas con las variables histopatológicas como se detalla en la tabla 41.

Exceptuando la espongiosis, el resto de variables estadísticamente significativas mantienen una relación directa con la descamación. (Tabla 41).

	Descamación	No descamación	P	OR	IC 95%
Área epidérmica	42 (63,6%)	21 (33,9%)	0,001	3,417	1,652-7,067
Atrofia	30 (43,5%)	12 (19,3%)	0,003	3,205	1,455-7,059
Perímetro epidérmico	42 (63,6%)	22 (35,5%)	0,001	3,182	1,545-6,554
Hipogranulosis	43 (62,3%)	24 (38,1%)	0,005	2,688	1,329-5,434
Mitosis	23 (33,3%)	10 (15,9%)	0,021	2,650	1,143-6,144
Hiperplasia epidérmica	36 (52,2%)	20 (31,7%)	0,018	2,345	1,153-4,772
Neutrófilos capa cornea	32 (46,4%)	17 (27%)	0,021	2,340	1,127-4,858
Grosor epidérmico	39 (59,1%)	24 (38,7%)	0,021	2,287	1,126-4,645
Paraqueratosis	51 (73,9%)	35 (55,5%)	0,027	2,267	1,090-4,712
Espongiosis	26 (38,2%)	42 (67,7%)	0,001	0,295	0,143-0,607

Tabla 41.- Relación entre la descamación y las variables histopatológicas. El análisis estadístico se realizó con el chi cuadrado y cálculo de la OR.

d. Prurito

El prurito presentaba asociación estadísticamente significativa con numerosas variables histopatológicas como se detalla en la tabla 42.

De las variables histopatológicas estadísticamente significativas relacionadas con el prurito, la espongiosis es la única con una relación directa, es decir, el prurito es 4,9 veces más frecuente en las lesiones con espongiosis.

	Prurito	No prurito	P	OR	IC 95%
Espongiosis	33 (76,7%)	35 (40,2%)	<0,0001	4,903	2,144-11,212
Perímetro	15 (35,7%)	49 (57%)	0,024	0,420	0,196-0,899
Capilares	27 (62,8%)	69 (81,2%)	0,0\$23	0,391	0,172-0,892
Hipogranulosis	15 (34,1%)	52 (59,1%)	0,007	0,358	0,168-0,761
Exocitosis neutrófilos	7 (15,9%)	32 (36,8%)	0,014	0,325	0,130-0,814
Atrofia	7 (16,3%)	35 (39,8%)	0,007	0,294	0,118-0,735
Mitosis	5 (11,4%)	28 (31,8%)	0,011	0,275	0,098-0,772
Infiltrado	40 (90,9%)	87 (98,8%)	0,024	0,115	0,012-1,062

Tabla 42.- Relación entre el prurito y las variables histopatológicas. El análisis estadístico se realizó con el chi cuadrado y cálculo de la OR (odds ratio).

e. Edad y mitosis suprabasales

Transformando la variable edad en el momento del diagnóstico en una variable dicotómica con punto de corte en la mediana (<40 y \geq 40 años), encontramos diferencias estadísticamente significativas con el número de mitosis suprabasales y la edad ($p = 0,017$). Los pacientes con mitosis suprabasales (≥ 1), están por debajo de la media de edad en un 60,6%, y por encima de la media en un 39,4%, como podemos observar en la tabla 43. En resumen, las mitosis suprabasales son 2,6 veces más frecuentes en pacientes psoriasis tipo I (comienzo de la enfermedad antes de los 40 años).

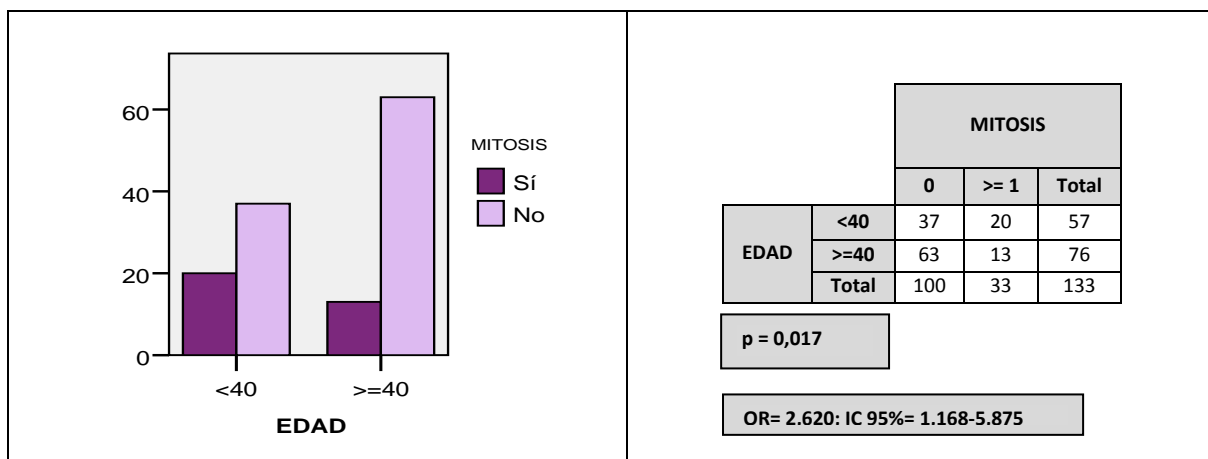


Tabla 43.- Relación entre la edad del paciente y las mitosis suprabasales.

f. Localización palmoplantar y características histopatológicas

Las biopsias de localización palmoplantar presentan con mayor frecuencia hipogranulosis, paraqueratosis y neutrófilos en capa córnea de forma estadísticamente significativa ($p=0,007$, $p=0,022$ y $p=0,005$ respectivamente).

Estas biopsias de localización palmoplantar además se encontraban por encima de la media, como era previsible, en cuanto a las variables: área, grosor y perímetro epidérmico con una significación estadística de $p<0,0001$, $p=0,012$ y $p<0,0001$ respectivamente (tabla 44).

	Palmoplantar	No palmoplantar	p	OR	IC 95%
Área	19 (95%)	43 (40,6%)	<0,0001	27,837	3,591-215,786
Perímetro epidérmico	18 (90%)	45 (42,4%)	<0,0001	12,200	2,693-55,270
Paraqueratosis	19 (86,4%)	65 (60,7%)	0,022	4,092	1,140-14,689
Hipogranulosis	17 (77,3%)	49 (45,8%)	0,007	4,024	1,384-11,700
Grosor	15 (75%)	47 (44,3%)	0,012	3,766	1,276-11,114
Neutrófilos en capa cornea	14 (63,6%)	34 (31,8%)	0,005	3,757	1,440-9,806

Tabla 44.- Relación entre la localización de la biopsia y las variables histopatológicas. El análisis estadístico se realizó con el chi-cuadrado y la OR (odds ratio).

g. Piel fotoexpuesta y características histopatológicas

Entre la piel fotoexpuesta y las características histopatológicas aparecieron múltiples asociaciones estadísticamente significativas que resumimos en la tabla 45.

	Piel fotoexpuesta	Piel no fotoexpuesta	P	OR	IC 95%
Espangiosis	25 (69,4%)	41 (44,6%)	0,011	2,827	1,246-6,417
Mitosis	0 (0%)	33 (35,1%)	<0,0001	1,590	1,365-1,853
Edema	9 (25%)	57 (60,6%)	<0,0001	0,216	0,092-0,512
Capilares	19 (52,8%)	76 (84,4%)	<0,0001	0,206	0,086-0,490
Área epidérmica	8 (22,2%)	55 (60,4%)	<0,0001	0,187	0,077-0,456
Neutrófilos capa cornea	4 (11,1 %)	44 (46,8%)	<0,0001	0,142	0,047-0,433
Hipogranulosis	7 (19,4%)	60 (63,8%)	<0,0001	0,137	0,054-0,345
Hiperplasia epidérmica	5 (13,9%)	51 (54,2%)	<0,0001	0,136	0,049-0,380
Atrofia	3 (8,3%)	39 (41,9%)	<0,0001	0,126	0,036-0,440
Excitosis neutrófilos	2 (5,6%)	36 (38,7%)	<0,0001	0,093	0,021-0,412

Tabla 45.- Relación entre la piel fotoexpuesta y las variables histológicas. El análisis estadístico se realizó con el chi cuadrado y la OR (odds ratio).

h. Tiempo de evolución y características histopatológicas

Transformando la variable tiempo de evolución en una variable dicotómica con valores: agudo (hasta 30 días) y crónico (más de 30 días), observamos que existe relación estadísticamente significativa con hipogranulosis, paraqueratosis y neutrófilos en capa córnea ($p = 0,050$, $p = 0,032$ y $p = 0,004$ respectivamente). Las lesiones biopsiadas con más de 30 días de evolución presentan con más frecuencia hipogranulosis, paraqueratosis y neutrófilos en capa córnea.

Además, las lesiones consideradas crónicas (más de 30 días de evolución) presentaban con mayor frecuencia un perímetro epidérmico por encima de la media, de una forma estadísticamente significativa ($p = 0,003$) (Tabla 46).

	Agudo	Crónico	P	OR	IC 95%
Hipogranulosis	16 (37,2%)	43 (55,8%)	0,050	0,469	0,218-1,007
Neutrófilos en capa cornea	10 (23,3%)	33 (42,9%)	0,032	0,404	0,175-0,935
Paraqueratosis	20 (46,5%)	56 (72,7%)	0,004	0,326	0,149-0,712
Perímetro epidérmico	13 (30,2%)	43 (58,9%)	0,003	0,302	0,136-0,673

Tabla 46.- Relación entre el tiempo de evolución de la enfermedad y las variables histopatológicas. El análisis estadístico se realizó con el chi-cuadrado y odds ratio.

2.5. Relación entre variables clínicas y biológicas

2.5.1. Relación entre el diagnóstico y las variables biológicas

a. Psoriasis/no psoriasis

Diez de las once proteínas del ciclo celular estudiadas en nuestra serie mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la variable diagnóstico: casos (psoriasis) y controles (no psoriasis). Estas asociaciones se detallan en la tabla 48. p21,

p53 y ciclina D1 revelaron asociación inversa, es decir, su positividad resultó más frecuente en el grupo control. El resto de proteínas estudiadas mostraron un patrón de positividad más frecuente en los casos (psoriasis), siendo p63, ciclina E, p27 y CDK2 las proteínas con mayor intensidad de asociación con el grupo casos.

	Total	Psoriasis	No psoriasis	p	OR	IC 95%
p63	77 (59,7%)	58 (85,3%)	19 (31,1%)	<0,0001	12,821	5,411-30,376
ciclina E	81 (61,4%)	60 (84,5%)	21 (34,4%)	<0,0001	10,390	4,521-23,874
p27	120 (88,2%)	71 (97,3%)	49 (77,8%)	<0,0001	10,143	2,206-46,638
CDK2	46 (34,3%)	37 (52,1%)	9 (14,3%)	<0,0001	6,529	2,804-15,207
ki67	65 (50%)	47 (69,1%)	18 (29%)	<0,0001	5,417	2,579-11,604
ciclina A	64 (50,4%)	43 (64,2%)	21 (35%)	0,001	3,327	1,606-6,895
CDK1	38 (30,6%)	26 (40%)	12 (20,3%)	0,018	2,611	1,167-5,841
ciclina D1	105 (77,8%)	50 (69,4%)	55 (87,3%)	0,013	0,331	0,135-0,809
p53	69 (53,9%)	27 (40,3%)	42 (68,8%)	0,001	0,305	0,147-0,633
p21	19 (14,4%)	4 (5,7%)	15 (18,3%)	0,003	0,190	0,059-0,609

Tabla 47.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con o sin diagnóstico de psoriasis. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

b. Psoriasis/psoriasis palmoplantar

Comparando los grupos de psoriasis con psoriasis hiperqueratósica palmoplantar, hallamos diferencias estadísticamente significativas en 5 de las 11 proteínas estudiadas. Las proteínas CDK2 y bcl-2 mostraron la mayor intensidad de asociación con el grupo psoriasis. Estas asociaciones se detallan en la siguiente tabla.

	Total	Psoriasis palmoplantar	Psoriasis	P	OR	IC 95%
CDK2	37 (52,1%)	1 (7,1%)	36 (63,2%)	<0,0001	22,286	2,718-182,709
bcl2	44 (66,7%)	2 (16,7%)	42 (77,8%)	<0,0001	17,500	3,367-90,955
Ciclina A	43 (64,2%)	4 (30,8%)	39 (72,2%)	0,005	5,850	1,563-21,894
ki67	47 (69,1%)	6 (42,9%)	41 (75,9%)	0,017	4,205	1,231-14,368
Ciclina E	60 (84,5%)	10 (66,7%)	50 (89,3%)	0,032	4,167	1,062-16,353

Tabla 48.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con diagnóstico de psoriasis palmoplantar y no palmoplantar. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

c. Psoriasis/eccema

Entre los subgrupos psoriasis y eccema 6 de las 11 proteínas estudiadas mostraron diferencias estadísticamente significativas. Las proteínas ciclina E, ki67 y p63 mostraron la mayor intensidad de asociación con el grupo psoriasis. Estas asociaciones se detallan en la siguiente tabla.

	Total	Psoriasis	Eccema	p	OR	IC 95%
ciclina E	63 (77,8%)	50 (89,3%)	13 (52%)	0	7,692	2,425-24,401
p63	54 (69,2%)	44 (83 %)	10 (40%)	0	7,333	2,504-21,474
ki67	49 (61,25%)	41 (75,9%)	8 (30,8%)	0	7,096	2,507-20,088
CDK2	43 (57,8%)	36 (63,2%)	7 (26,9%)	0,004	4,653	1,678-12,905
bcl-2	55 (69,6%)	42 (77,8%)	13 (52%)	0,034	3,231	1,173-8,902
p53	42 (53,2%)	24 (44,4%)	18 (72%)	0,03	0,311	0,112-0,867

Tabla 49.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con diagnóstico de psoriasis y eccema. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y test de Fisher.

d.Psoriasis palmoplantar/eccema

Realizando la comparación de expresión de las variables biológicas entre el grupo psoriasis y eccema, 2 proteínas, p53 y p63 mostraron significación estadística. P53 con mayor expresión en el grupo de los eccema y p63 en el grupo de las psoriasis. Estas asociaciones se detallan en la siguiente tabla.

	Total	Psoriasis palmoplantar	Eccema	p	OR	IC 95%
p63	24 (60%)	14 (93,3%)	10 (40%)	0,001	21,000	2,372-185,930
p53	21 (55,3%)	3 (23,1%)	18 (72%)	0,006	0,117	0,025-0,554

Tabla 50.- Resultados inmunohistoquímicos, indicando el número de casos positivos en cada grupo de pacientes, con diagnóstico de psoriasis palmoplantar y eccema. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y test de Fisher.

2.5.2. Relación entre las características clínicas y las variables biológicas

a. Eritema

La presencia de eritema en la lesión biopsiada inducía alteraciones en el patrón de expresión inmunohistoquímica de 3 de las 11 proteínas del ciclo celular estudiadas. Los resultados se resumen en la tabla 51.

	Total	Eritema	No eritema	P	OR	IC 95%
ciclina A	64 (50,8%)	54 (57,4%)	10 (31,2%)	0,010	2,970	1,267-6,963
CDK2	46 (34,6%)	39 (39,8%)	7 (20%)	0,035	2,644	1,052-6,646
ciclina E	81 (61,8%)	65 (67%)	16 (47%)	0,039	2,285	1,032-5,062

Tabla 51.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin eritema. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado.

b. Induración

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas con p53 y p21 y la variable clínica induración ($p = 0,007$ y $p = 0,001$ respectivamente). En los casos donde la p53 es positiva, sólo un 24,6% presentan induración. Y dentro de los casos que presentan induración, aproximadamente un 81% tienen la p53 positiva. En cuanto a la p21, en los casos en que es positiva, un 42,1% presentan induración. Por otra parte, cuando existe induración, la presencia de la p21 positiva es de un 38,1%. Por el contrario, cuando no hay induración, la positividad de la p21 aparece en sólo un 10%. (Tablas 52 y 53).

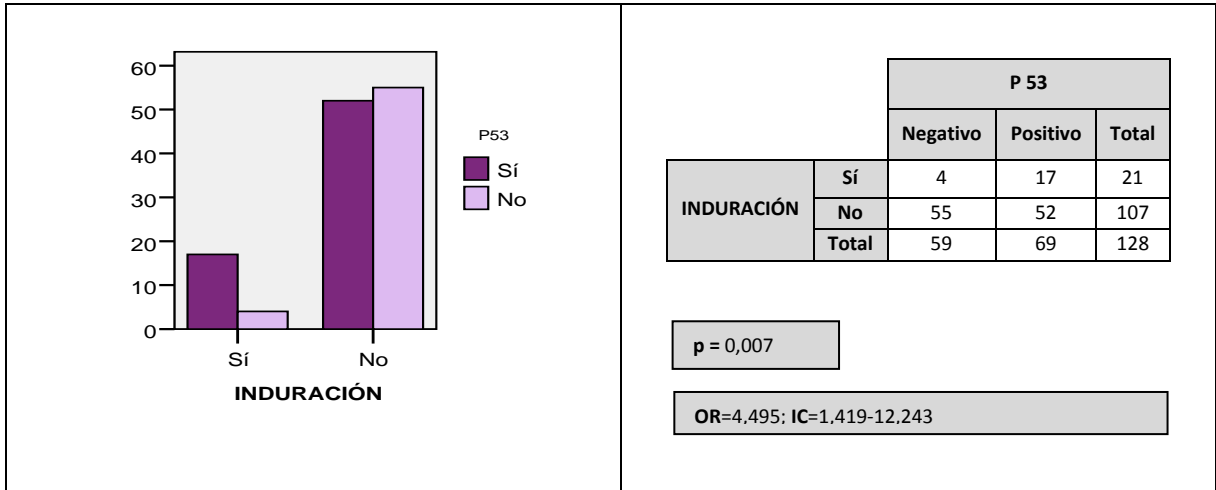


Tabla 52.- Relación entre la induración y la p53.

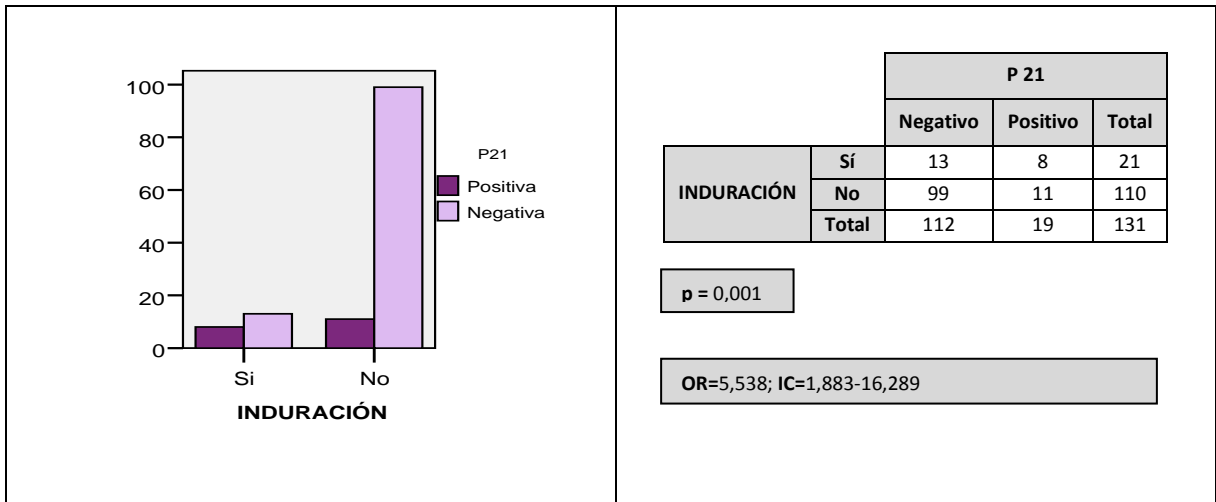


Tabla 53.- Relación entre la induración y la p21.

c. Descamación

La variable clínica descamación se asociaba de forma estadísticamente significativa a ciclina E, p63 y ki67 (p = 0,006, p = 0,001 y p=0,017 respectivamente). Las biopsias con descamación presentaban con más frecuencia positividad en la tinción con ciclina E, p63 y ki67. En las siguientes tablas y figuras se describen y representan estas asociaciones (Tablas 54, 55 y 56).

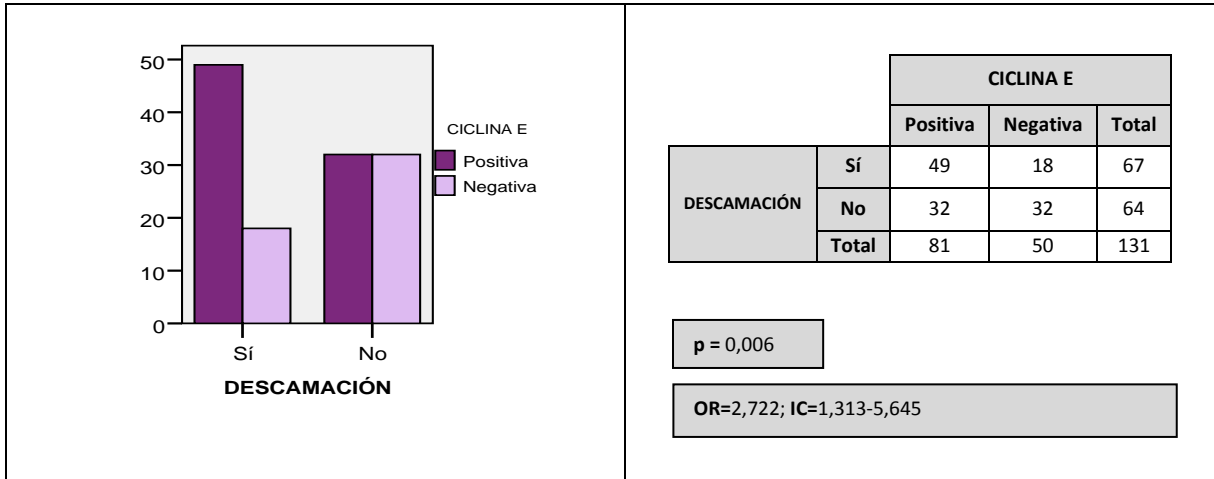


Tabla 54.- Relación estadísticamente significativa entre la descamación y la ciclina E.

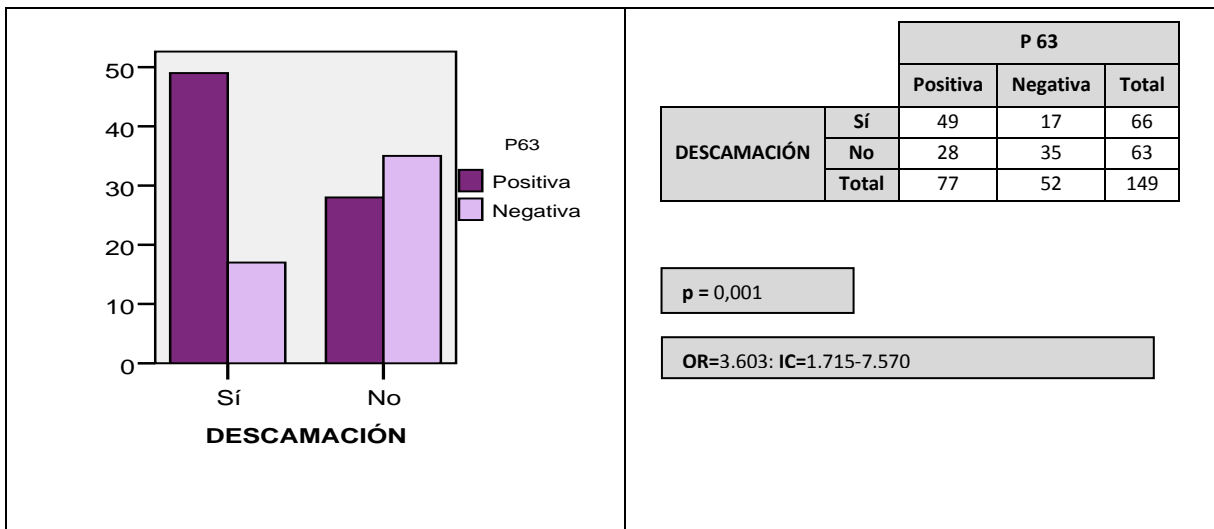


Tabla 55.- Relación estadísticamente significativa entre la descamación y la p63.

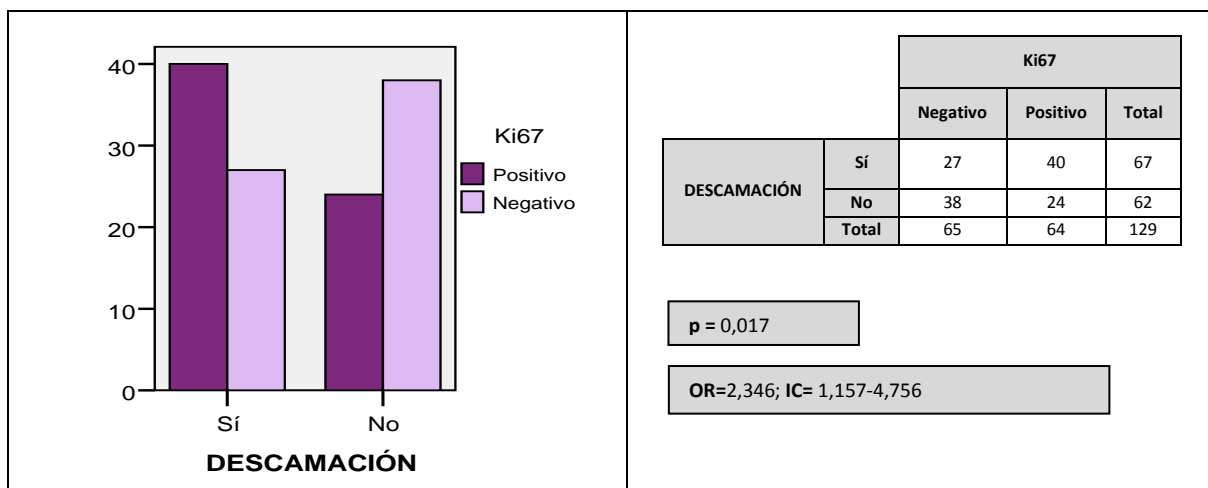


Tabla 56.- Relación entre la descamación y la positividad de la proteína ki67.

d. Prurito

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas con p63, p53 y ki67 y la variable clínica prurito ($p = 0,007$, $p = 0,016$ y $p = 0,030$ respectivamente). Las biopsias donde el clínico especificaba que existía prurito presentaban con más frecuencia positividad en la tinción con p53, p63 y ki67. En las siguientes tablas se describen y representan estas asociaciones.

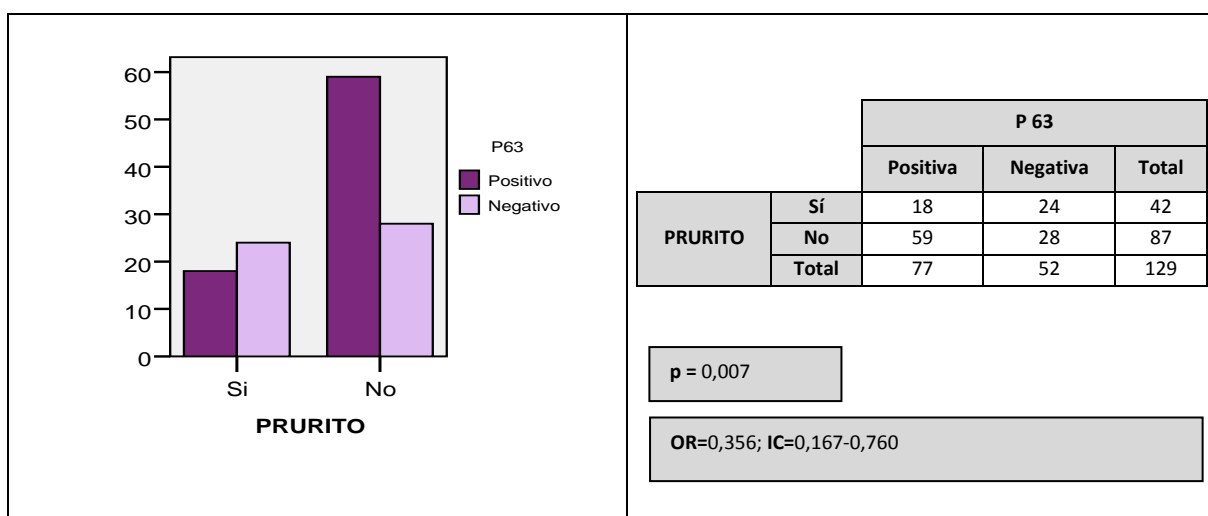


Tabla 57.- Relación estadísticamente significativa entre el prurito y la proteína p63.

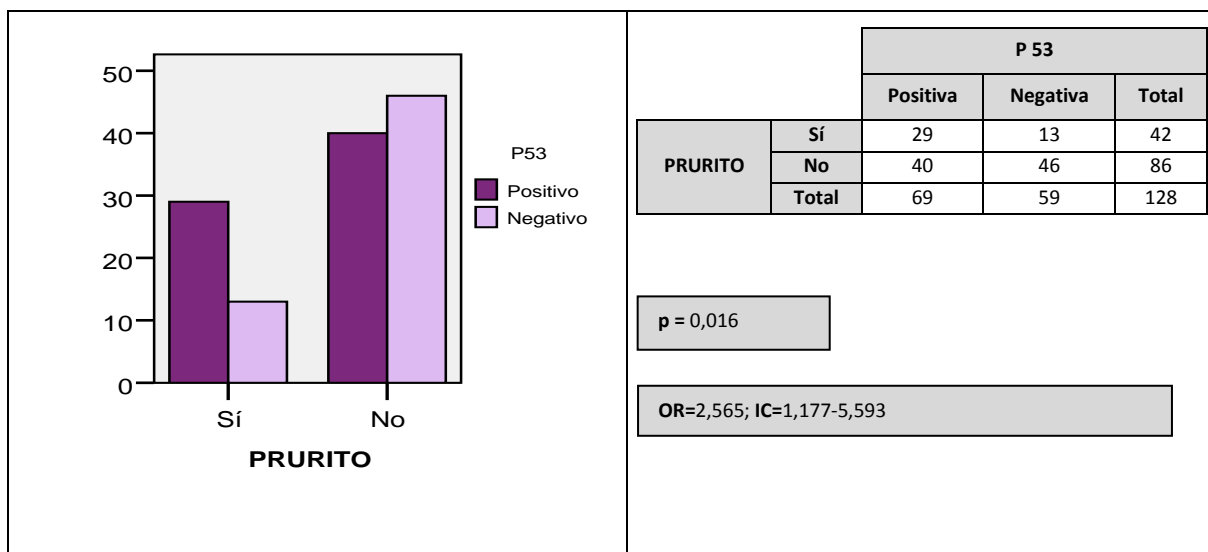


Tabla 58.- Relación estadísticamente significativa entre el prurito y la proteína p53.

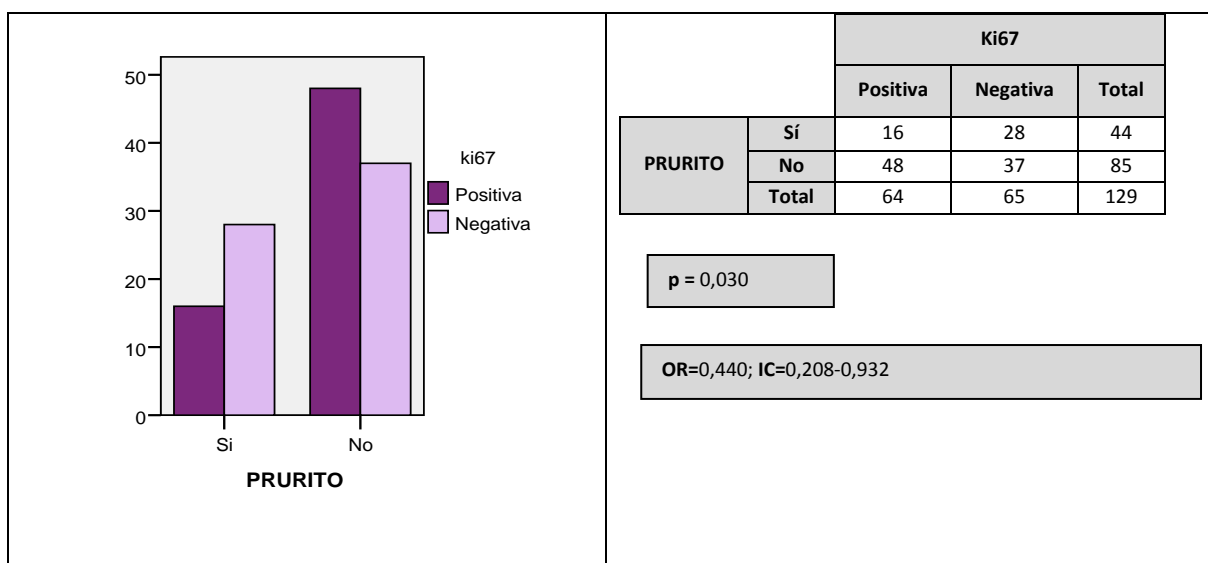


Tabla 59.- Relación estadísticamente significativa entre el prurito y la proteína ki67.

e. Localización palmoplantar

El 60,8% de las biopsias con localización palmoplantar y el 81,5% con otra localización expresaron positividad para la inmunotinción con ciclina D1, encontrando diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,031$).

En el caso de la p63, el 92,5% de las biopsias con localización palmoplantar y el 53,3% con otra localización expresaron positividad con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

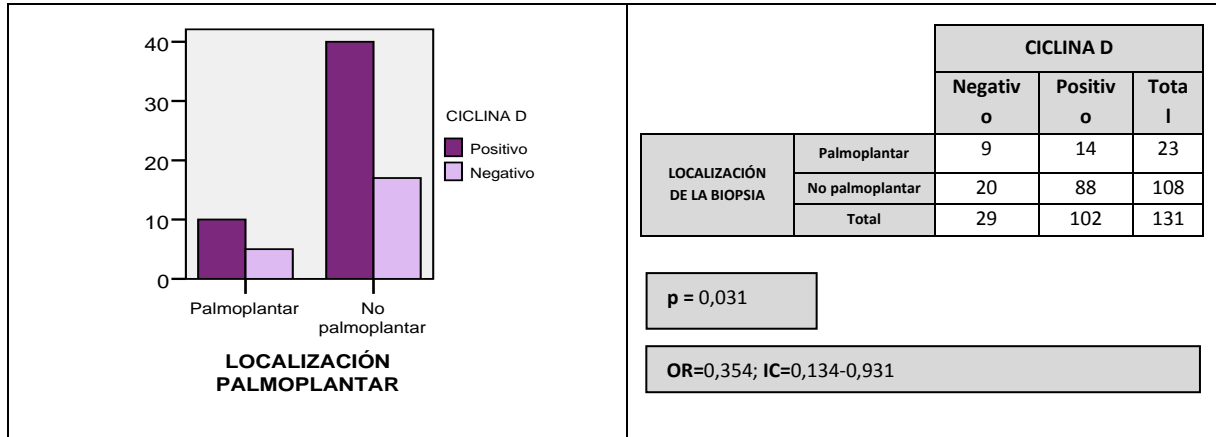


Tabla 60.- Relación estadísticamente significativa entre la localización de la biopsia y la ciclina D.

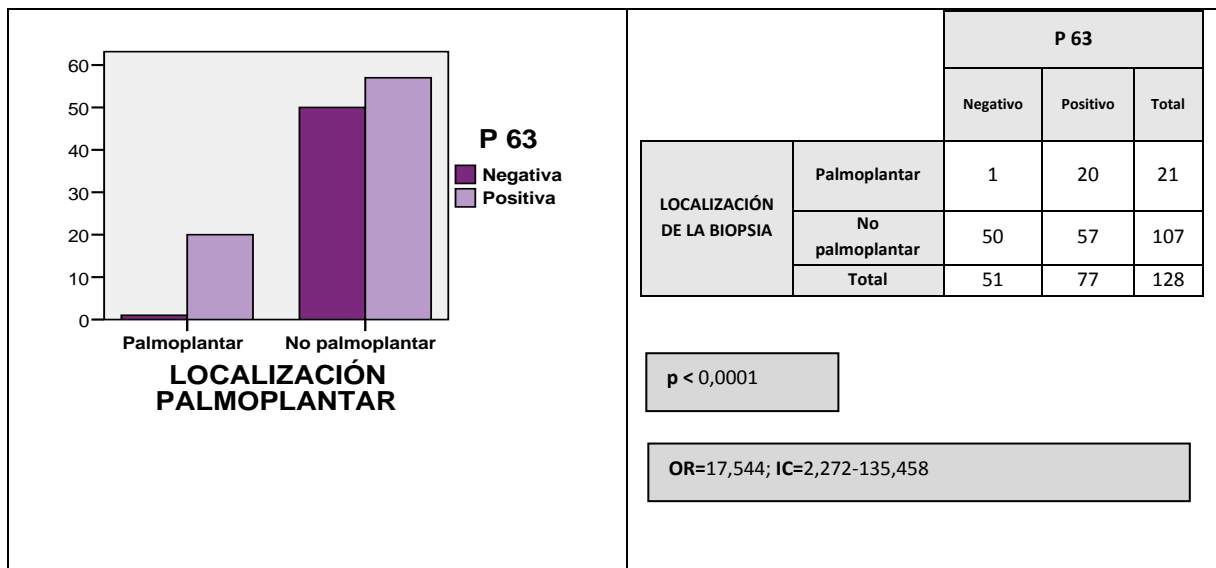


Tabla 61.- Relación estadísticamente significativa entre la localización de la biopsia y la p63.

f. Piel fotoexpuesta

Cuando la piel biopsiada se trataba de zona fotoexpuesta (cara, cuello, escote y antebrazos) se expresaba con más frecuencia la proteína p53. El resto de proteínas con relación estadística con esta variable (ciclina A, ciclina E, CDK2, p21, p27 y ki67) mostraron mayor expresión en piel no fotoexpuesta. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística (tabla 62).

	Total	Piel fotoexpuesta	Piel no fotoexpuesta	P	OR	IC 95%
p21	19 (14,6 %)	13 (35,1%)	6 (6,45%)	<0,0001	7,854	2,700-22,845
p53	69 (54,3%)	30 (81,1%)	39 (43,3%)	<0,0001	5,604	2,228-14,096
ki67	63 (49,6%)	11 (31,4%)	52 (56,5%)	0,012	0,353	0,155-0,804
ciclina A	64 (51,2%)	11 (31,4%)	53 (58,9%)	0,006	0,320	0,140-0,732
ciclina E	80 (61,5%)	14 (38,8%)	66 (70,2%)	0,001	0,270	0,121-0,602
p27	118 (88,7%)	28 (75,7%)	90 (93,7%)	0,003	0,207	0,068-0,634
CDK2	46 (35,1%)	4 (10,8%)	42 (44,7%)	<0,0001	0,150	0,049-0,457

Tabla 62.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin fotoexposición. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y OR (odds ratio).

2.5.3. Relación entre variables histopatológicas y biológicas

a. Hiperplasia epidérmica psoriasiforme

En nuestro estudio encontramos que la presencia de hiperplasia epidérmica psoriasiforme inducía alteraciones en el patrón de expresión de 7 de las 11 proteínas del ciclo celular estudiadas. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a la hiperplasia epidérmica psoriasiforme (tabla 63).

	Total	Hiperplasia epidérmica	No hiperplasia epidérmica	P	OR	IC 95%
CDK2	46 (34,8%)	36 (65,4%)	10 (13 %)	<0,0001	12,695	5,339-30,187
ciclina E	79 (61,2%)	48 (87,3%)	31 (41,9%)	<0,0001	9,512	3,799-23,811
p63	75 (59%)	45 (83,3%)	30 (41,1%)	<0,0001	7,167	3,050-16,837
p27	117 (88%)	54 (96,4%)	63 (81,8%)	0,011	6,000	1,305-27,585
ciclina A	64 (51,2%)	37 (71,1%)	27 (37%)	<0,0001	4,202	1,955-9,034
ki67	64 (50,4%)	35 (67,3%)	29 (38,7%)	0,002	3,266	1,554-6,864
CDK1	38 (31,1%)	22 (42,3%)	16 (22,9%)	0,022	2,475	1,131-5,418

Tabla 63.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin hiperplasia epidérmica. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

b. Hipogranulosis

En nuestro estudio encontramos que la presencia de hipogranulosis inducía alteraciones en el patrón de expresión de 6 de las 11 proteínas del ciclo celular

estudiadas. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a la hipogranulosis (tabla 64).

	Total	Hipogranulosis	No hipogranulosis	P	OR	IC95%
p63	75 (59%)	57 (87,7%)	18 (29%)	<0,0001	17,417	6,934-43,749
CDK2	46 (34,8%)	39 (59,1%)	7 (10,6%)	<0,0001	12,175	4,830-30,687
ciclina E	79 (61,2%)	56 (84,8%)	23 (36,5%)	<0,0001	9,739	4,179-22,696
ki67	64 (50,4%)	42 (67,7%)	22 (33,8%)	<0,0001	4,105	1,958-8,602
p27	117 (88%)	63 (94%)	54 (81,8%)	0,030	3,500	1,066-11,488
ciclina A	64 (51,2%)	41 (65,1%)	23 (37,1%)	0,002	3,160	1,522-6,562
p53	68 (54%)	28 (43,7%)	40 (64,5%)	0,019	0,428	0,209-0,876

Tabla 64.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin hipogranulosis. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

c. Paraqueratosis

La presencia de paraqueratosis inducía alteraciones en el patrón de expresión de 2 de las 11 proteínas del ciclo celular estudiadas en nuestra serie, p63 y p21. En presencia de paraqueratosis, la proteína p63 se presenta de forma positiva en un 67,5% de los casos. Y por el contrario, cuando la p63 es positiva, hay paraqueratosis en un 74,7%. En el caso de la proteína p21, en presencia de paraqueratosis se presenta en un 48,8% de los casos de forma positiva. Y si la proteína p21 es positiva, hay paraqueratosis en un 58,8% de los casos. (Tablas 65 y 66).

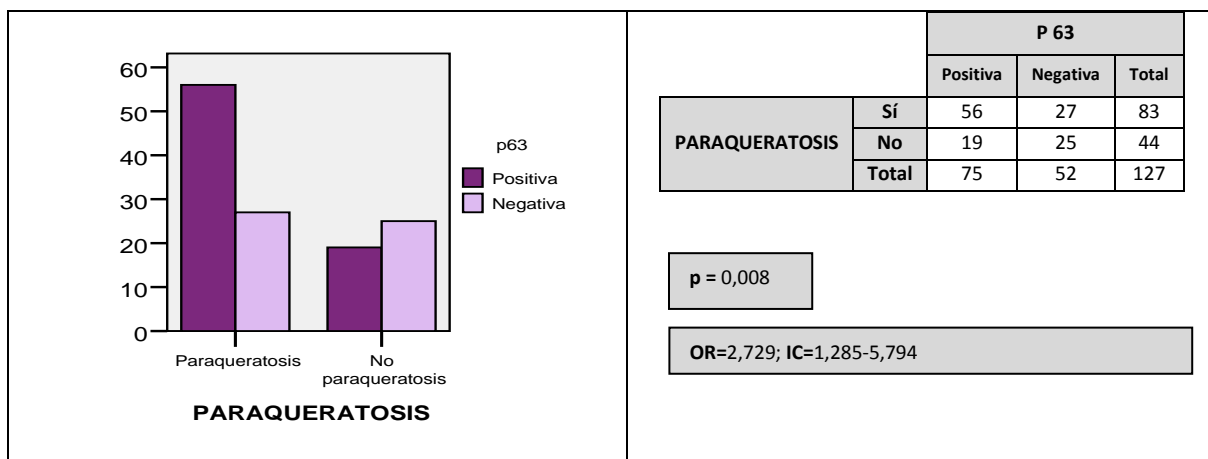


Tabla 65.- Relación estadísticamente significativa entre la paraqueratosis y la proteína p63.

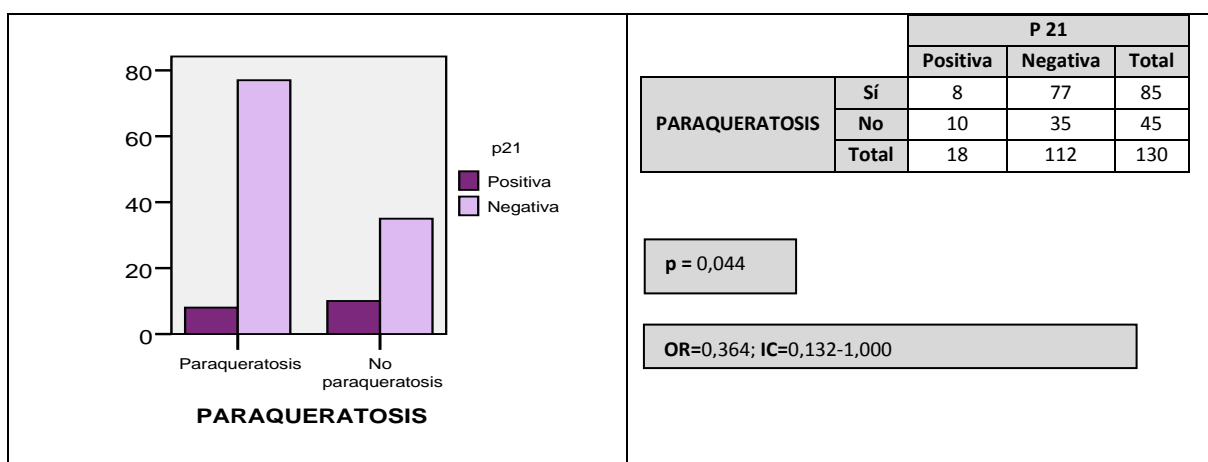


Tabla 66.- Relación estadísticamente significativa entre la paraqueratosis y la proteína p21.

d. Exocitosis de neutrófilos

La presencia de exocitosis de neutrófilos inducía alteraciones en el patrón de expresión de 6 de las 11 proteínas reguladoras del ciclo celular estudiadas. Únicamente p53 mostraba una relación indirecta, es decir se expresaba más en el grupo sin Exocitosis de neutrófilos. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad

en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a la exocitosis de neutrófilos. (Tabla 67).

	Total	Exocitosis de neutrófilos	Sin exocitosis	P	OR	IC 95%
CDK2	46 (35,1%)	27 (69,2%)	19 (20,6%)	<0,0001	8,645	3,706-20,163
ciclina E	78 (60,9%)	32 (84,2%)	46 (51,1%)	<0,0001	5,101	1,944-13,389
ciclina A	64 (51,6%)	27 (71%)	37(43%)	0,004	3,251	1,431-7,386
p63	74 (58,7%)	29 (76,3%)	45 (51,1%)	0,008	3,079	1,307-7,252
ki67	63 (50,0%)	26 (68,4%)	37 (42,0%)	0,007	2,986	1,336-6,676
p53	68 (54,4%)	14 (36,8%)	54 (62,1%)	0,009	0,356	0,162-0,784

Tabla 67.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin Exocitosis de neutrófilos. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

e. Neutrófilos en capa córnea

La presencia de neutrófilos en capa córnea inducía alteraciones en el patrón de expresión de 6 de las 11 proteínas reguladoras del ciclo celular estudiadas. Como ocurría en la Exocitosis de neutrófilos, únicamente p53 mostraba una relación indirecta, es decir se expresaba más en el grupo sin neutrófilos en capa córnea. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a la exocitosis de neutrófilos (tabla 68).

	Total	Neutrófilos en capa córnea	Sin neutrófilos capa córnea	P	OR	IC 95%
CDK2	46 (34,8%)	31 (63,3%)	15 (18,1%)	<0,0001	7,807	3,486-17,483
p63	75 (59%)	40 (85%)	35 (43,75%)	<0,0001	7,347	2,938-18,371
ciclina E	79 (61,2 %)	40 (83,3%)	39 (48,1%)	<0,0001	5,385	2,244-12,921
ki67	64 (50,4%)	31 (67,4%)	33 (40,7%)	0,004	3,006	1,407-6,423
ciclina A	64 (51,2%)	30 (65,2%)	34 (43%)	0,017	2,482	1,169-5,268
p53	68 (54%)	20 (42,5%)	48 (60,8%)	0,047	0,478	0,230-0,996

Tabla 68.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin neutrófilos en capa córnea. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

f. Mitosis suprabasales

La presencia de mitosis suprabasales inducía alteraciones en el patrón de expresión de 6 de las 11 proteínas reguladoras del ciclo celular estudiadas. Todas las proteínas mostraron una relación directa, es decir se expresaban más en las biopsias con mitosis suprabasales. La ciclina E presentó la mayor fuerza de asociación (OR:15,500) con la variable mitosis suprabasales. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a las mitosis suprabasales (tabla 69).

	Total	Mitosis suprabasales	Sin mitosis suprabasales	P	OR	IC 95%
ciclina E	79 (61,2%)	31 (93,9%)	48 (50%)	<0,0001	15,500	3,511-68,420
ciclina A	64 (51,2%)	26 (81,25%)	38 (40,9%)	<0,0001	6,272	2,356-16,699
CDK2	46 (34,8%)	20 (62,5%)	26 (26%)	<0,0001	4,744	2,040-11,209
p63	75 (59 %)	27 (81,8%)	48 (51,1%)	0,002	4,313	1,630-11,406
ki67	64 (50,4%)	23 (71,9%)	41 (43,2%)	0,005	3,366	1,409-8,042
CDK1	38 (31,1%)	15 (46,9%)	23 (25,6%)	0,025	2,570	1,109-5,597

Tabla 69.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con y sin mitosis suprabasales. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

g. Edema en dermis papilar

La presencia de edema en dermis papilar inducía alteraciones en el patrón de expresión de 4 de las proteínas reguladoras del ciclo celular estudiadas. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto al edema en dermis papilar (tabla 70).

	Total	Edema	Sin edema	P	OR	IC 95%
CDK2	46 (34,8%)	33 (50%)	13 (19,7%)	<0,0001	4,077	1,878-8,850
ciclina A	64 (51,2%)	39 (63,9%)	25 (39,1%)	0,005	2,765	1,340-5,709
p63	75 (59%)	45 (70,3%)	30 (47,6%)	0,009	2,605	1,256-5,403
ciclina E	79 (61,2%)	46 (71,9%)	33 (50,8%)	0,014	2,418	1,194-5,144

Tabla 70.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin edema en dermis papilar. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado.

h. Capilares dilatados

La presencia de capilares dilatados inducía alteraciones en el patrón de expresión de 6 de las 11 proteínas reguladoras del ciclo celular estudiadas. De estas proteínas, únicamente p21 presentó una relación indirecta expresándose menos en presencia de capilares dilatados en papilas dérmicas. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a los capilares dilatados. (Tabla 71).

	Total	Capilares dilatados	Sin capilares dilatados	P	OR	IC 95%
CDK2	43 (33,6%)	40 (41,7%)	3 (9,4%)	0,001	6,905	1,966-24,245
ciclina E	75 (60%)	67 (70,5%)	8 (26,7%)	<0,0001	6,580	2,618-16,538
ciclina A	61 (50%)	55 (59,8%)	6 (20%)	<0,0001	5,946	2,216-15,952
p63	71 (57,7%)	62 (66,7%)	9 (30%)	<0,0001	4,667	1,913-11,386
ki67	62 (50,0%)	53 (57,0%)	9 (29,0%)	0,007	3,239	1,347-7,789
p21	18 (14,3%)	10 (10,5%)	8 (25,8%)	0,035	0,338	0,120-0,955

Tabla 71.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin capilares dilatados. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

i. Infiltrado inflamatorio en dermis

El infiltrado inflamatorio en dermis papilar se asociaba en nuestro estudio con p63 y ki67 de forma estadísticamente significativa ($p = 0,006$ y $p = 0,021$ respectivamente). En las siguientes tablas se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto al infiltrado inflamatorio en dermis (tablas 72 y 73).

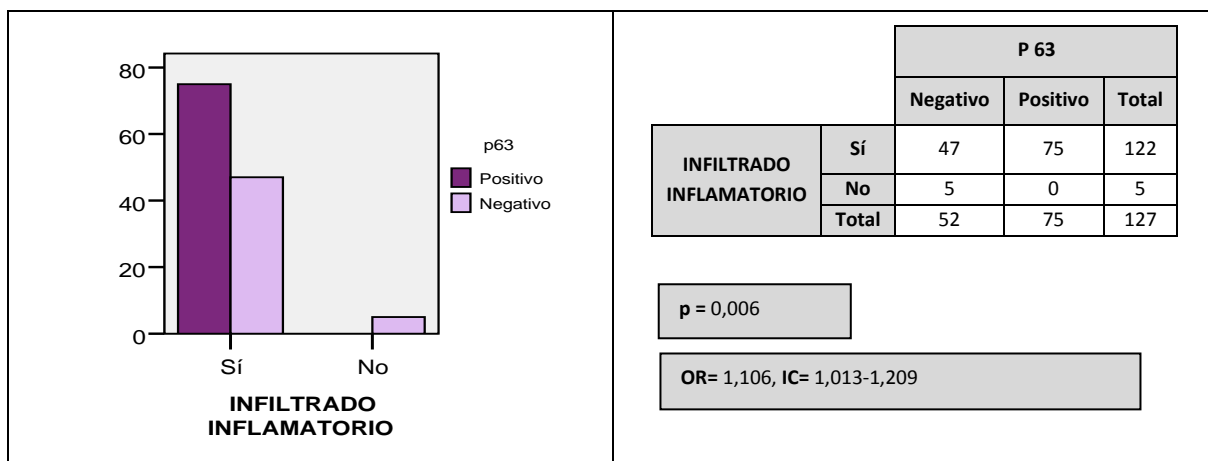


Tabla 72.- Relación entre el infiltrado inflamatorio y la positividad de la proteína p63. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

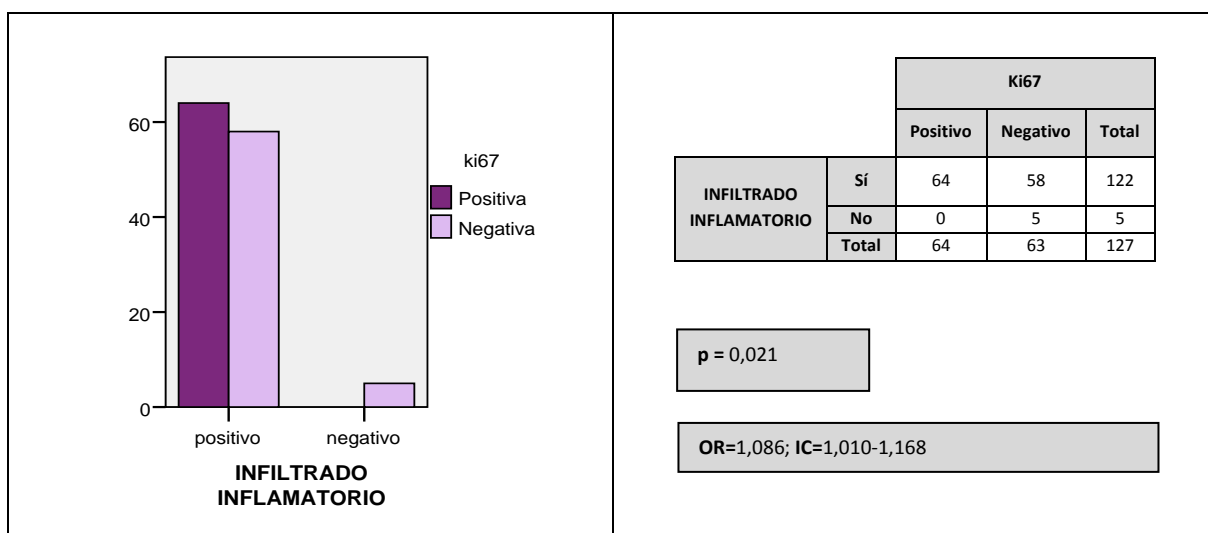


Tabla 73.- Relación entre el infiltrado inflamatorio y la positividad de la proteína Ki67. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

j. Atrofia suprapapilar

La presencia de atrofia suprapapilar inducía alteraciones en el patrón de expresión de 5 de las 11 proteínas reguladoras del ciclo celular estudiadas. De estas proteínas, únicamente p53 presentó una relación directa expresándose más en presencia de atrofia suprapapilar. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en

las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a la atrofia suprapapilar (tabla 74).

	Total	Atrofia suprapapilar	Sin atrofia suprapapilar	P	OR	IC 95%
ciclina E	78 (60,9%)	43 (49,4%)	35 (85,4%)	<0,0001	5,969	2,279-15,630
p63	74 (58,7%)	41 (47,7%)	33 (82,5%)	<0,0001	5,174	2,064-12,968
CDK2	45 (34,3%)	24 (26,75%)	21 (51,2%)	0,006	2,888	1,337-6,238
ciclina A	63 (50,8%)	38 (44,2%)	25 (65,8%)	0,027	2,429	1,098-5,373
p53	67 (53,6%)	15 (37,5%)	52 (61,2%)	0,013	0,381	0,175-0,826

Tabla 74.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes, con y sin atrofia suprapapilar. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

k. Espongiosis

La presencia de espongiosis inducía alteraciones en el patrón de expresión de 4 de las 11 proteínas reguladoras del ciclo celular estudiadas. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto a la espongiosis (tabla 75).

	Total	Con espongiosis	Sin espongiosis	p	OR	IC 95%
ciclina D	102 (77,9%)	43 (68,2%)	59 (86,8%)	0,011	3,049	1,265- 7,347
p63	75 (59%)	42 (68,8%)	33 (50%)	0,031	0,452	0,219- 0,935
ki67	61 (48,8%)	25 (38,5%)	36 (60%)	0,016	0,417	0,203- 0,855
ciclina E	79 (61,2%)	48 (76,2%)	31 (47%)	0,001	0,277	0,130- 0,589

Tabla 75.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con y sin Espongiosis. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

1. Área epidérmica

De las 11 proteínas del ciclo celular estudiadas, 9 mostraron relación estadísticamente significativa en el área epidérmica. Excepto p53, p21 y ki67, el resto de proteínas presentaban una relación directa con las biopsias de área epidérmica \geq que la mediana, es decir, se expresaban con más frecuencia en este grupo. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto al área epidérmica (tabla 76).

	Total	Área < mediana	Área >= mediana	p	OR	IC 95%
p63	74 (58,7%)	24 (36,9%)	50 (82%)	<0,0001	7,765	3,405-17,710
ciclina E	79 (61,2%)	26 (40%)	53 (82,8%)	<0,0001	7,227	3,192-16,365
p27	114 (88,4%)	53 (81,5%)	61 (95,3%)	0,015	4,604	1,233-17,193
CDK1	38 (31,1%)	11 (17,4%)	27 (45,8%)	0,001	3,989	1,743-9,128
CDK2	46 (35,9%)	14 (21,5%)	32 (50,8%)	0,001	3,760	1,740-8.126
ciclina A	64 (50,8%)	25 (39,1%)	39 (62,9%)	0,007	2,645	1,288-5,432
ki67	61 (49,2%)	36 (60%)	25 (39,1%)	0,020	2,340	1,139-4,809
p53	68 (54%)	41 (63,1%)	27 (44,3%)	0,034	0,465	0,228-0,949
p21	18 (13,9%)	14 (21,5%)	4 (6,25%)	0,012	0,243	0,075-0,784

Tabla 76.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con área epidérmica < o ≥ que la mediana. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

m. Perímetro epidérmico

De las 11 proteínas del ciclo celular estudiadas, 6 mostraron relación estadísticamente significativa con el área epidérmica. Excepto p53 y ki67, el resto de proteínas presentaban una relación directa con las biopsias de perímetro epidérmico ≥ que la mediana, es decir, se expresaban con más frecuencia en este grupo. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto al perímetro epidérmico (tabla 77).

	Total	Perímetro < mediana	Perímetro >= mediana	P	OR	IC 95%
p27	114 (88,4%)	51 (79,7%)	63 (97%)	0,002	8,029	1,732-37,222
p63	74 (58,7%)	25 (39,1%)	49 (79%)	<0,0001	5,880	2,665-12,972
CDK2	46 (35,9%)	13 (20,3%)	33 (51,6%)	<0,0001	4,176	1,911-9,126
ciclina E	79 (61,2%)	29 (45,3%)	50 (76,9%)	<0,0001	4,023	1,884-8,588
ki67	61 (49,2%)	39 (63,9%)	22 (34,9%)	0,001	3,304	1,583-6,895
p53	68 (54%)	42 (65,6%)	26 (41,9%)	0,008	0,378	0,184-0,778

Tabla 77.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con perímetro epidérmico < o ≥ que la mediana. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

n. Grosor epidérmico

De las 11 proteínas del ciclo celular estudiadas, 4 mostraron relación estadísticamente significativa con el área epidérmica. Ciclina E y p63 presentaban una relación directa con las biopsias de grosor epidérmico \geq que la mediana, es decir, se expresaban con más frecuencia en este grupo. En la siguiente tabla se detallan los porcentajes de positividad en las proteínas del ciclo celular con significación estadística respecto al grosor epidérmico (tabla 78).

	Total	Grosor < mediana	Grosor >= mediana	p	OR	IC 95%
p63	74 (58,7%)	29 (44,6%)	45 (73,8%)	0,001	3,491	1,647-7,402
ciclina E	79 (61,2 %)	33 (50,8%)	46 (71,9%)	0,014	2,478	1,194-5,144
p21	18 (13,9%)	13 (20%)	5 (7,8%)	0,046	0,339	0,113-1,015
p53	68 (54%)	44 (68,7%)	24 (38,7%)	0,001	0,287	0,138-0,599

Tabla 78.- Resultados inmunohistoquímicos indicando el porcentaje de casos positivos en cada grupo de pacientes con grosor epidérmico < o ≥ que la mediana. El estudio estadístico se ha realizado con el test de chi cuadrado y la OR (odds ratio).

V. Discusión

1. p63

Cómo se ha comentado en la introducción, p63 es un oncogén que comparte similitudes con p53 tanto a nivel estructural como funcional. Tiene la capacidad de regular la progresión del ciclo celular manteniendo la capacidad proliferativa o induciendo apoptosis. Su expresión se ha estudiado en piel normal adulta, observando la tinción de los queratinocitos menos diferenciados de la epidermis y sus anejos, así como en las células mioepiteliales de las glándulas sudoríparas (140-143). Además existen estudios de la expresión de esta proteína en tumores cutáneos y anexiales benignos y malignos (144-148).

En el área de las enfermedades inflamatorias cutáneas, Shen y col. (194) investigaron la expresión de p63 en psoriasis en placas en distintos estadios así como en piel sana. Observaron que la piel sana se teñía con p63 en la capa basal y hasta 2-4 capas por encima. En el caso de la psoriasis, incluso las lesiones con poco tiempo de evolución presentaban positividad para p63 en las crestas epidérmicas engrosadas. Según se iba alargando la epidermis, las células que mostraban positividad para p63 aparecían en las partes más inferiores de las crestas epidérmicas donde los queratinocitos proliferaban densamente. Estos autores sugerían que p63 puede participar en el estadio temprano del proceso de remodelamiento epidérmico que tiene lugar en la epidermis psoriásica, así como en el alargamiento de las crestas epidérmicas. La tinción con PCNA (antígeno nuclear de células en proliferación), un marcador de proliferación celular, pone de manifiesto que únicamente se tiñen algunas células de la capa basal no coincidiendo con todas las que expresan p63. Este hecho concuerda con estudios previos (140, 141) en carcinoma basocelular y epidermoide, donde la tinción con ki67, otro marcador de proliferación celular, se expresaba en algunas de las células teñidas con p63, pero no todas. Por lo tanto parece improbable que la p63 represente únicamente actividad proliferativa en psoriasis. Concordante con estos datos, en nuestro estudio, la variable tiempo de evolución de la lesión biopsiada se asociaba con la expresión de p63, observándose con más frecuencia un patrón de expresión en capas inferiores de la epidermis en lesiones de más de 30 días de evolución de forma estadísticamente significativa ($p=0,023$) (OR: 0,412; IC 95%: 0,191-0,892).

En nuestro estudio se compara la expresión de p63 en psoriasis y un grupo control formado por otras enfermedades inflamatorias cutáneas (eccema, lupus eritematoso, pitiriasis rosada y pitiriasis liquenoide). Observamos dos patrones de expresión de la p63: uno como el descrito por Shen y col. en sus casos de psoriasis en placas, donde existía tinción nuclear en las capas epidérmicas más inferiores con pérdida en las superiores, y otro patrón donde la pérdida de expresión en capas superiores era discreta o nula. Encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=0,001$) (OR: 12,821; IC 95%: 5,411-30,376), con una mayor frecuencia de pérdida de expresión en capas superiores en la psoriasis que en el grupo control. Es la proteína con la relación más intensa de las estudiadas con el grupo de la psoriasis.

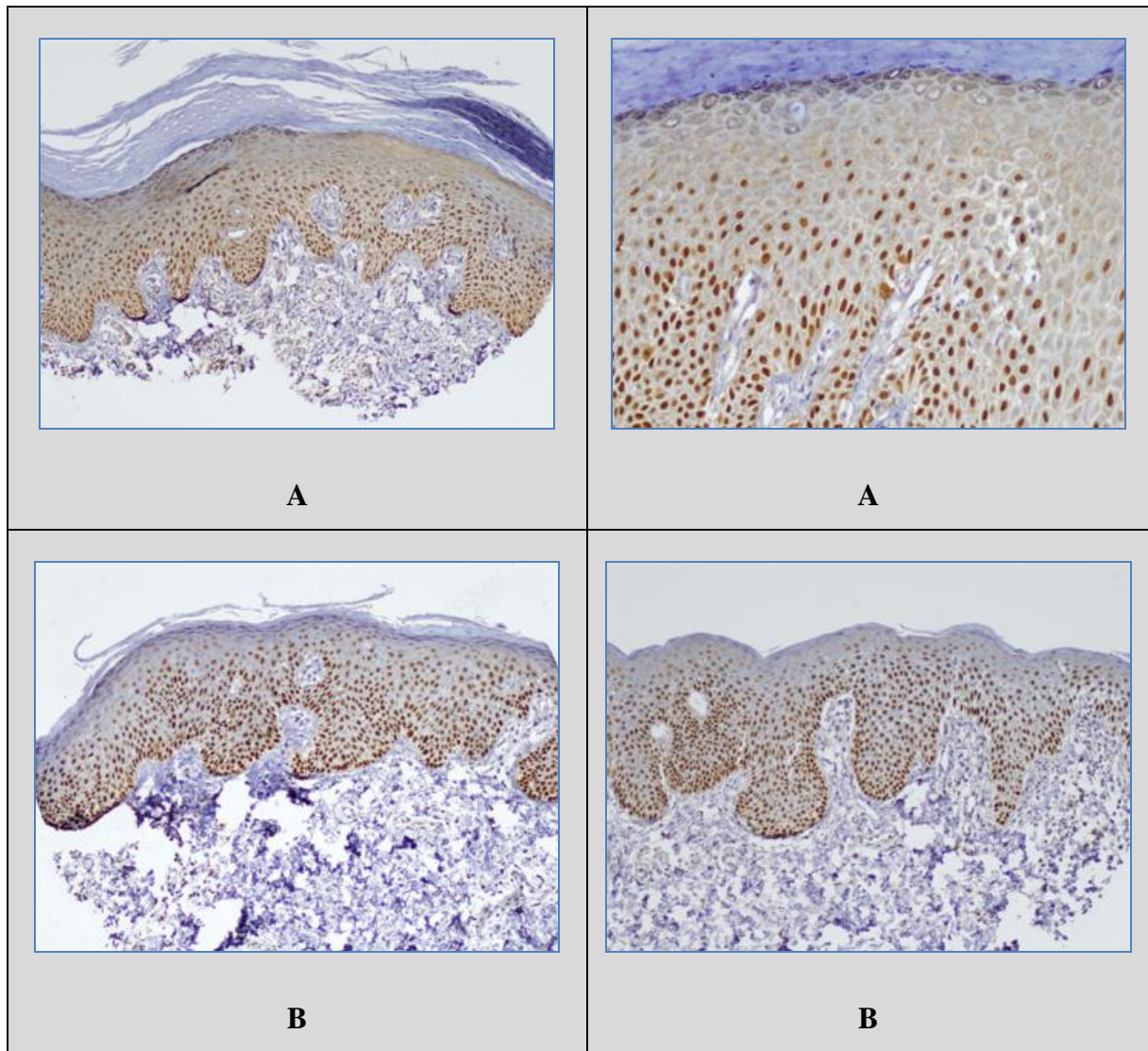


Figura 38.- Ejemplo de los dos patrones de expresión de la proteína p63. A.- Patrón con tinción nuclear en las capas epidérmicas más inferiores con pérdida en las superiores (psoriasis). B.- Patrón donde la pérdida de expresión de p63 en capas superiores era discreta o nula (pitiriasis rosada).

Llama la atención que todos los pacientes estudiados con diagnóstico de pitiriasis rosada expresaron células positivas para p63 en todo el espesor epidérmico (figura 38B). En los casos de pitiriasis rosada clásica la mayoría de los pacientes no requieren biopsia de piel porque el diagnóstico se establece directamente en base a la clínica y los hallazgos histológicos son inespecíficos. Las características histológicas típicas incluyen paraqueratosis focal, una capa granulosa reducida o ausente, leve acantosis, leve espongirosis, edema papilar dérmico, infiltrado intersticial dérmico superficial de

linfocitos e histiocitos, y extravasación focal de eritrocitos. En las lesiones más antiguas de pitiriasis rosada el infiltrado perivascular suele ser superficial y profundo, con menos espongirosis y acantosis más pronunciada, lo que puede crear dificultades a la hora de diferenciarlas de lesiones psoriásicas. En estos casos pensamos que puede ser de gran utilidad la tinción con p63 que nos distinguiría la psoriasis con pérdida de expresión de la proteína en capas superiores y la pitiriasis rosada donde hay células teñidas en todas las capas epidérmicas. Por supuesto se requerirán investigaciones futuras que confirmen estos hallazgos así como el estudio de series más amplias de pitiriasis rosada.

En nuestros resultados también observamos que el patrón de expresión de p63 caracterizado por la pérdida de tinción de queratinocitos en capas superiores epidérmicas se da con más frecuencia en biopsias con un área, grosor y perímetro epidérmico superior a la mediana de forma estadísticamente significativa ($p=0,015$, $p=0,001$ y $p<0,001$ respectivamente).

Al comparar el grupo de psoriasis con eccema se observan diferencias estadísticamente significativas en la expresión de p63 ($p<0,0001$; OR:7,333; IC 95%:2,504-21,474). Comparando el subgrupo psoriasis con psoriasis palmoplantar no se encuentran diferencias significativas con la expresión de p63. Sin embargo al realizar la comparación entre psoriasis palmoplantar y eccema, de nuevo esta proteína marca diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos y es la que muestra mayor asociación con la psoriasis palmoplantar ($p: 0,001$; OR: 21,000; IC 95%: 2,372-185,930).

Resumiendo, en este estudio donde uno de los objetivos es buscar posibles herramientas diagnósticas en la psoriasis, y a la luz de los resultados, la tinción con p63 se postula como candidato a discernir entre psoriasis y lupus eritematoso, eccema, pitiriasis rosada y pitiriasis liquenoide y a su vez entre psoriasis y eccema, y psoriasis palmoplantar y eccema. Sin embargo, plantean problema las lesiones psoriásicas tempranas (< de 30 días de evolución) ya que el patrón de expresión de p63 no marca tantas diferencias con las otras dermatosis estudiadas.

2. Ciclina E

Dentro del ciclo celular, las ciclinas constituyen un elemento imprescindible en su regulación (156). Su sobreexposición acelera el paso de la célula de G1 a S, y la inhibición de su expresión o de su actividad produce la detención del ciclo en G1 (195-196). La ciclina E es un miembro de la familia de las ciclinas, la cual se encuentra altamente conservada. El cDNA de la ciclina E humana fue identificado en 1991 mediante screening de bibliotecas de cDNA que pudieran complementar mutaciones en las ciclinas de G1 en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (197). La ciclina E deriva de un gen en el cromosoma 19q12-q13. La ciclina E se une a la quinasa dependiente de ciclina Cdk2 en la fase G1 del ciclo celular, ya que es necesaria para la transición G1/S. El complejo ciclina E/Cdk2 fosforila a p27^{Kip1}, un inhibidor de la ciclina D, marcándolo para que sea degradado, y así promoviendo la expresión de la ciclina A y permitiendo la entrada y progreso de la fase S.

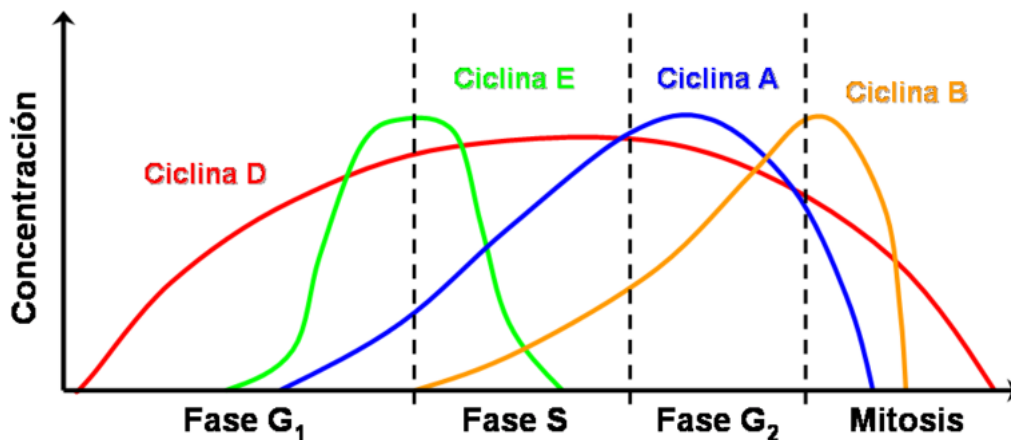


Figura 39.- Relación de las ciclinas con el ciclo celular.

Una regulación anómala en la expresión y actividad de la ciclina E se ha asociado con una variedad de tumores cancerígenos (pulmón, mama, ovario, colorrectal, vejiga y otros) y se considera que está involucrada en el proceso oncogénico (198-199). La actividad oncogénica de la ciclina E es el resultado de diferentes mecanismos. La

expresión en exceso de ciclina E proviene en la mayoría de los casos de una amplificación génica (200).

Mientras que los estudios sobre el papel de la ciclina E en cáncer son numerosos, en la literatura sólo hemos encontrado un estudio sobre los patrones de expresión de la ciclina E en psoriasis (201). Estos autores comparan la inmunoexpresión de ciclina E en 35 condilomas acuminados (casos) y 15 lesiones de psoriasis (controles). Detectaron tinción nuclear respetando capas basales en todas las muestras de psoriasis así como en el 92% de los condilomas acuminados. Las células de la capa basal eran negativas tanto en los condilomas acuminados como en la psoriasis. La piel normal no mostró tinción alguna. Este patrón coincide con el encontrado en nuestro estudio: tinción nuclear de queratinocitos en capas altas, respetando la capa basal, con una mayor expresión en el grupo control de forma significativa ($p < 0,0001$; OR: 10,390; IC 95%: 4,521-23,874). Es la ciclina que presentó mayor fuerza de asociación. En nuestra muestra el 84% de las biopsias con psoriasis mostraron positividad frente al 100% del estudio comentado. Esta diferencia puede explicarse por la inclusión en el grupo control de la psoriasis palmoplantar, donde la inmunoexpresión de ciclina E era menor de forma significativa al compararla con la psoriasis ($p: 0,032$; OR: 4,167; IC 95%: 1,062-16,353) (Figura 41). La mayor expresión de ciclina E en las capas altas de los condilomas acuminados, donde se encuentra el lugar más activo en la replicación del HPV (virus del papiloma humano), sugiere la participación de la ciclina E en la reproducción de dicho virus. A su vez, la evidencia de la inmunotinción positiva en todas las muestras de psoriasis estudiadas por estos autores indica que la ciclina E es un punto de convergencia en la proliferación existente en ambos procesos, los condilomas acuminados y la psoriasis. Estos autores consideran paradójico la sobreexpresión de la ciclina E en los queratinocitos más diferenciados, lo que precisará un entendimiento más profundo del ciclo celular.

En nuestro estudio encontramos sobreexpresión en los queratinocitos más diferenciados, es decir, los localizados en capas altas epidérmicas, además de ciclina E, de CDK2, con la que forma complejo y p27. Estos hallazgos sugieren una disfuncionalidad del complejo ciclina E/CDK2 con incapacidad de marcar p27 para que sea degradado y así se cumple. Una reciente investigación apunta hacia la importancia de p27 en el mantenimiento de la quiescencia celular y la maduración terminal (202).

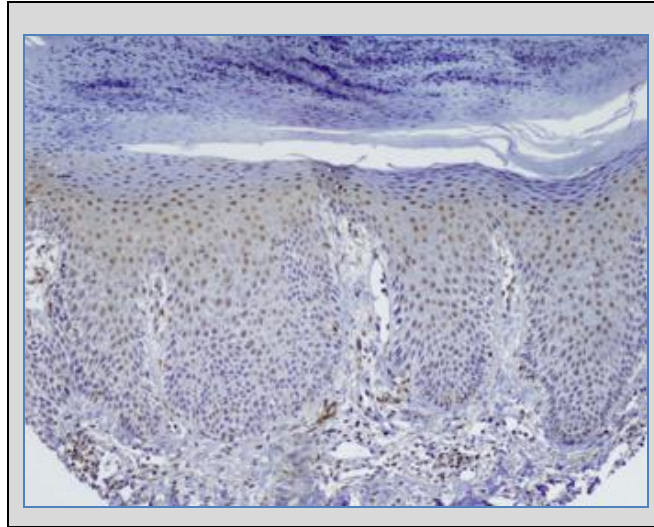


Figura 40.- Tinción nuclear con p27 de queratinocitos en capas altas, respetando la capa basal. Ejemplo de positividad en el grupo de casos.

Recientemente la curcumina (203) (*Curcuma longa*, una especie con origen en la India, con propiedades antiinflamatorias usada en la medicina tradicional india o ayurveda) se ha estudiado en el ciclo celular y se ha visto que regula disminuyendo proteínas como la ciclina E, ciclina D1 y MDM2 y aumentando otras como la p21, p27 y p53. Varios estudios preclínicos mediante cultivos celulares y animales sugieren que la curcumina puede actuar como un agente antiproliferativo, anti-invasivo y antiangiogénico potencial; como mediador de quimiorresistencia y radiorresistencia; como agente quimiopreventivo; y como agente terapéutico en la curación de heridas, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad cardiovascular, enfermedad pulmonar y artritis. Otros estudios clínicos sugieren un papel terapéutico potencial en múltiples enfermedades donde se incluye la psoriasis. Los resultados encontrados en nuestro estudio con una sobreexposición de la ciclina E y una menor expresión de p21 y p53 en la psoriasis apoyarían esta hipótesis sobre la posible actuación de esta especie en esta enfermedad en concreto.

3. p27

El inhibidor 1B de quinasa dependiente de ciclina (CDKN1B) es una enzima codificada en humanos por el gen p27^{Kip1} (204). Esta proteína pertenece a la familia de proteínas inhibidoras de quinasas dependientes de ciclinas “Cip/Kip”. CDKN1B se une e impide la activación de los complejos ciclina E/Cdk2 o ciclina D/Cdk4, controlando así la progresión del ciclo celular en la fase G1. Suele ser referido como proteína inhibidora del ciclo celular debido a que su principal función es frenar o ralentizar el ciclo de división celular.

Los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas se asocian frecuentemente con enfermedades cuando están mutadas o mal reguladas. En el caso de p27 encontramos numerosos estudios en el área oncológica. Nuestro estudio sería el primero en mostrar que en una enfermedad inflamatoria tipo psoriasis, p27 se expresa de una forma más llamativa respecto al grupo control, con datos estadísticamente significativos ($p < 0,0001$; OR:10,143; IC 95%: 2,206-46,638). De las 11 proteínas estudiadas, p27 se encuentra entre las 3 con una mayor fuerza de asociación, junto a p63 y ciclina E. Sin embargo, no se encuentran diferencias al comparar el subgrupo psoriasis con eccema, psoriasis con psoriasis palmoplantar, ni este último con el eccema. De forma característica la tinción por p27 respetaba capa basal y aparecía de forma salpicada en estratos supraespinosos. Esta acumulación de p27 en queratinocitos más maduros parece sugerir una implicación en la diferenciación epidérmica y puede deberse a la diferente concentración de factores extracelulares. En general, los factores de crecimiento extracelulares que impiden el crecimiento celular causan un incremento de los niveles de p27^{Kip1} dentro de la célula. Estos niveles aumentan cuando por ejemplo el TGF-beta está presente en el exterior de las células epiteliales, frenando así el crecimiento celular (205). Por el contrario, la IL-2 provoca una reducción de los niveles de p27^{Kip1} en los linfocitos T.

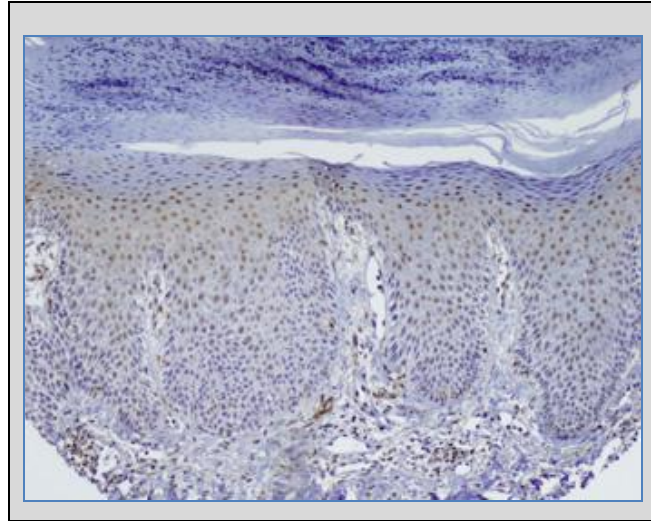


Figura 41.- En nuestro estudio, la expresión de p27 se localizaba en queratinocitos de los estratos supraespinosos, respetando la capa basal y suprabasal, con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo de casos.

Actualmente se considera que p27 puede usarse como marcador pronóstico en cáncer de mama, colón, próstata, pulmón, esófago y estómago. La actividad oncogénica debida a la disminución de p27 es dosis dependiente, es decir, bajas cantidades de la proteína se asocian con mayor malignidad (162).

Un entendimiento más profundo de los mecanismos reguladores de p27 puede proporcionar un buen valor clínico con aplicaciones tanto pronósticas como terapéuticas. Esta proteína ha llamado la atención tanto de clínicos como de investigadores y como resultado, se está estudiando sus funciones celulares en profundidad. La correcta regulación de los niveles de expresión de p27, la localización (nuclear o citoplasmática) y sus diversas funciones puede ser importante para el mantenimiento de la homeostasis y prevenir las células en la formación de tumores. De forma análoga, con los resultados de nuestro estudio y teniendo en cuenta que en psoriasis se trataría de un trabajo preliminar, la proteína p27, que aparece de forma significativa más expresada en el grupo de psoriasis, debería someterse a un mayor estudio con el fin de buscar aplicaciones de esta proteína en el área dermatológica bien como herramienta diagnóstica, valor pronóstico o terapéutico como factor de resistencia a diferentes fármacos.

4. CDK2

En eucariotas, la progresión a lo largo del ciclo celular así como la división de las células están dirigidas por una serie de proteínas denominadas quinasas dependientes de ciclina (CDKs). En mamíferos existen cinco CDKs (CDK1-CDK4 y CDK6) implicadas en la progresión del ciclo celular. No obstante, mediante el estudio de diferentes ratones mutantes que carecían de alguna CDK, se ha demostrado que los miembros de esta familia proteica presentan altos niveles de redundancia y que algunas de ellas son dispensables para el ciclo celular mitótico. Inicialmente se pensaba que CDK2 era esencial para esta transición (G1/S), sin embargo, publicaciones recientes demuestran que células con ausencia de esta proteína no tienen problema en esta transición (206). En este sentido, pese a que CDK2 era considerada la pieza clave para la replicación de ADN en la interfase, diferentes estudios han revelado que CDK2 es dispensable para la progresión del ciclo y la división celular. A pesar de ello, los ratones mutantes con pérdida de función de CDK2 (*Cdk2^{-/-}*), son infértiles, tanto los machos como las hembras, apuntando un papel inesperado de CDK2 durante la gametogénesis. Pese a estos datos previos, se desconocía qué procesos específicos, que serían los responsables últimos de la imposibilidad de formar espermatozoides, están siendo afectados en ausencia de CDK2.

Recientemente, las moléculas que participan en el ciclo celular como ciclinas, CDKs e inhibidores de las CDKs se han estudiado como indicadores potenciales en el pronóstico de patología tumoral. Las CDKs juegan un papel principal en la regulación del ciclo celular. CDK2 es una subunidad catalítica del complejo quinasa dependiente de ciclina cuya actividad se restringe a la fase de transición G1-S del ciclo celular (206). Esta proteína se asocia y a la vez es regulada por subunidades del complejo, incluyendo la ciclina E y A. Se requiere que la ciclina E se una a CDK2 durante la fase G1, para la transición de G1 a la fase S, mientras que la unión con ciclina A se requiere para que la célula progrese a través de la fase S. Inhibidores conocidos de las CDKs son p21Cip1 (CDKN1A) y p27Kip1 (CDKN1B) (207). Fármacos que inhiben a CDK2 y detienen el ciclo celular pueden reducir la sensibilidad del epitelio a agentes antitumorales que actúan sobre el ciclo celular, y por lo tanto representa una posible estrategia para la prevención de la alopecia causada por quimioterapia (208).

Se sabe poco sobre el papel de CDK2 en el desarrollo tumoral. Aunque frecuentemente se encuentra un aumento de la actividad de CDK2 en tumores humanos, no se ha encontrado esta proteína mutada y raramente se encuentra sobreexpresada o genéticamente amplificada en tumores humanos. Sin embargo, la ciclina E, que se une a CDK2 se encuentra amplificada y con un patrón de expresión alterado en tumores humanos y su expresión sirve como marcador de buen pronóstico en algún tipo de tumor (209). En un estudio reciente demuestran que ni la sobreexpresión de CDK2 ni la activación indirecta de esta proteína provocan el desarrollo tumoral epidérmico en ratones (210). Sin embargo observan que la activación indirecta (vía sobreexpresión de CDK4) de CDK2 provoca hiperplasia epidérmica con hiperproliferación queratinocítica. Para este estudio se diseñaron dos modelos de ratones transgénicos con actividad elevada de CDK2. Estos autores también observan que una actividad aumentada de la CDK2 conlleva una alta tasa de apoptosis en el folículo piloso, aunque no consiguen evidenciar un fenotipo evidente del pelo de estos ratones. Parece que CDK2 es necesario para el desarrollo de tumores inducidos por CDK4, pero que no actúa como un oncogén independiente. Además se considera que la activación de CDK2 en cultivos celulares acelera la progresión del ciclo celular.

A partir de estos estudios hasta ahora escasos parece ser que CDK2 es necesaria para la reparación correcta de ADN (211). La cuestión más importante es responder cómo están involucrados los complejos CDK2/Ciclina E y/o CDK2/ciclina A en la reparación del ADN cuando están en estado de inhibición en respuesta al mismo daño celular. Nuestros hallazgos ponen en evidencia como CDK2, ciclina A y ciclina E se expresan de forma significativa en biopsias de enfermos con psoriasis. Mientras que CDK2 y ciclina E tienden a teñir capas altas epidérmicas, ciclina A se encuentra localizada en capa basal y suprabasal.

En nuestro estudio encontramos una mayor expresión inmunohistoquímica de CDK2 en los estratos superiores de la epidermis con psoriasis comparado con otras enfermedades inflamatorias cutáneas de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$; OR:6,529; IC:2,804-15,207). Nuestros resultados sugieren que CDK2 puede jugar un papel importante en la patogénesis o en el estado hiperproliferativo de los queratinocitos en la psoriasis. Se trataría por lo tanto de la primera evidencia demostrando que CDK2 está involucrada en la proliferación queratinocítica de la psoriasis en una serie amplia de

casos. Serían necesarios estudios más profundos para intentar dilucidar el papel exacto de esta proteína en la patogénesis de la psoriasis así como su utilidad como herramienta diagnóstica en casos complicados de esta enfermedad.

Las lesiones crónicas de psoriasis afectando palmas y plantas pueden ser muy difíciles de distinguir histopatológicamente de un eccema crónico palmoplantar. En ocasiones estas lesiones muestran una histopatología típica de psoriasis en placas pero en ocasiones las lesiones son muy espongíóticas simulando un eccema. Se recomienda incluso no biopsiar estas localizaciones si existen lesiones en otras localizaciones con el fin de un mayor rendimiento diagnóstico. Comparando la tinción inmunohistoquímica de CDK2 en el grupo de psoriasis entre psoriasis palmoplantar y el resto de psoriasis observamos una casi nula tinción de esta proteína en estos casos, con diferencias significativas ($p < 0,0001$; OR:22,286; IC 95%:2,718-182,709). Estos resultados pueden sugerir una patogénesis diferente en la psoriasis palmoplantar. Otras 4 proteínas (ciclina E, ciclina A, ki67 y bcl-2), además de CDK2 muestran patrones de expresión diferentes entre psoriasis y psoriasis palmoplantar, apoyando la hipótesis de diferencias en su patogenia. También hallamos diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo psoriasis con eccema en la expresión de CDK2 ($p:0,004$;OR:4,653;IC 95%: 1,678-12,905). No hemos encontrado sin embargo diferencias significativas de CDK2 que pudieran ayudar al diagnóstico diferencial entre psoriasis palmoplantar y eccema.

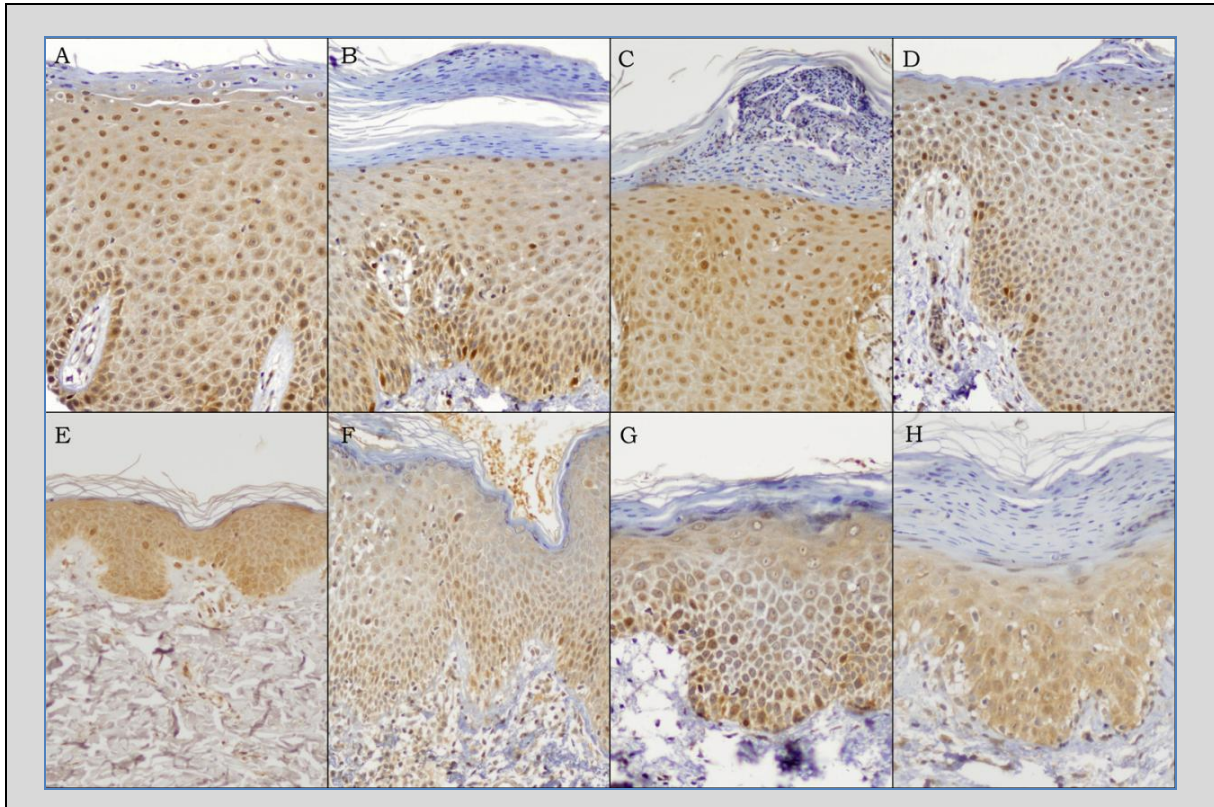


Figura 42.- Tinción nuclear difusa de CDK2 en los estratos epiteliales superiores en 4 casos de psoriasis (A-D, x200). Ejemplos de tinción negativa en el grupo control (E-H, x200).

5. Mtx, psoriasis y CDK2

El metotrexate (MTX) es muy efectivo para la psoriasis crónica en placas y también está indicado para el manejo a largo plazo de formas graves de psoriasis, incluida la eritrodermia psoriásica y la psoriasis pustulosa (212). Hoy en día se considera un tratamiento sistémico de primera línea para la psoriasis grave. El metotrexate inhibe la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR) mediante un mecanismo competitivo y desencadena una disminución de los folatos reducidos. Esto conduce a la inhibición de la síntesis de ADN y proteínas. Cuando se utilizó por primera vez para el tratamiento de la psoriasis, se pensó que el metotrexate actuaba directamente sobre la hiperproliferación epidérmica a través de la inhibición de la dihidrofolato de la DHFR, pero se vio que era efectivo a dosis mucho más bajas (0,1 a 0,3 mg/kg semanal). En estas concentraciones el metotrexate inhibe la proliferación in vivo de linfocitos, pero

no la proliferación de queratinocitos (213). Hoy se piensa que el principal mecanismo antiinflamatorio del metotrexate no es la inhibición de la DHFR, sino la inhibición de una enzima que participa en el metabolismo de las purinas (AICAR (5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleótico) transformilasa). Por lo tanto, aunque el MTX produce una inhibición temporal de la proliferación del queratinocito durante las primeras 24 horas tras una dosis terapéutica, no es probable que tenga trascendencia en su modo de acción sobre la psoriasis. El MTX intralesional reduce los parámetros de la proliferación en la epidermis lesionada pero no produce mejoría clínica (214). Las dianas celulares de la acción del MTX en la psoriasis están todavía en investigación. En un estudio reciente (215), se investiga el papel dual de la proteína CDK2 tanto en la progresión del ciclo celular como en la muerte celular por apoptosis, ambos procesos regulados por la fosforilación de CDK2 mediada por Akt (familia de proteínas con actuación en la señalización celular en humanos). Investigando la muerte celular producida por fármacos anticancerígenos, como el MTX y el docetaxel, concluyen que la fosforilación de CDK2 mediada por Akt contribuye a la muerte celular inducida por estos dos fármacos, el MTX y el docetaxel.

Nuestros resultados sugieren que CDK2 puede jugar un papel importante en la patogenia o en el estado hiperproliferativo de los queratinocitos en la psoriasis. El hecho de que el MTX sea un tratamiento eficaz y comprobado en la psoriasis y su actuación mediante CDK2 apoyan nuestra hipótesis. Sería muy interesante para futuras investigaciones el estudio de la expresión de CDK2 en piel psoriásica antes y durante el tratamiento con MTX.

6. ki67

Entre los métodos para obtener la cuantificación de la proliferación celular de un tejido está el análisis inmunohistoquímico, utilizando anticuerpos antiproteínas de la mitosis. Uno de los anticuerpos utilizados es el ki-67, presente en todas las fases de la mitosis. El anticuerpo monoclonal ki-67 detecta un antígeno nuclear que se expresa exclusivamente en las células que entran al ciclo celular (fases G1, S, G2 y mitosis),

pero no en G0, por lo tanto, el anticuerpo monoclonal ki-67 permite la detección inmunohistoquímica de células que completan un ciclo y su expresión proporciona una medida directa de la fracción de crecimiento del tejido.

Existen numerosos estudios comparando la expresión de ki-67 en pacientes con psoriasis antes y después de diferentes tratamientos tópicos o sistémicos. Todos coinciden con la disminución en la expresión de este anticuerpo una vez el fármaco empieza a ser efectivo y consideran por tanto la expresión de ki-67 como un indicador de eficacia terapéutica, de normalización de la proliferación epidérmica presente en las lesiones de psoriasis. Entre los fármacos empleados se encuentran terapias clásicas como el dimetilfumarato (216), metotrexate (217), PUVA (218) y acitretino (219), fármacos biológicos como ustekinumab (220), alefacept (221) e infliximab (222) y de forma tópica el tacrolimus en gel (223) y el calcipotriol pomada. El rambazol (224), un agente bloqueador del ácido retinoico que inhibe la degradación del ácido retinoico endógeno también se ha empleado en psoriasis. Otras terapias empleadas en este tipo de estudios son la dieta libre de gluten (225), en cuyo estudio los resultados muestran una mejoría clínica en pacientes con anticuerpos antigliadina positivos, acompañado de algunos cambios histológicos, sobre todo en dermis tanto en piel lesional como piel normal. Entre los cambios histológicos está la disminución de la expresión de ki-67 de forma significativa. La terapia fotodinámica (226), con irradiación de 2-8 J/cm² con intervalo de oscuridad de 2 horas obtiene como resultado la disminución de la expresión inmunohistoquímica de ki-67 desde la primera semana. En la siguiente tabla se resumen los estudios encontrados en la literatura.

Terapia	Año	Pacientes	Biopsia (semana)	Ki-67 post tratamiento
Dimetilfumarato	2010	6	0,16	< expresión
Ustekinumab	2010	36	0,12	< expresión
Infliximab	2009	3	0,14,28	< expresión
Tacrolimus gel vs Calcipotriol	2008	18	0,12	< expresión
Acitretino	2008	17	0,16	< expresión
Rambazol	2007	6	0,2,8	< expresión
Alefacept + Dipropionato betametasona	2007	16	0,24	< expresión
Terapia fotodinámica	2006	8	0,1,6	< expresión
Metotrexate	2005	10	6	< expresión
Dieta sin gluten	2003	37	0,12	< expresión
PUVA	1999	23	0,7-15	< expresión

Tabla 79.- Estudios clínicos prospectivos sobre el efecto de terapias en la psoriasis. Expresión inmunohistoquímica de Ki-67.

El ditranol se ha usado desde hace casi un siglo en el tratamiento de la psoriasis, aunque su mecanismo de acción no está del todo claro. Zwart y cols. (227) emplean la aplicación tópica de ditranol en vaselina al 0,5% con la diferencia que lo hacen sobre piel normal. Mediante la tinción inmunohistoquímica estos autores medían el efecto del ditranol sobre la proliferación epidérmica, para lo que emplearon el Ki-67. Participaron

6 voluntarios y se realizaron biopsias a tiempo 0, 48 y 96 horas. La expresión de Ki-67 comenzó a incrementarse entre 48 y 96 horas. Como conclusión destacan que la aplicación tópica del ditranol sobre piel normal produce analogías y discrepancias comparado con la aplicación sobre piel con psoriasis. Mientras que la mejoría de la lesión psoriásica va acompañada de una disminución de la expresión de Ki-67, la aplicación de ditranol sobre piel normal produce un incremento del mismo.

A pesar de que el uso de la tinción con Ki-67 se ha empleado en la psoriasis como indicador de proliferación epidérmica a la hora de valorar terapias antipsoriásicas, en la literatura no hemos encontrado estudios comparativos entre diferentes entidades dermatológicas como es nuestro caso. En nuestro estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la proliferación epidérmica (expresión de Ki-67) entre la piel con psoriasis y el grupo control ($p < 0,0001$; OR: 5,417; IC 95%: 2,579-11,604). Además, ki67 se expresa de forma diferente entre la psoriasis y la psoriasis palmoplantar de forma significativa (p : 0,017; OR: 4,205; IC 95%: 1,231-14,368). Mientras que el 80% de las biopsias con psoriasis eran positivas para ki67, en el caso de la psoriasis palmoplantar el porcentaje descendía al 38%. Estas diferencias, junto a las encontradas en la expresión de otras proteínas ya comentadas (CDK2, ciclina E, ciclina A) lleva a plantearnos la existencia de variaciones en la patogénica. Resulta paradójico que la proliferación epidérmica sea menor en la psoriasis palmoplantar. Comparando el grupo psoriasis con eccema encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$; OR:7,093; IC 95%:2,507-20,088). Por el contrario, ki67 no marca diferencias significativas entre psoriasis palmoplantar y eccema.

7. Ciclina A

La progresión del ciclo celular está gobernada por una familia de quinasas (cdk: cyclin dependent kinases) cuyas actividades están reguladas por la unión a subunidades reguladoras llamadas ciclinas. Durante el ciclo celular se forman y se activan pares específicos de cdk y ciclinas. El par CDK1 junto con las ciclinas A y B gobierna la transición G2/M. Durante el ciclo celular los niveles de CDK permanecen relativamente constantes y los de las ciclinas fluctúan, activando de esta manera CDK específicas. La

ciclina A se acumula al inicio de la fase S, contribuyendo a la estimulación de la síntesis del DNA. Luego el nivel de la ciclina A permanece alto durante G2 y se degrada en la prometafase. La ciclina A comienza a ser sintetizada durante la transición G1/S y se expresa por células que han entrado en las fases S y G2.

La ciclina A se expresa de forma llamativa en muchos tipos de cánceres como el de mama, pulmón y algunas neoplasias hematológicas, con actividad proliferativa alta. La expresión elevada de la ciclina A se puede relacionar también con un peor pronóstico en estos tipos de neoplasias (228).

El estudio de la expresión de las ciclinas en psoriasis surgió de las limitaciones que presentaban los marcadores de proliferación celular empleados hasta entonces. En el caso de ki-67, se muestra positivo en todas las fases del ciclo incluyendo G1. No todas las células que han entrado en el ciclo celular progresan a mitosis. Como las transiciones críticas entre fases del ciclo celular están reguladas por la activación secuencial de los complejos ciclina-CDK, la expresión de estas ciclinas parece representar de forma más específica y a la vez diferencial las células en ciclo. En un estudio sobre la expresión de la ciclina A antes y después de la administración de ciclosporina, se mostraba como antes de la terapia los núcleos positivos se encontraban de forma más marcada en capa basal y suprabasal (229), y como después del tratamiento con ciclosporina la positividad únicamente se mantenía en capa basal. Estos autores encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la piel con psoriasis, piel normal y después del tratamiento con ciclosporina. Sin embargo, en el mismo estudio, la ciclina D1 no se expresaba o lo hacía de forma débil en un pequeño porcentaje de núcleos en la psoriasis. En piel sana o después del tratamiento con ciclosporina la expresión de ciclina D1 era negativa (229). A la vista de estos resultados estos autores sugieren que la expresión de la ciclina A está más relacionada con la proliferación queratinocítica mientras que la de ciclina D1 con la carcinogénesis cutánea.

Consideran en consecuencia a ciclina A como marcador farmacodinámico de respuesta a terapia, es decir, marcador inmunohistoquímico de proliferación y diferenciación epidérmica anormal junto a ki-67 y ciclina B. Algunos autores, empleando como terapia radiación UVB de banda estrecha (230), encuentran una disminución de la expresión de ciclina A después del tratamiento.

Nuestro estudio coincide con la literatura que en la psoriasis existe una expresión elevada de ciclina A en capa basal y suprabasal, hallando diferencias estadísticamente significativas con el grupo control ($p < 0,001$; OR: 3,327; IC: 95%: 1,606-6,895). De acuerdo con la búsqueda bibliográfica realizada, es la primera vez que se estudia la ciclina A en psoriasis y se compara no con piel sana, sino con piel con diferentes enfermedades inflamatorias cutáneas. También de forma pionera encontramos diferencias significativas comparando los casos de psoriasis palmoplantar con el resto de psoriasis, con una menor expresión de ciclina A en este subtipo de psoriasis ($p: 0,005$; OR: 5,850; IC 95%: 1,563-21,894). Considerando la ciclina A como marcador de diferenciación y proliferación epidérmica, estos resultados podrían sugerir una menor proliferación y diferenciación epidérmica en la psoriasis palmoplantar, lo que contrasta con la hiperqueratosis tan llamativa que suelen presentar estos pacientes. Estos datos apoyan la hipótesis de que existan diferencias en la patogenia de la psoriasis y la psoriasis palmoplantar. No encontramos diferencias en cuanto a la expresión de ciclina A entre psoriasis palmoplantar y eccema.

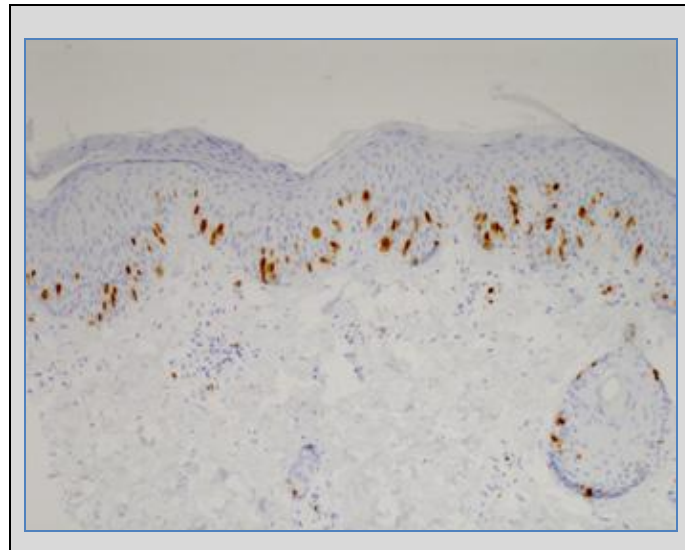


Figura 43.- Tinción nuclear de Ciclina A con predominio en capa basal y suprabasal. Ejemplo de positividad en el grupo casos.

8. CDK1

La quinasa dependiente de ciclina 1, también conocida como Cdk1 o Cdc2 (de sus siglas en inglés “*cell división control protein 2 homolog*”), es una proteína pequeña (de aproximadamente unos 34 kDa), altamente conservada que funciona como una serina/treonina quinasa, y juega un papel clave en la regulación del ciclo celular. Esta proteína ha sido muy estudiada en las levaduras *S. cerevisiae* y *S. pombe*, dónde es codificada por los genes *cdc28* y *cdc2*, respectivamente (231).

En humanos, Cdk1 es codificada por el gen *Cdc2*, y comparte una identidad en su secuencia de aminoácidos de aproximadamente 60-65% con respecto a la proteína de la levadura. Junto al resto de ciclinas, Cdk1 forma un complejo que fosforila numerosos y diversos sustratos diana. La fosforilación de estas proteínas controla la progresión del ciclo celular. Entre las 1000-2000 proteínas quinasas humanas estimadas, la familia de las quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) ha destacado en su estudio por sus funciones celulares esenciales. Las quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) son una familia de proteínas involucradas en la regulación de la progresión en el ciclo celular y por lo tanto se consideran dianas muy atractivas en oncología. La regulación de las actividades de las CDKs se consigue mediante su asociación con sus ciclinas correspondientes y quinasas, fosfatasas e inhibidores específicos. Diferentes complejos de CDKs ejercen sus funciones en diferentes fases. El complejo CDK1/ciclina B controla la entrada en la fase M. Una llave reguladora de esta transición es CDK1, un factor intracelular universal que desencadena la transición G2/M en todos los organismos. Evidencias genéticas y bioquímicas han mostrado que CDK1 es la actividad primaria requerida para la entrada en mitosis de todas las células eucariotas. Existe una evidencia fuerte de que CDK1, sus sustratos y proteínas reguladoras son la diana de las alteraciones genéticas en muchas neoplasias humanas (232). La sobreexposición de CDK1 y CDK4 se ha demostrado en una gran variedad de tumores (233-34). Algunos autores consideran a CDK1 como el modulador máster en el proceso de iniciación y transición a través de mitosis del ciclo celular (235). Estudios previos han demostrado que la pérdida de actividad de CDK1 o su expresión aberrante conllevan a la detención del desarrollo de muchos tumores en G2, validando su diana terapéutica. Por lo tanto surge un interés en la búsqueda de potentes inhibidores de

CDK1 para su uso como agentes quimioterapéuticos efectivos. El desarrollo de pequeñas moléculas inhibidoras de CDK como terapia anticancerígena ha sido la meta de muchas compañías farmacéuticas con esfuerzos intensos en el descubrimiento de nuevas drogas. Varios inhibidores de CDK están actualmente en ensayos clínicos (236). Además existen numerosos candidatos en desarrollo preclínico (237). Indirubina, el constituyente activo de la medicina tradicional china antileucemia, es el primer ejemplo del uso de un inhibidor de CDK en el tratamiento del cáncer humano (238).

La proliferación celular excesiva es un sello distintivo del cáncer pero también de otras entidades como la enfermedad vascular obstructiva y en el caso que nos ocupa la psoriasis. A lo largo de los años se han llevado a cabo esfuerzos importantes en el desarrollo de estrategias antiproliferativas basadas en la inactivación de CDKs, incluyendo el uso de inhibidores químicos sobre todo en el área oncológica y cardiovascular (239). Un número extenso de estudios realizados con una amplia variedad de tipos celulares confirman que los inhibidores de CDK tienen propiedades antiproliferativa (240). En general estos detienen la proliferación celular en G1 y al final de G2.

Pocos años separan el descubrimiento inicial de CDC2 (CDK1) in *Schizosaccharomyces pombe* por Nurse y Bisset (241) y su homólogo en humanos, el uso de CDK1/ciclina B como una diana enzimática, la identificación de varios inhibidores potentes y los primeros ensayos clínicos (242). Aunque inicialmente la búsqueda de inhibidores de CDK fue en el área oncológica, los primeros resultados revelaron varias propiedades interesantes de estas moléculas: detención específica del ciclo celular seguida por la inducción de la apoptosis, reversibilidad de los efectos en las células no tumorales, efectos independientes de p53 y Rb e interacción con proteínas multidrogas resistentes (243). De hecho en ratas, se ha visto como inhibidores de CDK previenen la alopecia inducida por quimioterapia (208). En el área cardiovascular, el enfoque antiproliferativo usado hasta ahora se focaliza en la reestenosis y la aterosclerosis del injerto. Estas entidades son la limitación mayor de la revascularización cuando se realizan angioplastias o bypass (239).

Distintos autores han sugerido que los inhibidores de CDK1 además de en oncología pueden presentar interés en otras áreas como la cardiovascular (reestenosis), dermatología (psoriasis, alopecia), nefrología (glomerulonefritis), parasitología

(parásitos unicelulares como Plasmodium, Tripanosoma, Toxoplasma, etc.), neurología (enfermedad de Alzheimer), oftalmología (retinopatía) (244), e infecciones víricas (citomegalovirus, VIH y herpes) (245).

No encontramos en la literatura estudios sobre la expresión inmunohistoquímica de CDK1 en psoriasis u otras enfermedades cutáneas. Como podría esperarse del estado hiperproliferativo de la psoriasis, la proteína CDK1 se encontraba sobreexpresada de forma estadísticamente significativa en comparación con el grupo control (p: 0,018; OR: 2,611; IC 95%: 1,167-5,841). Sin embargo esta proteína no mostró diferencias entre psoriasis y psoriasis palmoplantar, ni entre psoriasis palmoplantar y eccema.

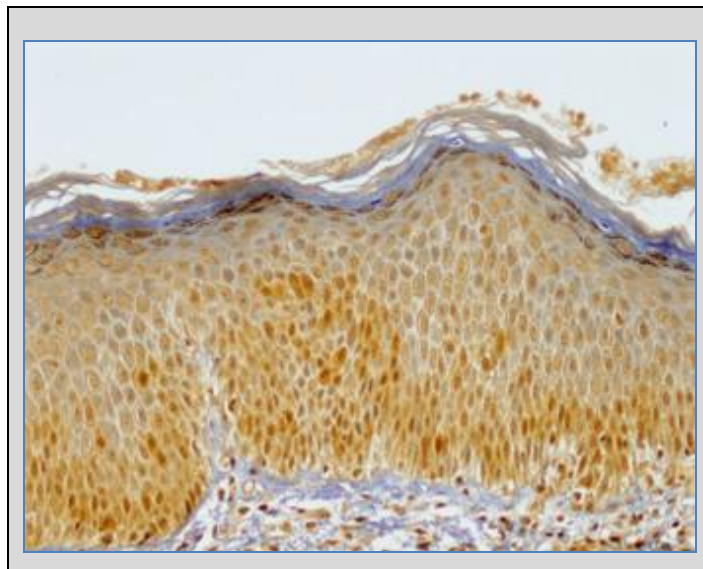


Figura 44.- Tinción nuclear de CDK1, ejemplo de positividad en el grupo de casos.

9. p21

p21 es una proteína que junto a p27 y p57 constituyen la familia “Cip/Kip” de inhibidores de kinasas. Esta nucleoproteína fue inicialmente caracterizada por su capacidad de ser regulada transcripcionalmente por p53 y por su capacidad de mediar el cese de crecimiento uniéndose a kinasas dependientes de ciclinas. Factores de

crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento epidérmico puede inducir p21. Dado el hecho que el factor de crecimiento epidérmico está alterado en la epidermis psoriásica, cabe esperar una alteración de esta proteína con un patrón inmunohistoquímico diferente a otras patologías.

Healy y cols. hallaron un aumento significativo de p21 en placas psoriásicas no tratadas comparando con piel no afectada, con un patrón de aumento de expresión de esta proteína en capas suprabasales predominantemente (246). Estos autores además consiguieron inducir la expresión de p21 en piel mediante la aplicación de ditranol en oclusión, que es capaz de producir hiperproliferación epidérmica. Usando una combinación de inmunohistoquímica e hibridación in situ, encontraron una mayor expresión de p21 en placas psoriásicas en comparación con piel normal y piel aparentemente sana en enfermos con psoriasis. Además consiguieron inducir una expresión de p21 mediante la aplicación de irritantes como el ditranol y la oclusión con cinta adhesiva. La expresión de p21 en las lesiones con psoriasis se observó principalmente en las capas suprabasales. Estos resultados son compatibles con la implicación de p21 en la diferenciación de los queratinocitos. Sin embargo, en contraste con la expresión incrementada de p21 de localización suprabasal en lesiones de psoriasis, después de la oclusión con cinta adhesiva, la expresión de p21 se observó en todo el grosor epidérmico. Estos hallazgos hacen sugerir a sus autores la posibilidad de que p21 juegue otra función dentro de la epidermis, además de la diferenciación terminal queratinocítica.

En nuestra muestra coincidiendo con estudios previos encontramos un patrón de expresión inmunohistoquímica con tinción nuclear de p21 de predominio suprabasal en los casos con psoriasis. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al patrón de expresión entre el grupo psoriasis y el grupo control ($p: 0,003$; OR: 0,190; IC 95%: 0,059-0,609). El grupo control mostraba expresión de p21 en todo el grosor epidérmico, mientras que en la psoriasis la expresión de p21 era fundamentalmente suprabasal. La expresión de p21 no mostró diferencias a la hora de comparar los subgrupos psoriasis y eccema, psoriasis palmoplantar y eccema, y tampoco entre psoriasis y psoriasis palmoplantar.

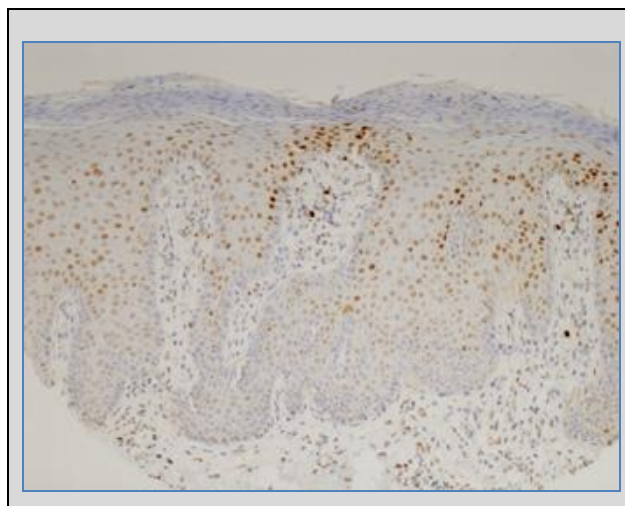


Figura 45.- En nuestro estudio, la expresión de p21 se localizaba en queratinocitos suprabasales, respetando capa basal con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo de casos.

La sobreexpresión de p21 puede ocurrir de dos formas, dependiente o independientemente de p53 (247). Debido a que hasta el momento no se han podido estudiar células nulas para p53 en psoriasis, no es posible determinar si la sobreexpresión de p21 en psoriasis ocurre de forma dependiente e independiente a p53. Basándose en sus resultados estos autores sugieren que se trata de la forma independiente. En primer lugar, la expresión de p53 que hallaron fue poco significativa, así como el mRNA. Y en segundo lugar, los patrones de expresión inmunohistoquímica en la epidermis fueron diferentes: p21 se detectó de forma suprabasal mientras la tinción como p53 fue mayor en estratos más inferiores. Corroborando estos hallazgos en nuestras muestras con psoriasis el patrón de expresión de p21 ($p: 0,003$; $OR:0,190$; $IC\ 95\%:0,059-0,0609$), era suprabasal mientras que la tinción con p53 alcanzaba capas más inferiores. Ambas proteínas mostraron una relación inversa con la psoriasis de forma significativa, con mayor expresión en el grupo control formado por lupus eritematoso, pitiriasis liquenoide crónica, eccema y pitiriasis rosada. Además, como ya se ha comentado con anterioridad, de las 11 proteínas estudiadas, p21 y p53 se sobreexpresan de forma significativa en zonas fotoexpuestas.

La expresión aumentada de p21 no es específica de la epidermis psoriásica; la sobreexpresión de p21 también ocurre en piel humana después de la aplicación de ditranol, SDS (dodecilsulfato sódico). Ambas sustancias provocan proliferación

epidérmica. La inducción de p21 también se hizo evidente después de la oclusión con cinta adhesiva, lo que se considera un estímulo de proliferación (246). El hecho de observar aumento de expresión de p21 después de 4 horas con oclusión con cinta adhesiva, es decir, en un tiempo que precede cualquier aumento de la proliferación, hace pensar que esta proteína no es un simple acompañante de cualquier estado hiperproliferativo. Nuestros hallazgos de una expresión aumentada en patología cutánea no hiperproliferativa apoya esta hipótesis. Se precisarán investigaciones empleando modelos genéticos para intentar dilucidar el papel causal de p21 en la diferenciación epidérmica e intentar determinar si p21 puede ser una diana terapéutica en psoriasis.

10.p53

El control del crecimiento celular es un proceso equilibrado delicadamente, regulado por señales externas o por el programa genético interno de la célula individual. En la psoriasis estos procesos están alterados y se sospecha la existencia de genes p53 como candidatos implicados en su patogenia. La proteína p53 es esencial para la regulación de la proliferación celular. Cuando el DNA es dañado, esta proteína se activa, lo que conlleva la detención del ciclo celular en la fase G1 o G2, y en el caso de DNA irreparable, se inicia la apoptosis.

El gen supresor de tumores p53, que codifica una proteína de 53-kDa llamada p53 normal (wild type), juega un papel importante en el control del ciclo celular. En estados fisiológicos como resultado de una vida media corta (20-30 minutos), la concentración de la proteína está normalmente por debajo del nivel de detección mediante métodos inmunohistoquímicos (218). Se ha descrito que la piel normal no expresa p53 (150), aunque un estudio observó una sobreexpresión de p53 en piel normal fotoexpuesta (248).

La acumulación de la proteína p53 puede ser detectada inmunohistoquímicamente (150). Hasta el momento, la expresión cutánea de la proteína p53 se ha demostrado en tumores malignos (carcinoma basocelular, melanoma maligno, carcinoma sebáceo de vulva), lesiones premalignas (enfermedad de Bowen, queratosis solares y queratoacantoma) y enfermedades benignas (artritis reumatoide, adenoma

plemórfico, liquen plano, verruga vulgar, liquen simple crónico, condiloma acuminado, lupus eritematoso), y psoriasis (150, 156, 249-255).

Es probable que la proliferación de queratinocitos en epidermis normal se regule por apoptosis celular con el fin de mantener un grosor epidérmico constante. Se ha sugerido que la hiperplasia epidérmica característica de la psoriasis es debida a una expresión aberrante epidérmica de las proteínas apoptóticas que conlleva a una supresión del proceso de la apoptosis. La apoptosis se controla genéticamente y la p53 juega un papel central en su regulación. La proteína p53 actúa como un potente supresor del crecimiento celular y se regula en respuesta a una gran variedad de agentes que causan daño en el DNA.

La primera publicación sobre p53 y psoriasis apareció en 1989, cuando Tadini y col. (249) informaron sobre la expresión nuclear de p53 en piel psoriásica. Inicialmente, Tadini y col. especularon que las alteraciones primarias en el ciclo celular en la psoriasis eran muy similares a las alteraciones observadas en la transformación neoplásica e investigaron la actividad de oncogenes como la p53 en lesiones psoriásicas. Estos autores observaron la expresión de p53 mediante análisis inmunohistoquímico en la piel psoriásica, concluyendo que esta expresión de p53 estaba relacionada no solo con los procesos neoplásicos sino también con condiciones hiperproliferativas como se dan en la psoriasis (249). Esta sobreexpresión de p53 en la psoriasis se explicaría como una reacción fisiológica a la hiperproliferación. Después de estos hallazgos, muchos estudios incluyeron el análisis de p53 obteniendo resultados contradictorios (tabla 80) (150, 156, 218, 246, 249, 254, 256-261). Unos cuantos años después, Moles et al. (258) usaron anticuerpos similares pero no encontraron células positivas p53 ni en biopsias de piel lesionada ni en piel no lesionada efectuadas a pacientes psoriásicos. Posteriores estudios desarrollados por Helander et al. (256), Soini et al. (150) y Hannuksela-Svahn et al. (218) confirmaron la presencia de queratinocitos positivos p53 en epidermis psoriásica. En el último estudio de Batinac et al. (156) examinaron la expresión de p53 en piel psoriásica lesionada, piel normal y ejemplos de piel de enfermedades neoplásicas (carcinoma de células basales y carcinoma de células escamosas). Estos autores detectaron inmunoreactividad de p53 en la epidermis de piel psoriásica en las capas basales y suprabasales, y únicamente en la capa basal en piel normal. Sin embargo, la diferencia en la expresión de p53 no fue significativa. En los carcinomas

(carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas), la expresión de p53 fue fuertemente significativa.

Una investigación de la expresión de la p53 en lesiones de piel no tumorigénicas, pre-tumorigénicas y tumorigénicas fue desarrollada por Hussein et al. (254). Estos autores describieron la presencia de células positivas p53 en piel psoriásica y piel normal, con una expresión fuerte estadísticamente en piel lesionada.

En resumen, cómo queda reflejado en la tabla 80, la mayoría de los estudios describen una expresión más llamativa de p53 en piel con psoriasis comparada con piel no lesionada (218, 246, 260). Distintos autores han sugerido que la expresión de p53 en piel psoriásica ocurría como una reacción fisiológica de la p53 contrarrestando la rápida proliferación e iniciando la reparación de las posibles mutaciones del DNA en el tejido proliferante (156, 218, 254). Señalaban además que la expresión de p53 podía asociarse con apoptosis y el papel del daño del DNA por exposición a radiación ultravioleta, una modalidad terapéutica comúnmente empleada (150). En un artículo publicado por Hussein et cols. (254), se dice que sin embargo, debemos tener en mente que la detección de la proteína p53 no implica necesariamente la existencia de una mutación del gen, sino que puede también indicar una desregulación de su expresión. Recientemente, los queratinocitos dentro de las placas de psoriasis, fueron comparados con queratinocitos senescentes que también expresaban p53, la cual no estaba fosforilada o acetilada, indicativo de inactivación funcional. También, mientras podía esperarse que la expresión de bcl-2 pudiera ser inversamente proporcional a la p53 funcional, se demostró que hay una correlación positiva entre bcl-2 y la expresión de p53 en piel psoriásica. Por lo tanto, otra posible explicación podría ser la presencia de p53 disfuncional en piel psoriásica.

En nuestro estudio, la expresión de p53 se localizaba en queratinocitos basales y suprabasales con patrón de tinción nuclear, como se describe en la mayoría de los estudios (218, 249, 262), a diferencia de lo observado por Helander y col. (256) que describen un patrón citoplasmático.

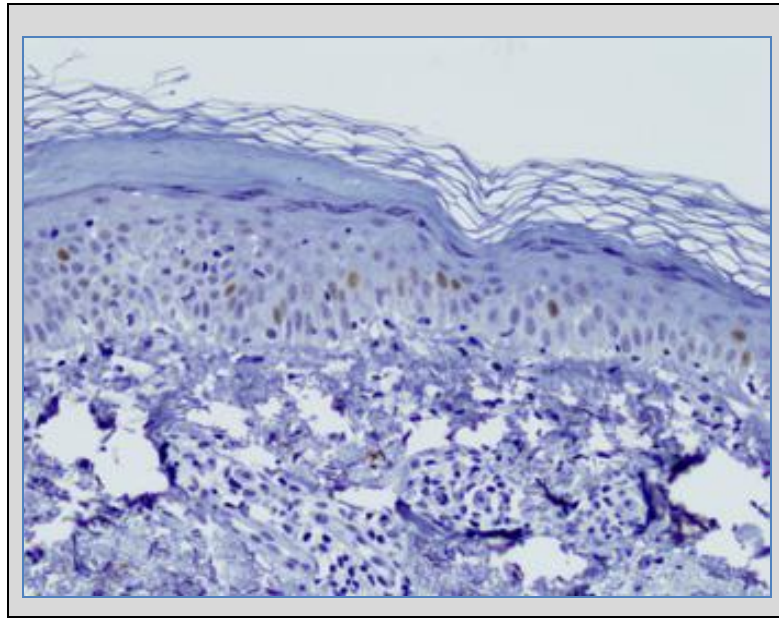


Figura 46.- En nuestro estudio, la expresión de p53 se localizaba en queratinocitos basales y suprabasales con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo de control.

Como se ha comentado anteriormente, la expresión de p53 se ha relacionado previamente con la exposición solar (262). En nuestro estudio comparando piel expuesta y no, encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) en la expresión de p53, con una mayor expresión de esta proteína en el subgrupo de biopsias tomadas en una zona corporal fotoexpuesta, entendiéndose por ello las siguientes localizaciones: cara, cuello, escote, antebrazo y dorso de manos. De las 11 proteínas estudiadas, sólo p21 junto a p53 mostraron esta tendencia a sobreexpresarse en áreas expuestas. En el caso de p53 parece explicarse como modo de corregir aquellos errores que se van acumulando en el DNA por las radiaciones ultravioletas. Sería muy interesante poder comparar la piel lesionada psoriásica en áreas fotoexpuestas o bien en pacientes que han recibido PUVA o UVB con piel psoriásica sin fotoexposición. En nuestra muestra no fue posible por el escaso número de biopsias dentro del grupo de psoriasis de piel expuesta (3:4,1%). Si la expresión de p53 se modifica por la exposición solar o por los tratamientos con luz ultravioleta en los pacientes con psoriasis, cabe pensar que hasta que se diluciden los mecanismos exactos de su acumulación, esta proteína dista de ser una herramienta práctica en el diagnóstico de psoriasis.

A parte de estar relacionada con la luz solar, p53 se ve influenciada con la edad del paciente (262). En nuestro estudio el factor edad mostró una tendencia a la expresión de

p53 en mayores de 40 años (59,7%) respecto a los menores de 40 (46,4%), pero no era estadísticamente significativo ($p=0,134$).

Otro factor a tener en cuenta es la diferencia entre psoriasis crónica y aguda. Existen indicios de una mayor asociación de una expresión incrementada de p53 en el caso de psoriasis crónica que en la aguda (262). Esto puede indicar una diferencia en el mecanismo entre la psoriasis crónica en placas y la psoriasis guttata. O bien este resultado podría reflejar el curso cronológico de transición de la enfermedad de aguda a crónica. En nuestro estudio no encontramos referencias estadísticamente significativas al comparar la expresión de p53 en psoriasis agudo y crónico, aunque sí se observó una mayor expresión de esta proteína en la psoriasis crónica (51,2%) respecto a la aguda (25%).

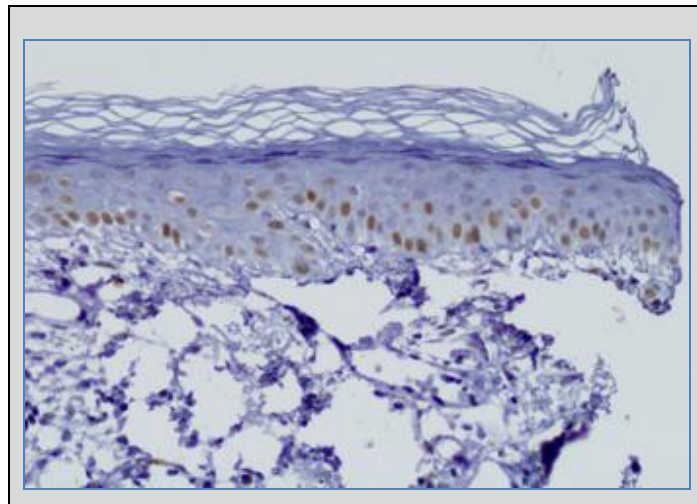


Figura 47.- En nuestro estudio, la expresión de p53 se localizaba en queratinocitos basales y suprabasales con patrón de tinción nuclear. Ejemplo de positividad en el grupo control.

Nuestro estudio compara por primera vez la expresión inmunohistoquímica de p53 en pacientes con psoriasis y con otras enfermedades inflamatorias cutáneas (eccema, lupus eritematoso, pitiriasis rosada, pitiriasis liquenoide), encontrando diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, con una mayor expresión de la proteína en el grupo control (no psoriasis) ($p:0,006$; OR:0,117; IC 95%; 0,025-0,554). Hasta este momento las comparaciones eran entre psoriasis con piel normal, piel lesionada psoriásica con piel no lesionada. No encontramos diferencias significativas entre el subgrupo psoriasis y psoriasis palmoplantar. Sin embargo se

observa una mayor expresión de p53 en las biopsias de eccema comparadas con las de psoriasis palmoplantar (p: 0,001; OR: 0,305; IC 95%; 0,147-0,633) y también si comparamos eccema con el grupo psoriasis (p:0,030; OR:0,311; IC 95%:0,112-0,867). Cabe destacar que dentro del grupo control, todas las biopsias con diagnóstico de lupus eritematoso (149) mostraron positividad para p53. Coincide por las características de esta enfermedad inflamatoria multisistémica que estas muestras son todas de zonas fotoexpuestas. Por lo tanto cabe plantearse si la expresión de p53 en el lupus eritematoso es debida al efecto de la luz solar ya la respuesta celular a esta agresión, o bien a la propia etiopatogenia de la enfermedad con alteraciones en la apoptosis celular. Está bien establecido que la protección solar es una parte vital del tratamiento de los enfermos con lupus eritematoso, pudiendo desencadenar la exposición solar la afección a nivel sistémico (263). Además un estudio reciente aporta evidencias de la implicación de una isomorfa de p53 en el desarrollo de enfermedades autoinmunes como es el lupus eritematoso (264).

Como se deduce de nuestro estudio y de los comentados, la proteína p53 es un importante marcador del ciclo de las células activas en psoriasis. Nuevos descubrimientos ponen en evidencia que el tiempo del ciclo celular en psoriasis es normal y sólo un aumento de la contratación de células epidérmicas es responsable para el desarrollo de las lesiones de psoriasis (265). Nuevas teorías han sido publicadas (266, 267), concernientes a la responsabilidad de los factores que dañan el DNA en los queratinocitos, que parecen ser diferentes en este caso a los de otras células del cuerpo humano. Mecanismos únicos son esenciales para que los queratinocitos preserven la homeostasis cutánea y mantengan la integridad estructural de la piel como una barrera entre el organismo y el entorno. Nuestros resultados muestran que el ciclo celular está perturbado en la epidermis psoriásica pero se necesitan más estudios para determinar definitivamente las bases moleculares de la regulación del ciclo celular en células epidérmicas, y continuar ampliando nuestro conocimiento de la patogénesis de la psoriasis.

<i>AUTOR</i>	<i>NÚMERO PACIENTES</i>	<i>LOCALIZACIÓN DE LA BIOPSIA</i>	<i>MÉTODO Y ANTICUERPO</i>	<i>TASA DE EXPRESIÓN DE p53</i>
Tadini et al. 1989	No indicado	Piel con psoriasis en placas	Inmunohistoquímica (PAb 421, PAb 1801)	No indicado
Helander et al. 1993	6	Piel psoriásica	Inmunohistoquímica (Mab240, Mab1801, Mab421)	0%
Moles et al. 1993	12	Piel psoriásica	Inmunohistoquímica (Po Ab CM1, Mo Ab DO7, Mo Ab 1801)	0%
Barr et al. 1995	9	Piel con psoriasis en placas	Inmunohistoquímica (anticuerpo monoclonal)	No indicado
Schmid et al. 1993	4	Piel con lesiones en placas (n=3), lesiones en gotas (n=1) y piel sin lesiones	Hibridación in situ	100%
Soini et al. 1994	20	Piel con psoriasis en placas	Inmunohistoquímica (PoAb CM1)	No indicado
Healy et al. 1995	13	Piel con lesiones psoriásicas en placas y piel sin lesiones	Inmunohistoquímica (Mo Abs DO7)	No indicado
Michel et al. 1996	3	Piel con lesiones psoriásicas y piel saludable sin lesiones	Inmunohistoquímica (Mo Abs DO1 RT-PCR)	Piel lesionada 10-88%, piel sana 100%
Hannuksela-Svahn et al. 1999	23	Piel con lesiones psoriásicas y piel sin lesiones antes y después de la terapia con PUVA.	Inmunohistoquímica (Mo Abs DO7, Mo Abs PAb 240)	100% en lesiones antes de la terapia con PUVA (los resultados de dos casos no fueron registrados)
Bianchi et al. 2003	10	Piel con psoriasis en placas	Inmunohistoquímica (Mo Abs DO7)	No indicado
Hussein et al. 2004	13	Piel con lesiones psoriásicas	Inmunohistoquímica (clone DO1)	No indicado
Batinac et al. 2004	30	Piel con lesiones psoriásicas	Inmunohistoquímica – Mo Abs DO7	46,7%
Yazici et al. 2007	39	Lesiones psoriásicas en placas (n=24), lesiones psoriásicas en gotas (n=8), piel sin lesiones y sitios expuestos al sol (n=7)	Inmunohistoquímica (Mo Ab BP-53)	Lesiones en placas 96%, lesiones en gotas 75%, piel sin lesiones 37,5%, piel fotoexpuesta 100%
Moetaz y col. 2007	10	Piel sin lesiones y piel lesionada de pacientes con psoriasis generalizada en placas, antes y después del tratamiento con calcipotriol	Técnicas de inmunoperoxidasa y células apoptóticas mediante el TdT y el método del TUNEL	Piel con lesiones 1-10%, piel sin lesiones 0%
Moetaz y col.	30	Piel lesionada y piel sin lesiones de pacientes con psoriasis en placas generalizada	Inmunohistoquímica (M1581, sistema de detección K0673). Para la detección de células apoptóticas, se uso la técnica del TUNEL.	Piel lesionada 10-50%, piel sin lesiones 0%.

Tabla 80.- Tabla resumen de los estudios con p53 en psoriasis.

11. Ciclina D1

La ciclina D1 específica de G1/S es una proteína que es codificada en humanos por el gen CCND1 (245, 268). Esta proteína pertenece a una familia de ciclinas muy conservadas, cuyos miembros se caracterizan por incrementar drásticamente y a intervalos su concentración a lo largo del ciclo celular. Las ciclinas funcionan como reguladores de las quinasas dependientes de ciclinas o Cdks. Diferentes ciclinas muestran patrones de expresión y de degradación que contribuyen a la coordinación temporal de cada evento de la mitosis. La ciclina D1 actúa como subunidad reguladora de un complejo formado con Cdk4 o Cdk6 y su actividad es necesaria para la transición G1/S del ciclo celular. Además, esta proteína también ha demostrado ser capaz de interactuar con Rb (proteína del retinoblastoma), que es capaz de regular positivamente la expresión de la ciclina D1. Se han observado mutaciones, amplificaciones y sobre-expresiones de este gen que alteran la progresión del ciclo celular, en diversos tipos de tumores, con lo que podría contribuir en el proceso de tumorigénesis.

Como otras ciclinas, la ciclina D1 está implicada en el favorecimiento de la progresión del ciclo celular alcanzando su pico durante la fase G1, mientras que los niveles de CDK permanecen en su nivel regular. El complejo ciclina D1-CDK 4/6 fosforila la proteína del retinoblastoma (Rb) para liberar las células que están en fase G1 promocionando su entrada en la fase S. Este paso es inhibido por los inhibidores de quinasas dependientes de ciclinas (CDK1) tales como las proteínas p15, p16, p19, que interfieren de forma selectiva sobre el complejo ciclina D1-CDK 4/6. La ruta CDK1/ciclina D1/CDK 4/Rb es uno de los puntos control de la proliferación celular. Las alteraciones de esta ruta podrían promocionar la proliferación celular, aumentando la inestabilidad genómica y favoreciendo el desarrollo de células cancerígenas. Ciclina D1 se encuentra sobreexpresada en varios tumores humanos. Traslocaciones cromosómicas, amplificación de genes y disrupción del transporte y proteólisis intracelular normal son procesos que conllevan a la acumulación de ciclina D1 en los núcleos celulares tumorales y de forma más esporádica a la sobreexpresión de ciclina D1 en muchos tumores (199).

En general, el aumento en la expresión de ciclina D1 se asocia con un peor pronóstico en carcinoma de células escamosas de diferentes localizaciones como cáncer esofaríngeo, cabeza y cuello, pancreático, tiroides y pulmón (269-271). Sin embargo, en carcinoma cervical esta asociación no es tan clara porque la expresión de ciclina D1 se encuentra disminuida debido a la acción del virus HPV (272). El linfoma del manto (LM) es una proliferación maligna de linfocitos B de la zona del manto del folículo linfoide, que inmunofenotípicamente expresan CD5, antígenos pan-B (CD19, CD20, CD22 y CD24) y son por lo general CD23 negativos. Típicamente el LM presenta una alteración citogenética, la traslocación (11;14) (q13;q32) y menos comúnmente la t(11;22) (q13;q11), que involucra el rearrreglo del bcl-1 y se manifiesta por la sobreexposición de la ciclina D1. La ciclina D1 interviene en la regulación del ciclo celular durante la transición de fase G1 a S al cooperar con las quimasas dependientes de ciclina, su sobreexposición permite un mayor crecimiento de las células linfomatosas. Un estudio previo demostró que los LM ciclina D1+ tienen un curso clínico más agresivo, que los que no la sobreexpresan, lo cual tiene implicaciones pronósticas (273).

También encontramos estudios sobre la utilidad diagnóstica mediante tinción inmunohistoquímica con ciclina D1 en carcinomas foliculares tiroideos (274). Los carcinomas foliculares de tiroides corresponden al 15% de todos los tumores malignos tiroideos. El diagnóstico diferencial entre adenoma y carcinoma folicular mínimamente invasivo es difícil y carece de reproductibilidad, especialmente en secciones congeladas. Como el diagnóstico depende del hallazgo de focos con invasión capsular, múltiples secciones deben ser examinadas para determinar malignidad. Las neoplasias foliculares no permiten definir por citología su comportamiento biológico. Numerosos estudios no han arrojado un marcador confiable pues tienen falsos positivos por tiroiditis próxima al tumor. Con el fin de encontrar marcadores inmunohistoquímicos específicos que, evaluados sobre el tejido morfológicamente neoplásico permitan tipificar lesiones de curso maligno, se analizó la inmuoexpresión con ciclina D1 en 21 pacientes. En esta muestra la ciclina D1 demostró ser un marcador específico en cáncer tiroideo y no presentó falsos positivos. Sin embargo, su sensibilidad resultó baja, 22,2%. Por lo tanto, su utilidad es restringida para confirmar carcinoma en una biopsia diferida de compleja

interpretación y aplicar la técnica a una muestra obtenida por punción no permite seleccionar pacientes que pudieran evitarse la cirugía (216).

En el estudio ya comentado en la discusión de ciclina E, Mate y colaboradores (201) estudian además la inmunoexpresión de la ciclina D1 en 38 casos de condilomas acuminados y 15 de piel psoriásica. Estos autores encuentran una positividad que describen como débil en los estratos parabasales de todas las lesiones psoriásicas. Los casos de condilomas acuminados así como la piel normal resultaron negativos.

En un estudio sobre la expresión de ciclina D1 antes y después de la administración de ciclosporina para tratamiento de la psoriasis se constata que la ciclina D1 no se expresaba o lo hacía de forma débil en un pequeño porcentaje de núcleos en la psoriasis. En piel sana o después de tratamiento con ciclosporina, la expresión de ciclina D1 era negativa (229). A la vista de estos resultados estos autores sugieren que la expresión de la ciclina D1 no parece estar relacionada con la proliferación queratinocítica.

En un estudio reciente (275), se compara la concentración de ciclina D1 en psoriasis vulgar antes y después de tratamiento con fototerapia (24 sesiones) en 25 pacientes y 10 sujetos sanos. La concentración de ciclina D1 se analiza mediante mRNA extraído de las biopsias y la medición se realiza con un espectrofotómetro de 260 nm. Coincidiendo con estudios previos (276), los resultados se comparan con los obtenidos en los controles sanos. Después de la fototerapia observan una disminución significativa de la expresión de ciclina D1. A la luz de estos hallazgos los autores sugieren que la expresión aumentada de ciclina D1 en psoriasis vulgar puede jugar un papel en la patogénesis de la enfermedad. Su normalización después de fototerapia, junto a la normalización de otras proteínas como p16 puede ser parte del mecanismo mediante el cual este tratamiento induce remisión en la psoriasis. La disminución de ciclina D1 puede contribuir a la detención en G1 del ciclo celular para prevenir un mayor daño acumulativo del DNA celular. El mecanismo terapéutico de la radiación ultravioleta (UVR) en la psoriasis se ha atribuido a sus propiedades inmunosupresivas (277). Además la UVR tiene un efecto directo sobre los queratinocitos, y la detención del ciclo celular es un modo considerable de acción en la respuesta fototerapéutica de la psoriasis (278). La UVR puede conllevar una disminución de los niveles de la ciclina D1 pudiendo contribuir a la detención en G1 del ciclo celular después del daño del DNA.

En nuestra muestra, aparece una positividad en estratos parabasales, con diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control (otras enfermedades cutáneas) pero de forma inversa, es decir encontramos una mayor expresión de ciclina D1 en el grupo control que en la psoriasis (p: 0,013; OR: 0,331; IC 95%: 0,135-0,809). Los estudios previos analizan la expresión de esta ciclina en la psoriasis comparándola bien con piel normal, con psoriasis después de terapia (ciclosporina y fototerapia) o con condilomas acuminados. Nuestro estudio por primera vez compara la expresión de la ciclina D1 en psoriasis y entidades cutáneas que pueden plantear diagnóstico diferencial, encontrando una mayor expresión en estas últimas. Consideramos por tanto que esta proteína podría resultar de utilidad como herramienta para el diagnóstico en casos difíciles de psoriasis.

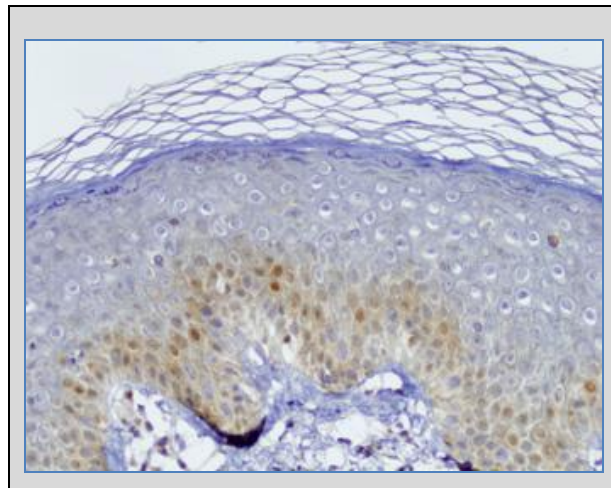


Figura 48.- Tinción nuclear de Ciclina D1 de predominio en capa basal. Ejemplo de positividad en grupo control.

12. bcl-2

Apoptosis es un proceso fisiológico de muerte celular programada responsable en el cuerpo humano de la homeostasis. En la piel, el proceso de la apoptosis regula la proliferación y la diferenciación queratinocítica manteniendo el equilibrio en el compartimento epidérmico. La apoptosis se controla mediante proteínas de la familia bcl-2, dentro de las cuales existen pro-apoptóticas (baz, bak, bad) y antiapoptóticas (bcl-

2 y bcl-x). Hoy en día se acepta que una apoptosis disfuncional juega un importante rol en varias enfermedades cutáneas. La psoriasis es una enfermedad cutánea inflamatoria caracterizada por una hiperproliferación y diferenciación anormal de los queratinocitos así como por una disminución de la apoptosis queratinocitaria. Parece probable que la apoptosis tenga un papel importante en la hiperproliferación epidérmica de la lesión psoriásica. En la piel psoriásica se ha observado un aumento de las proteínas antiapoptóticas así como una disminución de las proapoptóticas, demostrando así su significado en el desarrollo de la psoriasis (279).

Contrario a lo que cabía esperar, de las 11 estudiadas en nuestro estudio, bcl-2 fue la única que no mostró diferencias significativas entre el grupo casos y controles. Estos resultados indican que la apoptosis, al igual que en la psoriasis, puede tener también importancia en el desarrollo de lupus eritematoso, pitiriasis rosada, pitiriasis liquenoide y eccema. Al comparar el grupo psoriasis con la psoriasis palmoplantar ($p < 0,0001$; OR: 17,500; IC 95%: 3,367-90,955) sí comprobamos diferencias significativas con una mayor expresión en el grupo de psoriasis. También encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el grupo psoriasis y eccema ($p: 0,034$; OR: 3,231; IC 95%: 1,173-8,902).

13. La técnica de matrices tisulares-tissue microarrays en patología cutánea

Desde la primera descripción de la técnica por Kononen en 1998 (165) su utilización ha ido aumentando exponencialmente en el campo de la anatomía patológica con fines científicos. Representa una reducción tremenda de tiempo y trabajo y aumentará sustancialmente la capacidad de los laboratorios de Anatomía Patológica para realizar estudios de screening de nuevos marcadores en grandes series de casos. Schraml y cols. demostraron que los conocimientos contenidos en más de 100 trabajos publicados previamente podrían reproducirse en el periodo de una semana utilizando tan sólo tres tissue microarrays (173). Moch y cols. (167) tardaron menos de 3 días en realizar análisis inmunohistoquímicos de un marcador a 532 carcinomas de células renales. Richter y cols. (171) realizaron IHQ y FISH a 2.137 carcinomas uroteliales

vesicales para evaluar la expresión y amplificación de ciclina E. Ordenaron todos los casos en 5 bloques máster, y a pesar del gran número de muestras, la valoración de los resultados inmunohistoquímicos se realizó en pocas horas. Con métodos convencionales estos mismos estudios durarían meses o incluso años.

Debemos destacar en nuestro trabajo la excelente efectividad de la técnica de TMA. En el presente estudio hemos estudiado la expresión de 11 proteínas en 73 casos y 63 controles, lo que con la técnica convencional supondría un total de 1496 técnicas, con sus cortes y tinciones (figura 49). Con la estrategia de las matrices tisulares hemos realizado el estudio de los casos con la realización de sólo 22 técnicas, lo que supone una reducción en el empleo de recursos materiales del 98.4%, y una importante disminución del tiempo del personal técnico. Además, para un investigador es mucho más sencillo valorar en cada caso, dos cilindros de 1 mm. de diámetro, que un corte histológico completo.

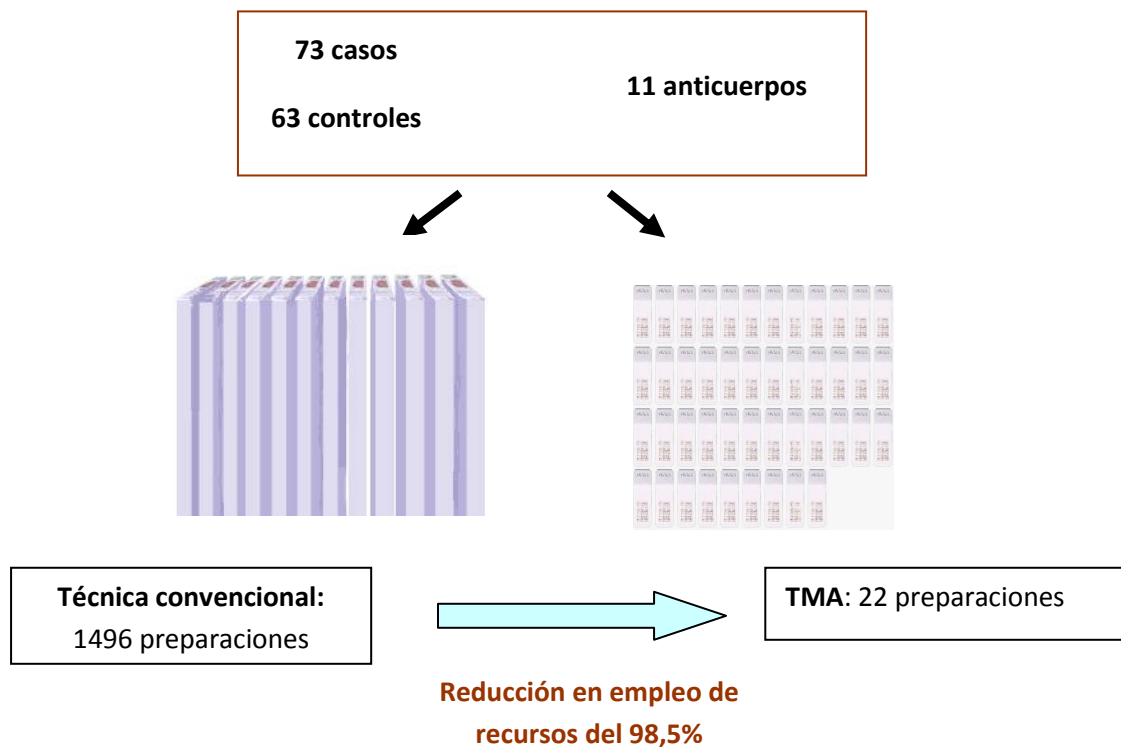


Figura 49.- Esquema que reproduce la disminución de recursos empleados con la técnica de tissue microarrays en el presente estudio.

Nuestro estudio es pionero en el empleo de la técnica de tissue microarrays en patología cutánea no tumoral. En la búsqueda bibliográfica realizada no hemos encontrado hasta la fecha publicaciones de estudios de expresión de proteínas del ciclo celular en psoriasis u otras dermatosis que utilicen dicha técnica.

En dermatología, se ha utilizado la técnica de tissue microarrays en el estudio de tumores cutáneos, predominando los estudios de expresión inmunohistoquímica sobre lesiones melanocitarias: melanoma maligno, metástasis de melanoma maligno, nevus melanocíticos y nevus de Spitz (178, 180-186).

Otros tumores cutáneos estudiados mediante esta técnica son: carcinoma espinocelular, carcinoma basocelular, carcinoma sebáceo, linfomas B cutáneos y sarcoma de Kaposi (187-192).

13.1. Ventajas de la metodología de los TMA

En conclusión, las ventajas que hemos encontrado en el uso de la metodología de los TMA son las siguientes:

- Posibilidad de estudiar una serie grande en una sola preparación.
- Todos los especímenes evaluados han tenido idénticas condiciones de procesamiento.
- Reducción tanto de los costes como del tiempo empleado en su realización y su evaluación.

En cuanto a las perspectivas futuras de esta técnica, la estrategia de combinar arrays de DNA y TMA es una herramienta muy útil para facilitar la traslación de nuevos hallazgos en biología molecular de modelos experimentales a especímenes clínicos. El futuro desarrollo de esta técnica deberá solventar algunos problemas en su realización tales como la captura de imágenes digitales y su automatización (280). Esta tecnología permitirá a los patólogos seguir teniendo un lugar privilegiado en la investigación mediante la aplicación de los avances más recientes en investigación básica al tejido con el que se enfrentan cada día.

14. Psoriasis y eccema crónico palmoplantar

Las propiedades anatómicas de la piel palmoplantar provocan variaciones en los rasgos morfológicos característicos de la psoriasis cuando se compara con otras áreas cutáneas afectadas. La piel palmoplantar es mucho más gruesa y posee un estrato espinuloso más denso. Además, existe un mayor riesgo de exposición de la piel palmoplantar a influencias medioambientales tanto mecánicas como químicas (281). Por lo tanto el diagnóstico diferencial de psoriasis que afecta la piel palmoplantar, sin ser psoriasis pustuloso palmoplantar, puede ser problemático o incluso imposible para los dermatatólogos que incluyen en su diagnóstico diferencial principalmente dermatitis eccematosas como la dermatitis atópica, dermatitis de contacto alérgica, eccema dishidrótico, eccema numular, etc.

Ambas entidades, la psoriasis y el eccema pueden afectar palmas y plantas, incluso de forma exclusiva. En ausencia de otras lesiones en localizaciones anatómicas típicas, como la superficie de extensión de las extremidades que caracteriza a la psoriasis, el diagnóstico diferencial supone un reto. El diagnóstico diferencial entre estas dos entidades se puede complicar más por el efecto de ciertos fármacos empleados en el tratamiento así como la posibilidad de la superposición de una dermatitis de contacto en pacientes con psoriasis (282-284).

Los rasgos histopatológicos característicos de la psoriasis más aceptados son: montículos de paraqueratosis o paraqueratosis confluyente, disminución o pérdida de la capa granular, hiperplasia epidérmica psoriasiforme con crestas interpapilares de igual longitud, adelgazamiento suprapapilar, pústulas espongiiformes en partes altas de la epidermis, capilares dilatados y tortuosos y edema en dermis papilar (99, 285).

También está establecido por Ackerman y cols. que los rasgos histológicos que ayudan a diferenciar una dermatitis eccematosa de una psoriasis son la presencia de una capa granular intacta, espongiosis en ocasiones evolucionando a vesiculación e hiperplasia epidérmica irregular (286). Adelgazamiento suprapapilar y capilares tortuosos en dermis papilar son dos rasgos histopatológicos que no se espera encontrar en una dermatitis eccematosa. La presencia de eosinófilos va siempre a favor de una dermatitis eccematosa. Sin embargo, la psoriasis de palmas y plantas parece distinguirse de la de otras localizaciones. La espongiosis, normalmente detectada en la mitad inferior

epidérmica, puede llegar a ser muy prominente pudiendo simular una dermatitis eccematosa. Pero los hallazgos histopatológicos de la psoriasis y el eccema palmoplantar pueden ser casi idénticos en ocasiones.

Según nuestro conocimiento, existen publicados pocos estudios histopatológicos enfocados en la psoriasis y el eccema de localización palmoplantar. Aydın y cols. estudiaron los rasgos histopatológicos de 17 pacientes con psoriasis palmoplantar y 25 con dermatitis eccematosa (287). Los resultados de este estudio se resumen en la tabla 81. En opinión de estos autores muchos rasgos histopatológicos de la psoriasis palmoplantar solapan con aquellos de la dermatitis eccematosa, es decir, con la dermatitis espongiiforme. La mayoría de las características histológicas de la psoriasis no ayudaban en el diagnóstico diferencial. El único rasgo con significación estadística a favor de la psoriasis palmoplantar fue la presencia de focos múltiples de paraqueratosis, localizados verticalmente, alternando con ortohiperqueratosis.

Table 1. The histologic features of palmoplantar psoriasis and eczematous dermatitis

Histologic features	Palmoplantar psoriasis (n = 17), n (%)	Eczematous dermatitis (n = 25), n (%)	p Values
Multiple foci of parakeratosis	12 (70.6)	11 (44)	0.089
Confluent parakeratosis	5 (29.4)	11 (44)	0.339
PNL* at the summits of parakeratosis	1 (5.9)	1 (4)	0.652
Only plasma in the parakeratotic foci	2 (11.8)	1 (4)	0.556
Plasma and PNL in the parakeratotic foci	16 (94.1)	20 (80)	0.374
Vertical alternation of parakeratosis and orthokeratosis	13 (76.5)	8 (32)	0.005
Loss of granular layer	7 (41.2)	9 (36)	0.735
Psoriasiform epidermal hyperplasia	15 (88.2)	20 (80)	0.681
Irregular epidermal hyperplasia	2 (11.8)	5 (20)	0.681
Thinning of rete ridges	9 (52.9)	13 (52)	0.952
Clubbing and anastomosing of the rete ridges	14 (82.4)	22 (88)	0.672
Full-thickness spongiosis	8 (47.1)	12 (48)	0.952
Spongiosis at the lower part of the epidermis	8 (47.1)	9 (36)	0.474
Spongiotic vesicle	13 (76.5)	15 (60)	0.226
Dyskeratotic cells	14 (82.4)	15 (60)	0.124
Thinning of the suprapapillary plates	10 (58.8)	10 (40)	0.231
Edema of the papillary dermis	5 (29.4)	3 (12)	0.235
Tortuous capillaries in the papillary dermis	9 (52.9)	11 (44)	0.569
Capillaries touching the undersurface of epidermis	15 (88.2)	24 (96)	0.556
Dilated capillaries in the papillary dermis	13 (76.5)	18 (72)	0.518
Extravasated erythrocytes	5 (29.4)	5 (20)	0.714
Collagen fibers parallel to rete ridges	15 (88.2)	23 (92)	0.538
Eosinophils in the upper dermis	2 (11.8)	3 (12)	0.693

*PNL, polymorphonuclear leukocytes.

Tabla 81.- Características histológicas de psoriasis palmoplantar y dermatitis eccematosa.

Cesinaro y cols. (288), lleva a cabo un estudio cuantitativo de las figuras histopatológicas así como los hallazgos inmunohistoquímicos en una serie de 42 biopsias de localización palmoplantar, donde el diagnóstico diferencial estaba entre psoriasis (22) y dermatitis de contacto alérgica (20). La dermatitis de contacto alérgica es una reacción celular idiosincrásica aguda o crónica hacia un alérgeno

medioambiental que se pone en contacto con la piel. Las lesiones crónicas consisten en placas descamativas que presentan liquenificación, signos de exoriación y eventualmente pigmentación. Se consideraba como diagnóstico gold estándar de psoriasis la presencia de otras lesiones clásicas con distribución típica. De los parámetros histopatológicos estudiados, la hiperplasia epidérmica regular fue el único que mostró diferencias estadísticamente significativas, siendo más frecuente en pacientes con psoriasis. Paraqueratosis, hipogranulosis y neutrófilos en capa córnea se detectaron con mayor frecuencia en pacientes con psoriasis que con dermatitis alérgica de contacto, pero sin significación estadística. En la tabla 82 se muestran las frecuencias halladas de los diez parámetros histopatológicos estudiados.

Table 1. Histopathologic features in 42 cutaneous biopsies from palms and soles (22 PSO cases and 20 ACD cases)

	PSO (%)	ACD (%)	
Amount of parakeratosis			
(focal)	2 (9.1)	5 (25.0)	NS
(moderate)	9 (40.9)	11 (55.0)	NS
(marked)	11 (50.0)	4 (20.0)	p = 0.05
Regular epidermal hyperplasia	15 (68.5)	7 (35.0)	p = 0.03
Irregular epidermal hyperplasia	7 (31.5)	13 (65.0)	
Thinning of granular layer	20 (90.9)	16 (80.0)	NS
Intracorneal neutrophils	10 (45.5)	7 (35.0)	NS
Spongiosis	17 (77.3)	19 (95.0)	NS
Presence of serum	18 (81.8)	19 (95.0)	NS
Vesicle formation	5 (22.7)	7 (35.0)	NS
Lymphocytic exocytosis	19 (86.4)	16 (80.0)	NS
Dermal eosinophils	19 (86.4)	18 (90.0)	NS
Dilated capillaries	5 (22.7)	6 (30.0)	NS

PSO, psoriasis; ACD, allergic contact dermatitis; NS, not significant.

Tabla 82.- Características histopatológicas en 42 biopsias cutáneas de palmas y plantas de los pies.

La tinción inmunohistoquímica mostró diferencias significativas con S100, que se expresaba más en dermatitis de contacto alérgica que en psoriasis. La distribución de linfocitos CD4 y CD8 también fue analizada, así como Mib-1 y bcl-2, pero no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, descartando así el posible uso de estos marcadores en el diagnóstico diferencial entre psoriasis palmoplantar y dermatitis alérgica de contacto. En nuestra serie tampoco encontramos diferencias significativas en la expresión de bcl-2 entre los grupos de psoriasis palmoplantar y eccema.

En estudios previos (289), el índice proliferativo de los queratinocitos, evaluado mediante la tinción inmunohistoquímica con ki67, mostraba un incremento de ki67 en

biopsias con psoriasis comparadas con piel normal (289), dermatitis atópica y liquen plano (290), y dermatitis espongiforme (291). En el estudio de Cesinaro y cols. (288) analizan el número de queratinocitos proliferando mediante la tinción con Mib-1, encontrando una mayor expresión en psoriasis palmoplantar que en dermatitis alérgica de contacto (DAC) pero la diferencia no alcanzaba significación estadística. Este dato contrasta con el aportado por Sweet y cols. (291) quienes sí encontraron una mayor proliferación queratinocítica en psoriasis. Una posible explicación para estas diferencias en estos 2 estudios es que estos autores comparaban biopsias de diferentes sitios anatómicos, no únicamente palmas y plantas.

En nuestro estudio tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en la proliferación queratinocítica (ki-67) entre psoriasis palmoplantar y eccema, corroborando los datos del estudio de Cesinaro y cols., lo que desmonta la hipótesis de que esta diferencia de hallazgos se deba a localizaciones palmoplantares ya que nuestros casos de eccema proceden de diferentes localizaciones anatómicas.

El dato más revelador del estudio de Cesinaro y cols. es el hallazgo de diferencias significativas en la tinción de células dendríticas mediante S100. En ambas entidades, psoriasis palmoplantar y eccema encuentran una mayor tinción comparándolas con piel normal, y en DAC comparándola con psoriasis de forma significativa. Por lo tanto concluyen que los dos datos clave para el diagnóstico diferencial de psoriasis palmoplantar y la DAC serían la hiperplasia epidérmica regular, que es un hallazgo a favor de la psoriasis y la expresión de S100, que va a favor de la DAC. Estos datos deberán ser corroborados por próximos estudios y su valor diagnóstico deberá ser evaluado teniendo en cuenta su especificidad y su sensibilidad.

En nuestro estudio comparando las 15 biopsias de psoriasis palmoplantar con las 26 de dermatitis eccematosa encontramos a favor del diagnóstico de psoriasis con significación estadística las siguientes características histopatológicas: hiperplasia epidérmica regular, hipogranulosis, neutrófilos en capa córnea, mitosis suprabasales, capilares dilatados en dermis papilar y atrofia suprapapilar. La espongirosis también se mostró como diferencia estadísticamente significativa, pero ésta a favor de dermatitis eccematosa. De las 11 proteínas del ciclo celular estudiadas, 2 mostraron significación estadística: p63 a favor de psoriasis palmoplantar, y p53 a favor de eccema. Sería muy interesante realizar el mismo estudio pero seleccionando únicamente dermatitis

eccematosas localizadas en palmas y plantas con el fin de ver si las diferencias observadas se deben a la diferente localización anatómica o si son debidas estrictamente a las propias entidades. Como primera aproximación encontramos interesantes estos resultados, ya que no hemos encontrado en la literatura estudios similares.

VI. Conclusiones

1. GENERALES

1. La psoriasis presenta patrones de expresión inmunohistoquímica de las proteínas del ciclo celular estudiadas diferentes a los de otras enfermedades inflamatorias cutáneas. En términos relativos, la psoriasis presenta una mayor expresión de p63, ciclina E, p27, CDK2, ki67, ciclina A y CDK1 respecto al grupo control. Por el contrario, las siguientes proteínas exhiben una menor expresión en la psoriasis respecto a las otras enfermedades inflamatorias cutáneas estudiadas: p21, p53 y ciclina D1. Estos hallazgos apoyan la teoría de la regulación anómala del ciclo celular en los queratinocitos de los pacientes con psoriasis.
2. Se hallaron diferencias estadísticamente significativas en seis proteínas reguladoras del ciclo celular (ciclina E, p63, ki67, CDK2, bcl-1 y p53), al comparar los subgrupos psoriasis con eccema. Cinco proteínas (CDK2, bcl-2, ciclina A, ki67 y ciclina E) mostraron diferencias significativas entre los subgrupos psoriasis y psoriasis palmoplantar. Dos proteínas (p63 y p53) exhibieron diferencias significativas entre los subgrupos psoriasis palmoplantar y eccema.
3. De entre todas las variables biológicas estudiadas, la expresión de p63 puede facilitar el diagnóstico de psoriasis en casos complicados. Es la proteína con mayor intensidad de asociación con el grupo psoriasis comparado con las otras enfermedades cutáneas, y discierne además entre psoriasis de localización palmoplantar y eccema.

2. METODOLÓGICAS

4. La técnica de matrices tisulares es una técnica barata, eficaz y sencilla para el análisis de expresión inmunohistoquímica de grandes series de casos. Permite una valoración conjunta de proteínas reguladoras del ciclo celular y su análisis global. Por primera vez se demuestra la gran utilidad de esta técnica en el área de las enfermedades inflamatorias cutáneas.

VII. Bibliografía

1. Rzany B, Naldi L, Schafer T, et al. The diagnosis of psoriasis: diagnostic criteria. *Br J Dermatol* 1998;138:917.
2. Icen M, Crowson CS, McEvoy MT, et al. Trends in incidence of adult-onset psoriasis over three decades: a population-based study. *J Am Acad Dermatol* 2009;60:394-401.
3. Bell LM, Sedlack R, Beard CM, et al. Incidence of psoriasis in Rochester, Minn, 1980-1983. *Arch Dermatol* 1991;127:1184-7.
4. Shbeeb M, Sunku J, Hunder G, et al. Incidence of psoriasis and psoriatic arthritis, a population based study. *Arthritis Rheum* 1995;38:S379.
5. Huerta C, Rivero E, Rodriguez LA. Incidence and risk factors for psoriasis in the general population. *Arch Dermatol* 2007;143:1559-65.
6. Kurd SK, Gelfand JM. The prevalence of previously diagnosed and undiagnosed psoriasis in US adults: results from NHANES 2003-2004. *J Am Acad Dermatol* 2009;60:218-24.
7. Gelfand JM, Weinstein R, Porter SB, et al. Prevalence and treatment of psoriasis in the United Kingdom: a population-based study. *Arch Dermatol* 2005;141(12):1537-41.
8. Naldi L. Epidemiology of psoriasis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2004;3:121-8.
9. Ferrandiz C, Pujol RM, Garcia-Patos V, et al. Psoriasis of early and late onset: a clinical and epidemiologic study from Spain. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:867-73.
10. Radtke MA, Reich K, Blome C, et al. Prevalence and clinical features of psoriatic arthritis and joint complaints in 2009 patients with psoriasis: results of a German national survey. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009;23:683-91.
11. Gladman DD, Mease PJ, Healy P, et al. Outcome measures in psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2007;34:1159-66.
12. Alamanos Y, Voulgari PV, Drosos AA. Incidence and prevalence of psoriatic arthritis: a systematic review. *J Rheumatol* 2008;35:1354-8.
13. Espinoza LR, Cuellar ML, Silveira LH. Psoriatic arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1992;4:470-8.
14. Golfieri R, Giampalma E, Tosti A, et al. [Psoriasis arthropathica. A review of the literature, general considerations and the authors' personal experience]. *Radiol Med* 1992;84:228-35.
15. Gisondi P, Girolomoni G, Sampogna F, et al. Prevalence of psoriatic arthritis and joint complaints in a large population of Italian patients hospitalised for psoriasis. *Eur J Dermatol* 2005;15:279-83.
16. Neiman AL, Porter SB, Gelfand JM. The epidemiology of psoriasis. *Expert Rev Dermatol* 2006;1(1):63-75.

17. Duffy DL, Spelman LS, Martin NG. Psoriasis in Australian twins. *J Am Acad Dermatol* 1993;29:428-34.
18. Braathen LR, Botten G, Bjerkedal T. Prevalence of psoriasis in Norway. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1989;142:5-8.
19. Lomholt G. Prevalence of skin diseases in a population: a census study from the Faroe Islands. *Dan Med Bull* 1964;11:1-7.
20. Green AC. Australian aborigines and psoriasis. *Australas J Dermatol* 1984;25:18-24.
21. Langley RG, Krueger GG, Griffiths CE. Psoriasis: epidemiology, clinical features, and quality of life. *Ann Rheum Dis* 2005;64 Suppl 2:ii18-ii23.
22. Yip SY. The prevalence of psoriasis in the Mongoloid race. *J Am Acad Dermatol* 1984;10(6):965-8.
23. Lindegard B. Diseases associated with psoriasis in a general population of 159,200 middle-aged, urban, native Swedes. *Dermatologica* 1986;172(6):289-304.
24. Koo J. Population-based epidemiologic study of psoriasis with emphasis on quality of life assessment. *Dermatol Clin* 1996;14(3):485-96.
25. Hellgren L. Psoriasis. A statistical, clinical and laboratory investigation of 255 psoriatics and matched healthy controls. *Acta Derm Venereol* 1964;44(3):191-207.
26. Stern RS, Nijsten T, Feldman SR, Margolis DJ, Rolstad T. Psoriasis in common, carries a substantial burden even when not extensive, and is associated with widespread treatment dissatisfaction. *J Invest Dermatol. Symp Proc* 2004;9(29):136-9.
27. Johnson MT, Roberts J. Skin conditions and related need for medical care among persons 1-74 years. United States, 1971-1974. *Vital Health Stat* 1978;11(212):1-72.
28. Kavli G, Forde OH, Arnesen E, Stenvold SE. Psoriasis: familial predisposition and environmental factors. *Br Med J* 1985;291(6501):999-1000.
29. Ferrandiz C, Bordas X, García-Patos V et al. Prevalence of psoriasis in Spain (Epiderma Project: Phase I). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001;15(1):20-3.
30. Braathen LR, Botten G, Bjerkedal T. Psoriatics in Norway. A questionnaire study on health status, contact with paramedical professions, and alcohol and tobacco consumption. *Acta Derm Venereol Suppl. (Stockh)* 1989;142:9-12.
31. Barisic--Drusko V, Paljan D, Kansky A, Vujasinovic S. Prevalence of psoriasis in Croatia. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1989;146:178-9.
32. Nevitt GJ, Hutchinson PE. Psoriasis in the community: prevalence, severity and patients' beliefs and attitudes towards the disease. *Br J Dermatol* 1996;135(4):533-7.

33. Brandrup F, Green A. The prevalence of psoriasis in Denmark. *Acta Derm Venereol* 1981;61(4):344-6.
34. Naldi L, Colombo P, Placchesi R, Chatenoud L, La Vecchia C. Study design and preliminary results from the pilot phase of the PraKtis study: self-reported diagnosis of selected skin diseases in a representative simple of the Italian population. *Dermatology* 2004;208(1):38-42.
35. Falk ES, Vandbakk O. Prevalence of psoriasis in a Norwegian Lapp population. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1993;182:6-9.
36. Gelfand JM, Stern RS, Nijsten T et al. The prevalence of psoriasis in African Americans: results from a population-based study. *J Am Acad Dermatol* 2005;52(1):23-6.
37. Rea JN, Newhouse ML, Halil T. Skin disease in Lambeth. A community study of prevalence and use of medical care. *Br J Prev Soc Med* 1976;30(2):107-14.
38. Kavli G, Stenvold SE, Vandbakk O. Low prevalence of psoriasis in Norwegian lapps. *Acta Derm Venereol* 1985;65(3):262-3.
39. Quirk CJ. Skin disease in the Busselton population survey. *Med J Aust* 1979;1(12):569-70.
40. Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1985;13:450-6.
41. Farber EM, Nall ML. The natural history of psoriasis in 5600 patients. *Dermatologica* 1974;148:1-18.
42. Gudjonsson JE, Elder JT. Psoriasis: epidemiology. *Clin Dermatol* 2007;25:535-46.
43. Roenigk Jr HH, Maibach HI. Psoriasis. *Clinics in Dermatology* (2007) 25.
44. Hoede K. The problem of heredity of psoriasis. *Hautarzt* 1957;8:433-8.
45. Andressen C, Henseler T. [Inheritance of psoriasis. Analysis of 2035 family histories]. *Hautarzt* 1982;33:214-7.
46. Watson W, Cann HM, Farber EM, Nall ML. The genetics of psoriasis. *Arch Dermatol* 1972;105:197-207.
47. Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP. *Dermatología*. Segunda edición. Madrid: Elsevier; 2004.
48. Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL, et al. Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997;6:813-20.
49. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Mechanisms of Disease: Psoriasis. *N Engl J Med* 2009;361:496-509.

50. Herron MD, Hinckley M, Hoffman MS, et al. Impact of obesity and smoking on psoriasis presentation and management. *Arch Dermatol* 2005;141:1527-34.
51. Rucevic I, Perl A, Barisic-Drusko V, Adam-Perl M. The role of the low energy diet in psoriasis vulgaris treatment. *Coll Antropol* 2003;27 Suppl 1:41-8.
52. Wolters M. Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence. *Br J Dermatol* 2005;153:706-14.
53. Michaelsson G, Gerden B, Ottosson M, et al. Patients with psoriasis often have increased serum levels of IgA antibodies to gliadin. *Br J Dermatol* 1993;129:667-73.
54. Michaelsson G, Gerden B, Hagforsen E, et al. Psoriasis patients with antibodies to gliadin can be improved by a gluten-free diet. *Br J Dermatol* 2000;142:44-51.
55. Michaelsson G, Gustafsson K, Hagforsen E. The psoriasis variant palmoplantar pustulosis can be improved after cessation of smoking. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:737-8.
56. McFadden JP, Baker BS, Powles AV, Fry L. Psoriasis and streptococci: the natural selection of psoriasis revisited. *Br J Dermatol* 2009;160:929-37.
57. Fry L, Baker BS. Triggering psoriasis: the role of infections and medications. *Clin Dermatol* 2007;25:606-15.
58. Qayoom S, Ahmad QM. Psoriasis and *Helicobacter pylori*. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2003;69:133-4.
59. Korzhova TP, Shyrobokov VP, Koliadenko VH, et al. [Coxsackie B viral infection in the etiology and clinical pathogenesis of psoriasis]. *Lik Sprava* 2001;54-8.
60. Lapadula G, Iannone F, Covelli M, et al. Anti-enterobacteria antibodies in psoriatic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1992;10:461-6.
61. Mallon E, Young D, Bunce M, et al. HLA-Cw*0602 and HIV-associated psoriasis. *Br J Dermatol* 1998;139:527-33.
62. Duvic M, Johnson TM, Rapini RP, et al. Acquired immunodeficiency syndrome-associated psoriasis and Reiter's syndrome. *Arch Dermatol* 1987;123:1622-32.
63. Kaplan MH, Sadick NS, Wieder J, et al. Antipsoriatic effects of zidovudine in human immunodeficiency virus-associated psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 1989;20:76-82.
64. Obuch ML, Maurer TA, Becker B, Berger TG. Psoriasis and human immunodeficiency virus infection. *J Am Acad Dermatol* 1992;27:667-73.
65. Melski JW, Bernhard JD, Stern RS. The Köebner (isomorphic) response in psoriasis: associations with early age of onset and multiple previous therapies. *Arch Dermatol* 1983;19:655-9.

66. Harvima RJ, Viinamaki H, Harvima IT, et al. Association of psychic stress with clinical severity and symptoms of psoriatic patients. *Acta Derm Venereol* 1996;76:467-71.
67. Griffiths CE, Barker JN. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet* 2007;370:263-71.
68. Gisondi P, Tessari G, Conti A, et al. Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: a hospital-based case-control study. *Br J Dermatol* 2007;157:68-73.
69. Ludwig RJ, Herzog C, Rostock A, et al. Psoriasis: a possible risk factor for development of coronary artery calcification. *Br J Dermatol* 2007;156:271-6.
70. Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, et al. Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *JAMA* 2006;296:1735-41.
71. Tschachler E. Psoriasis: the epidermal component. *Clin Dermatol* 2007;25:589-95.
72. Braun-Falco O, Burg G. Inflammatory infiltrate in psoriasis vulgaris. A cytochemical study. *Arch Klin Exp Dermatol* 1970;236:297-314.
73. Bos JD, Hulsebosch HJ, Krieg SR, et al. Immunocompetent cells in psoriasis. In situ immunophenotyping by monoclonal antibodies. *Arch Dermatol Res* 1983;275:181-9.
74. Nestle FO, Nickoloff BJ. Role of dendritic cells in benign and malignant lymphocytic infiltrates of the skin. *Dermatol Clin* 1994;12:271-82.
75. Menssen A, Trommler P, Vollmer S, et al. Evidence for an antigen-specific cellular immune response in skin lesions of patients with psoriasis vulgaris. *J Immunol* 1995;155:4078-83.
76. Nestle FO, Nickoloff BJ. From classical mouse models of psoriasis to a spontaneous xenograft model featuring use of AGR mice. *Ernst Schering Res Found Workshop* 2005;203-12.
77. Griffiths CE, Powles AV, Leonard JN, et al. Clearance of psoriasis with low dose cyclosporin. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;293:731-2.
78. Prinz J, Braun-Falco O, Meurer M, et al. Chimaeric CD4 monoclonal antibody in treatment of generalised pustular psoriasis. *Lancet* 1991;338:320-1.
79. Nickoloff BJ. Skin innate immune system in psoriasis: friend or foe? *J Clin Invest* 1999;104:1161-4.
80. Funk J, Langeland T, Schrupf E, Hanssen LE. Psoriasis induced by interferon-alpha. *Br J Dermatol* 1991;125:463-5.
81. Buchau AS, Gallo RL. Innate immunity and antimicrobial defense systems in psoriasis. *Clin Dermatol* 2007;25:616-24.

82. Nestle FO, Turka LA, Nickoloff BJ. Characterization of dermal dendritic cells in psoriasis. Autostimulation of T lymphocytes and induction of Th1 type cytokines. *J Clin Invest* 1994;94:202-9.
83. Lowes MA, Chamian F, Abello MV, et al. Increase in TNF-alpha and inducible nitric oxide synthase-expressing dendritic cells in psoriasis and reduction with efalizumab (anti-CD11a). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:19057-62.
84. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001;345:340-50.
85. Conrad C, Boyman O, Tonel G, et al. Alpha1beta1 integrin is crucial for accumulation of epidermal T cells and the development of psoriasis. *Nat Med* 2007;13:836-42.
86. Uyemura K, Yamamura M, Fivenson DF, et al. The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin is characterized by a T-helper type 1 cell-mediated response. *J Invest Dermatol* 1993;101:701-5.
87. Teunissen MB, Koomen CW, de Waal MR, et al. Interleukin-17 and interferon-gamma synergize in the enhancement of proinflammatory cytokine production by human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1998;111:645-9.
88. Lowes MA, Kikuchi T, Fuentes-Duculan J, et al. Psoriasis vulgaris lesions contain discrete populations of Th1 and Th17 T cells. *J Invest Dermatol* 2008;128:1207-11.
89. Zheng Y, Danilenko DM, Valdez P, et al. Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature* 2007;445:648-51.
90. Zaba LC, Cardinale L, Gilleaudeau P, et al. Amelioration of epidermal hiperplasia by TNF inhibition in associate with reduced Th17 responses. *J Exp Med* 2007;204:3183-94. [Erratum, *J Exp med* 2008;205:1941].
91. Haake AR, Polakowska RR. Cell death by apoptosis in epidermal biology. *J Invest Dermatol* 1993;101:107-12.
92. Raskin CA. Apoptosis and cutaneous biology. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:885-96.
93. Islam TC, Skarin T, Sumitran S, Toftgard R. Retinoids induce apoptosis in cultured keratinocytes. *Br J Dermatol* 2000;143:709-19.
94. Wrone-Smith T, Mitra RS, Thompson CB, et al. Keratinocytes derived from psoriatic plaques are resistant to apoptosis compared with normal skin. *Am J Pathol* 1997;151:1321-9.
95. Laporte M, Galand P, Fokan D, et al. Apoptosis in established and healing psoriasis. *Dermatology* 2000;200:314-6.

96. Martin BA, Chalmers RJ, Telfer NR. How great is the risk of further psoriasis following a single episode of acute guttate psoriasis? *Arch Dermatol* 1996;132:717-8.
97. Asumalahti K, Ameen M, Suomela S, et al. Genetic analysis of PSORS1 distinguishes guttate psoriasis and palmoplantar pustulosis. *J Invest Dermatol* 2003;120:627-32.
98. O'Doherty CJ, MacIntyre C. Palmoplantar pustulosis and smoking. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;291:861-4.
99. Ragaz A, Ackerman AB. Evolution, maturation, and regression of lesions of psoriasis. New observations and correlation of clinical and histologic findings. *Am J Dermatopathol* 1979;1:199-214.
100. Leigh IM, Navsaria H, Purkis PE, et al. Keratins (K16 and K17) as markers of keratinocyte hyperproliferation in psoriasis in vivo and in vitro. *Br J Dermatol* 1995;133:501-11.
101. Krueger GG, Feldman SR, Camisa C, et al. Two considerations for patients with psoriasis and their clinicians: what defines mild, moderate, and severe psoriasis? What constitutes a clinically significant improvement when treating psoriasis? *J Am Acad Dermatol* 2000;43:281-5.
102. Finlay AY, Kelly SE. Psoriasis--an index of disability. *Clin Exp Dermatol* 1987;12:8-11.
103. Finlay AY, Coles EC. The effect of severe psoriasis on the quality of life of 369 patients. *Br J Dermatol* 1995;132:236-44.
104. Schmid-Ott G, Schallmayer S, Calliess IT. Quality of life in patients with psoriasis and psoriasis arthritis with a special focus on stigmatization experience. *Clin Dermatol* 2007;25:547-54.
105. Richards HL, Fortune DG, Griffiths CE, Main CJ. The contribution of perceptions of stigmatisation to disability in patients with psoriasis. *J Psychosom Res* 2001;50:11-5.
106. Gupta MA, Schork NJ, Gupta AK, et al. Suicidal ideation in psoriasis. *Int J Dermatol* 1993;32:188-90.
107. Vardy D, Besser A, Amir M, et al. Experiences of stigmatization play a role in mediating the impact of disease severity on quality of life in psoriasis patients. *Br J Dermatol* 2002;147:736-42.
108. Bhosle MJ, Kulkarni A, Feldman SR, Balkrishnan R. Quality of life in patients with psoriasis. *Health Qual Life Outcomes* 2006;4:35.
109. Krueger G et al. The impact of psoriasis on quality of life: Results of a 1998 National Psoriasis Foundation patient-membership survey. *Arch Dermatol* 2001;137:280.

110. Krueger JG et al: Successful ultraviolet B treatment of psoriasis is accompanied by a reversal of keratinocyte pathology and by selective depletion of intraepidermal T cells. *J Exp Med* 1995;182:2057 [PMID: 7500051]
111. Gudjonsson JE et al: Immunopathogenic mechanisms in psoriasis. *Clin Exp Immunol* 2004;135:1 [PMID: 14678257]
112. Ozawa M et al: 312-nanometer ultraviolet B light (narrow-band UVB) induces apoptosis of T cells within psoriatic lesions. *J Exp Med* 1999;189:711 [PMID: 9989986]
113. Walters IB et al: Narrowband (312-nm) UV-B suppresses interferon- γ and interleukin (IL) 12 and increases IL-4 transcripts: differential regulation of cytokines at the single-cell level. *Arch Dermatol* 2003;139:155 [PMID: 12588221]
114. Van de Kerkhof PC: Therapeutic strategies: Rotational therapy and combinations. *Clin Exp Dermatol* 2001;26:356.
115. Franssen ME, Zeeuwen PL, Vierwinden G, van de Kerkhof PC, Schalkwijk J, van Erp PE. Phenotypical and functional differences in germinative subpopulations derived from normal and psoriatic epidermis. *J Invest Dermatol*. 2005 Feb;124(2):373-83.
116. Luque J, Herráez A. *Biología celular e Ingeniería Genética*. Editorial Harcourt, Madrid, 2001.
117. Elledge SJ: Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science* 1996;274: 1664–72.
118. Nasmyth K: Viewpoint: putting the cell cycle in order. *Science* 1996;274:1643–5.
119. Clurman BE, and Porter P: New insights into the tumor suppression function of P27(kip1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:15158–60.
120. Sherr CJ: Cancer cell cycles. *Science* 1996;274:1672–7.
121. Morgan DO: Principles of CDK regulation. *Nature* 1995;374:131-4.
122. Sherr CJ: G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994;79:551-5.
123. Diehl, J. A., Cheng, M., Roussel, M. F. & Sherr, C. J. Glycogen synthase kinase-3 regulates cyclin D1 proteolysis and subcellular localization. *Genes Dev*. 1998;12:3499-511.
124. Alt, J. R., Cleveland, J. L., Hannink, M. & Diehl, J. A. Phosphorylation-dependent regulation of cyclin D1 nuclear export and cyclin D1-dependent cellular transformation. *Genes Dev*. 2000;14:3102-14.
125. Reed SI, Bailly E, Dulic V, Hengst L, Resnitzky D, Slingerland J: G1 control in mammalian cells. *J Cell Sci Suppl* 1994;18:69-73.

126. Sherr CJ, Roberts JM: CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1- phase progression. *Genes Dev.* 1999;13:1501-12.
127. Satyanarayana, A. and Kaldis, P. (2009) Mammalian cell cycle regulation: several Cdks, numerous cyclins, and diverse compensatory mechanisms. *Oncogene*, 28, 2925-39.
128. Morgan, D. O. Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1997;13:261-91.
129. Nigg, E. A. Cyclin-dependent kinase 7: at the cross-roads of transcription, DNA repair and cell cycle control? *Curr. Opin. Cell Biol.* 1996;8:312-7.
130. Ekholm, S. V. & Reed, S. I. Regulation of G1 cyclin-dependent kinases in the mammalian cell cycle. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2000;12:676-84.
131. Sherr, C. J. Cancer cell cycles revisited. *Cancer Res.* 2000;60:3689-95.
132. Mills AA, Zheng B, Wang XJ, et al. p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis. *Nature* 1999;398:708-13.
133. Yang A, Kaghad M, Wang Y, et al. p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Mol Cell* 1998;2:305-16.
134. Wu G, Nomoto S, Hoque MO, et al. DeltaNp63alpha and TAp63alpha regulate transcription of genes with distinct biological functions in cancer and development. *Cancer Res* 2003;63:2351-7.
135. Koster MI, Roop DR. The role of p63 in development and differentiation of the epidermis. *J Dermatol Sci* 2004;34:3-9.
136. Westfall MD, Pietenpol JA. p63: Molecular complexity in development and cancer. *Carcinogenesis* 2004;25:857-64.
137. Yang A, Schweitzer R, Sun D, et al. p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature* 1999;398:714.
138. So-Young K, Hyun-Joo C, Dong-Seok K, Hae-Ryung C, Sun-Bang K, Jung-Im N, Hye-Chan J, Chang-Hoon H, Sang-Woong Y, Kwang-Hyun C and Kyoung-Chan P. Differential expression of p63 isoforms in normal skin and hyperproliferative conditions. *J Cutan Pathol* 2009; 36: 825-30.
139. Gu X, Lundwist EN, Coates PJ., Thurfjell N, Wettersand E and Nylander K. Dysregulation of Tap63 mRNA and protein levels in psoriasis. *Journal of Investigate Dermatology* 2006;126:137-41.

140. Reis-Filho JS, Torio B, Albergaria A, Schmitt FC. p63 expression in normal skin and usual cutaneous carcinomas. *J Cutan Pathol* 2002;29:517-23.
141. Tsujita-Kyutoku M, Kiuchi K, Danbara N, et al. p63 expression in normal human epidermis and epidermal appendages and their tumors. *J Cutan Pathol* 2003;30:11-7.
142. Takeuchi Y, Tamura A, Kamiya M, et al. Immunohistochemical analyses of p63 expression in normal human skin. *Br J Dermatol* 2004;151:232-5.
143. Di Como C, Urist M, Babayan I, et al. p63 protein expression profiles in human normal and tumor tissues. *Clin Cancer Res* 2001;8:494-501.
144. Takeuchi Y, Tamura A, Kamiya M, et al. Immunohistochemical analyses of p63 expression in cutaneous tumours. *Br J Dermatol* 2005;153:1230-2.
145. Qureshi HS, Ormsby AH, Lee MW, et al. The diagnostic utility of p63, CK5/6, CK 7, and CK 20 in distinguishing primary cutaneous adnexal neoplasms from metastatic carcinomas. *J Cutan Pathol* 2004;31:145-52.
146. Ivan D, Hafeez DA, Prieto VG. Expression of p63 in primary cutaneous adnexal neoplasms and adenocarcinoma metastatic to the skin. *Mod Pathol* 2005;18:137-42.
147. Park HR, Min SK, Cho HD, et al. Expression profiles of p63, p53, surviving and hTERT in skin tumors. *J Cutan Pathol* 2004;31:544-549.
148. Delavalle HS, Walsh P, Marchbank A, et al. CUSP/p63 expression in basal cell carcinoma. *Exp Dermatol* 2002;11:203-8.
149. Baran W, Szepietowski JC and Szybejko-Machaj G. *Acta Dermatoven APA* Vol. 14, 2005, nº 3.
150. Soini Y, Kamel D, Paakko P, et al. Aberrant accumulation of p53 associates with Ki67 and mitotic count in benign skin lesions. *Br J Dermatol* 1994;131:514-20.
151. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992;358:15-6.
152. Batinac T, Gruber F, Lipozencic J et al. Protein p53 – structure, function, and possible therapeutic implications. *Acta Dermatolvenol Croat* 2003;11:225-30.
153. Hainaut P, Hollstein M. p53 and human cancer: the first ten thousand mutations. *Adv Cancer Res* 2000;77:81-173.
154. Bishop JM. Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 1991;64:235-48
155. Marshall CJ. Tumor suppressor genes. *Cell* 1991;64:313-26.
156. Batinac T, Zamolo G, Jonjic N, et al. p53 protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases. *Tumori* 2004;90:120-7.

157. Fero ML, Rivkin M, Tasch M, Porter P, Carow CE, Firpo E, Polyak K, Tsai LH, Broudy V, Perlmutter RM, Kaushansky K, Roberts JM. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27(Kip1)-deficient mice. *Cell* 1996 May;85(5):733-44.
158. Kiyokawa H, Kineman RD, Manova-Todorova KO, Soares VC, Hoffman ES, Ono M, Khanam D, Hayday AC, Frohman LA, Koff A. Enhanced growth of mice lacking the cyclin-dependent kinase inhibitor function of p27(Kip1). *Cell* 1996 May;85(5):721-32.
159. Nakayama K, Ishida N, Shirane M, Inomata A, Inoue T, Shishido N, Horii I, Loh DY. Mice lacking p27(Kip1) display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors. *Cell* 1996 May;85(5):707-20.
160. Chien WM, Garrison K, Caufield E, Orthel J, Dill J, Fero ML. Differential gene expression of p27Kip1 and Rb knockout pituitary tumors associated with altered growth and angiogenesis. *Cell Cycle* 2007;15:750-7.
161. Kim SM, Kim N, Lee S, Kim DK, Lee YM, Ahn SH, Song JH, Choi BK, Wu C, Jung KY. TGF- β 1-induced PINCH-1-ILK- α -parvin complex formation regulates mesangial cell proliferation and hypertrophy. *Exp Mol Med* 2007;39:514-23.
162. Jinhwa L, Sung K. The function of p27(Kip1) during tumor development. *Experimental and molecular medicine*, 2009.
163. Loda M, Cukor B, Tam SW, Lavin P, Fiorentino M, Draetta GF, Jessup JM, Pagano M. Increased proteasome-dependent degradation of the cyclindependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carcinomas. *Nat Med* 1997;3:231-4.
164. Battifora H, Mehta, P. The checkerboard tissue block, an improved multitissue control block. *Lab Invest* 1990;63:722-4.
165. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998;4:844-7.
166. Afenyi-Annan A, Mucci NR, Rubin MA, et al. Evaluation of bio-markers in Ewing's sarcoma using tissue microarray [Abstract]. *Mod Pathol* 2001;14:11.
167. Moch H, Schraml P, Bubendorf L, et al. High-throughput tissue microarray analysis to evaluate genes uncovered by cDNA micro-array screening in renal cell carcinoma. *Am J Pathol* 1999;154:981-6.
168. Mousses S, Bubendorf L, Kononen J, et al. Gene expression pro-files associated with androgen deprivation response and therapy failure in human prostate cancer: high-throughput cDNA and tissue microarray studies . *J Urol* 2000;163:101.

169. Mucci NR, Akdas G, Manely S, et al. Neuroendocrine expression in metastatic prostate cancer: evaluation of high throughput tissue microarrays to detect heterogeneous protein expression. *Hum Pathol* 2000;31:406–14.
170. Proverbs-Singh T, Mucci NR, Strawdermann M, et al. Prostate carcinoma biomarker analysis using tissue microarrays: optimization of a tissue sampling strategy for proliferation labeling index. *Mod Pathol* 2001;14:117.
171. Richter J, Wagner U, Kononen J, et al. High-throughput tissue microarray analysis of cyclin E gene amplification and overexpression in bladder cancer. *Am J Pathol* 2000;157:787–94.
172. Sallinen SL, Sallinen PK, Haapasalo HK, et al. Identification of differently expressed genes in human gliomas by DNA microarray and tissue chip techniques. *Cancer Res* 2000;60:6617–22.
173. Schraml P, Kononen J, Bubendorf L, et al. Tissue microarrays for gene amplification surveys in many different tumor types. *Clin Cancer Res* 1999;5:1966–75.
174. Camp RL, Charette LA, Rimm DL. Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma. *Lab Invest* 2000;80:1943–9.
175. Moch H, Kononen J, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays: what will they bring to molecular and anatomic pathology? *Adv Mol Pathol* 2001;8:14–20.
176. Skacel M, Skilton B, Pettay JD, Tubbs RR. Tissue microarrays: a powerful tool for high-throughput analysis of clinical specimens: a review of the method with validation data. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2002;10:1-6.
177. Skacel M, Ormsby AH, Pettay JD, Tsiftsakakis EK, Liou LS, Klein EA, Levin HS, Zippe CD, Tubbs RR. Aneusomy of chromosomes 7, 8, and 17 and amplification of HER-2/neu and epidermal growth factor receptor in Gleason score 7 prostate carcinoma: a differential fluorescent in situ hybridization study of Gleason pattern 3 and 4 using tissue microarray. *Hum Pathol.* 2001;32:1392-7.
178. Zygouris P, Tsiambas E, Tiniakos D, Karameris A, Athanassiou AE, Kittas Ch, Kyroudi A. Evaluation of combined h-TERT, bcl-2, and caspases 3 and 8 expression in cutaneous malignant melanoma based on tissue microarrays and computerized image analysis. *J BUON* 2007 Oct-Dec;12(4):513-9.
179. Manley S, Mucci NR, De Marzo AM, Rubin MA. Relational database structure to manage high-density tissue microarray data and images for pathology studies focusing on clinical outcome: the prostate specialized program of research excellence model. *Am J Pathol.* 2001;159:837-43.

180. Stromberg S, Agnarsdottir M, Magnusson K, et al. Selective expression of Syntaxin-7 protein in benign melanocytes and malignant melanoma. *J Proteome Res* 2009;8:1639-46.
181. Meyer S, Vogt T, Landthaler M, et al. Cyclooxygenase 2 (COX2) and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPARG) Are Stage-Dependent Prognostic Markers of Malignant Melanoma. *PPAR Res* 2009;2009:848645.
182. Bolander A, Agnarsdottir M, Stromberg S, et al. The protein expression of TRP-1 and galectin-1 in cutaneous malignant melanomas. *Cancer Genomics Proteomics* 2008;5:293-300.
183. Clarke LE, Fountaine TJ, Hennessy J, et al. Cdc7 expression in melanomas, Spitz tumors and melanocytic nevi. *J Cutan Pathol* 2009;36:433-8.
184. Bolander A, Agnarsdottir M, Wagenius G, et al. Serological and immunohistochemical analysis of S100 and new derivatives as markers for prognosis in patients with malignant melanoma. *Melanoma Res* 2008;18:412-9.
185. Plaza JA, Suster D, Perez-Montiel D. Expression of immunohistochemical markers in primary and metastatic malignant melanoma: a comparative study in 70 patients using a tissue microarray technique. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007;15:421-5.
186. Wild PJ, Meyer S, Bataille F, Woenckhaus M, Ameres M, Vogt T, Landthaler M, Pauer A, Klinkhammer-Schalke M, Hofstaedter F, Bosserhoff AK. Tissue microarray analysis of methylthioadenosine phosphorylase protein expression in melanocytic skin tumors. *Arch Dermatol* 2006 Apr;142(4):471-6.
187. Long E, Ilie M, Hofman V, et al. LANA-1, Bcl-2, Mcl-1 and HIF-1alpha protein expression in HIV-associated Kaposi sarcoma. *Virchows Arch* 2009;455:159-70.
188. Brennan D, Mahoney MG. Increased expression of Dsg2 in malignant skin carcinomas: A tissue-microarray based study. *Cell Adh Migr* 2009;3:148-54.
189. Stelkovic E, Korom I, Marcinovits I, et al. Collagen XVII/BP180 protein expression in squamous cell carcinoma of the skin detected with novel monoclonal antibodies in archived tissues using tissue microarrays and digital microscopy. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008;16:433-41.
190. Fullen DR, Garrisi AJ, Sanders D, Thomas D. Expression of S100A6 protein in a broad spectrum of cutaneous tumors using tissue microarrays. *J Cutan Pathol* 2008;35 Suppl 2:28-34.
191. Vakiani E, Cattoretti G, Colovai AI, et al. CD117 expression in diffuse large B-cell lymphomas: fact or fiction? *Pathol Int* 2005;55:716-23.

192. Sundram U, Kim Y, Mraz-Gernhard S, et al. Expression of the bcl-6 and MUM1/IRF4 proteins correlate with overall and disease-specific survival in patients with primary cutaneous large B-cell lymphoma: a tissue microarray study. *J Cutan Pathol* 2005;32:227-34.
193. Batinac T, Zamolo G, Hadzisejdic I, Zauhar G, Brumini G, Ruzic A, Persic V. Expresión of bcl-2 family proteins in psoriasis. *Croat Med J.* 2007;48:319-26.
194. Shen CS, Tsuda T, Fushiki S, Mizutani H and Yamanishi K. The expression of p63 dyrubg epidermal remodeling in psoriasis. *J Dermatol* 32 (4): 236-242, 2005.
195. Resnitzky D, Gossen M, Bujard H, et al.: Acceleration of the G1/S phase transition by expression of cyclins D1 and E with and inducible system. *Mol Cell Biol* 1994;14:1669-79.
196. Strauss M, Lukas J, and Bartek J. Unrestricted cell cy-cling and cancer. *Nat Med* 1995;1:1245-6.
197. Koff A, Cross F, Fisher A, Schumacher J, Leguellec K, Philippe M, Roberts JM. Human cyclin E, a new cyclin that interacts with two members of the CDC2 gene family. *Cell* 1991;66:1217-28.
198. Keyomarsi K, Herliczek TW. The role of cyclin E in cell proliferation, development and cancer. *Prog Cell Cycle Res* 1997;3:171-91.
199. Stamatakos M, Palla V, Karaiskos I, Xiromeritis K, Alexiou I, Pateras I and Kontzoglou K. Cell cyclins: triggering elements of cancer or not? *World Journal of Surgical Oncology* 2010;8:111.
200. Geisen C, Moroy T. The oncogenic activity of cyclin E is no confirmed to Cdk2 activation alone but relies on several other, distinct functions of the protein. *J Biol Chem* 2002;277:39909-18.
201. Mate JL, Ariza A, Roca X, López D, Ferrándiz C, Pérez-Piteira J, Navas-Palacios JJ. Expression patterns of cyclins D1 and E in condyloma acuminatum in comparison with psoriatic proliferative lessions. *J Pathol* 1998 Jan;184(1):83-8.
202. Oesterle EC, Chien WM, Campbell S, Nellimarla P, Fero ML. P27(Kip1) is required to maintain proliferative quiescence in the adult cochlea and pituitary. *Cell Cycle* 2011 Apr 15;10(8):1237-48. Epub 2011 Apr 15.
203. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarval BB. Curcumin as “Curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 2008 Feb 15;75(4):787-809. Epub 2007 Aug 19.

204. Polyak K, Lee MH, Erdjument-Bromage H, Koff A, Roberts JM, Tempst P, Massague J. Cloning of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extracellular antimitogenic signals. *Cell* 1994 August 78(1):59-66.
205. Toyoshima H, Hunter T. p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell* 1994 July 78(1): pp. 67-74.
206. Berthet C, Aleem E, Coppola V, Tessarollo L, Kaldis P. Cdk2 Knockout Mice Are Viable. *Current Biology*, October 2003;13(20):1775-85.
207. Levkau B, Koyama H, Raines EW, Clurman BE, Herren B, Orth K, Roberts JM, Ross R. Cleavage of p21Cip1/Waf1 and p27Kip1 mediates apoptosis in endothelial cells through activation of Cdk2: role of a caspase cascade. *Mol. Cell* March 1998;1(4):553-63.
208. Davis ST, Benson BG, Bramson HN, Chapman DE, Dickerson SH, Dold KM, Eberwein DJ, Edelstein M, Frye SV, Gampe Jr RT, Griffin RJ, Harris PA, Hassell AM, Holmes WD, Hunter RN, Knick VB, Lackey K, Lovejoy B, Luzzio MJ, Murray D, Parker P, Rocque WJ, Shewchuk L, Veal JM, Walder DH, Kuyper LF. Prevention of chemotherapy-induced alopecia in rats by CDK inhibitors. *Science (journal)* January 2001;291(5501):134-7.
209. Keyomarsi K, Conte DJ, Toyofuku W, Fox M: Deregulation of cyclin E in breast cancer. *Oncogene* 1995, 11:941-50.
210. Macias E, Paula L, Miliani de Marval PL, De Siervi A, et al. CDK2 Activation in Mouse Epidermis Induces Keratinocyte Proliferation but Does Not Affect Skin Tumor Development. *Am J Pathol*, 2008 August;173(2):526-3.
211. Satyanarayana A, Kaldis P. A dual role of CDK2 in DNA damage response. *Cell Div* 2009 May 18;4:9. PMID: 1944572.
212. Lebwohl M, Ali S. Treatment of psoriasis. Part 2. Systemic therapies. *J am Acad Dermatol* 45:649; quiz 662-644, 2001.
213. Jeffes EW 3rd et al. : Methotrexate therapy of psoriasis: Differential sensitivity of proliferating lymphoid and epithelial cells to the cytotoxic and growth-inhibitory effects of methotrexate. *J Invest Dermatol* 104:183, 1995 PMID:7829873.
214. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. *Dermatología*. Segunda edición. Madrid: Elsevier 2004, pág. 141.
215. Maddika S, Ande SR, Wiechec E, Hansen LL, Wesselborg S. Los M Akt-mediated phosphorylation of CDK2 regulates its dual role in cell cycle progression and apoptosis. *J Cell Sci*. 2008 Apr 1;121(Pt. 7):979-88.

216. Bovenschen HJ, Langewouters AM, van de Kerkhof PC. Dimethylfumarate for psoriasis: Pronounced effects on lesional T-cell subsets, epidermal proliferation and differentiation, but not on natural killer T cells in immunohistochemical study. *Am J Clin Dermatol* 2010;11(5):343-350. Doi:10.2165/11533240-000000000-00000.
217. Yazici AC, Tursen U, Aps DD, Ikizoglu G, Api H, Baz H, Tasdelen B. The changes in expression of ICAM-3, Ki-67, PCNA, and CD31 in psoriatic lesions before and after methotrexate treatment. *Arch Dermatol Res*, 2005 Dec;297(6):249-55. Epub 2005 Oct 8.
218. Hannuksela-Svahn A, Paakko P, Autio P, et al. Expression of p53 protein before and after PUVA treatment in psoriasis. *Acta Derm Venereol* 1999;79:195-9.
219. Werner B, Bresch M, Brenner FM, Lima HC. Comparative study of histopathological and immunohistochemical findings in skin biopsies from patients with psoriasis before and after treatment with acitretin. *J Cutan Pathol* 2008 Mar;35(3):302-10.
220. Reddy M, Torres G, McCormick T, Marano C, Cooper K, Yeilding N, Wang Y, Pendley C, Prabhakar U, Wong J, Davis C, Xu S, Brodmerkel C. Positive treatment effects of ustekinumab in psoriasis: analysis of lesional and systemic parameters.
221. Bovenschen HJ, Gerritsen WJ, van Rens DW, Seyger MM, de Jong EM, van de Kerkhof PC. Explorative immunohistochemical study to evaluate the addition of a topical corticosteroid in the early phase of alefacept treatment for psoriasis. *Arch Dermatol Res*. 2007 Feb; 298(4):457-63.
222. Gómez-Mateo C, Avalos-Peralta SP, Ríos-Martín JJ, Carrizosa-Esquivel AM, González-Cámpora R, Camacho-Martínez F. Sequential histological and immunohistochemical assessment of proliferation and apoptotic markers during treatment of psoriasis with antitumor necrosis factor alpha (infliximab). Article in Spanish. *Actas Dermosifiliogr*. 2009 Jun;100(5):420-4.
223. Vissers WH, van Vlijmen I, van Erp PE, de Jong Em, van de Kerkhof PC. Topical treatment of mild to moderate plaque psoriasis with 0.3% tacrolimus gel and 0.5% tacrolimus cream: the effect on SUM score, epidermal proliferation, keratinization, T-cell subsets and HLA-DR expression. *Br J Dermatol* 2008 Apr; 158(4):705-12. Epub 2008 Feb 16.
224. Bovenschen HJ, Otero ME, Langewouters AM, van-Vlijmen-Willems IM, van Rens DW, Seyger MM, van de Kerkhof PC. Oral retinoic acid metabolism blocking agent Rimbazole for plaque psoriasis: an immunohistochemical study. *Br J Dermatol* 2007 Feb;156(2):263-70.

225. Michaëlson G, Ahs S, Hammarström I, Lundin IP, Hagforsen E. Gluten-free diet in psoriasis patients with antibodies to gliadin results in decreased expression of tissue transglutaminase and fewer Ki67+cells in the dermis. *Acta Derm Venereol* 2003;83(6):425-9.
226. Smits T, Kleinpenning MM, van Erp PE, van de Kerkhof PC, Gerritsen MJ. A placebo-controlled randomized study on the clinical effectiveness, immunohistochemical changes and protoporphyrin IX accumulation in fractionated 5-aminolaevulinic acid-photodynamic therapy in patients with psoriasis. *Br J Dermatol* 2006 August;155(2):429-36.
227. de Zwart AJ, de Jong EM, van de Kerkhof PC. Topical application of dithranol on normal skin induces epidermal hyperproliferation and increased Ks8.12 binding. *Skin Pharmacol* 1992;5(1):34-40.
228. Yasmeen A, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. E and A-type cyclins as markers for cancer diagnosis and prognosis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. September 2003;3(5):617-33.
229. Miracco C, Pellegrino M, Flori ML, Vatti R, Materno M and Andreassi L. Cyclin D1, B and A expression and cell turnover in psoriatic skin lesions before and after cyclosporine treatment. *British Journal of Dermatology* 2000;143:950-6.
230. Carrascosa JM, Tapia G, Bielsa I, Fuente MJ and Ferrandiz C. Effects of narrowband UV-B on pharmacodynamic markers of response to therapy: an immunohistochemical study over sequential samples. *J Cutan Pathol* 2007;34:769-77.
231. Nasmyth K. Control of the yeast cell cycle by the Cdc28 protein kinase. *Curr. Opin. Cell Biol* April 1993;5(2):166-79. PMID: 8507488.
232. Motokura T, Arnold A. *Biochim. Biophys. Acta*, 1155 (1993), p. 63.
233. Yasui W, Ayhan A, Kitadai Y, Nishimura K, Yokozaki H, Ito H, Tahara E. *Int. J. Cancer*, 53(1993), p.63.
234. Reifenberger G, Reifenberger J, Ichimura K, Meltzer PS, Collins VP. *Cancer Res*, 54(1994):4299.
235. Wang Q, Su L, Liu N, Zhang L, Xu W, Fanq H. Cyclin dependent kinase 1 inhibitors: a review of recent progress. *Curr Med Chem* 2011;18(13):2025-43.
236. Huang S, Lin R, Yu Y, Lu Y, Connolly PJ, Chiu G, Li S, Emanuel SL, Middleton SA. Synthesis of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-5-isoquinolin-4-ylpyrazolo[1,2-b]pyridine, a potent cyclin dependent kinase 1 (CDK1) inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett*. 2007 Mar 1;17(5):1243-5.
237. Hirai H, Kawanishi N and Iwasawa Y. *Curr. Top Med. Chem.*, 5 (2005), p. 167.

238. Hoessel R, Leclerc S, Endicott JA, Nobel ME, Lawrie A, Tunnah P, Leost M, Damiens E, Marie D, Marko D, Niederberger E, Tang W, Eisenbrand G and Meijer L. Indirubin, the active constituent of a Chinese antileukaemia medicine, inhibits cyclin-dependent kinases. *Nat Cell Biol* 1999;1:60-7.
239. Ivorra C, Samyn H, Edo MD, Castro C, Sanz-González SM, Díez-Juan A, Andrés V. Inhibition Cyclin-Dependent Kinase/Cyclin Activity for the Treatment of Cancer and Cardiovascular Disease. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2003, Vol 4, No. 1.
240. Meijer L, Kim SH. Chemical inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Methods Enzymol* 1997;283:113-28.
241. Nurse P, Bisset Y. Gene required in G1 for commitment to cell cycle and in G2 for control of mitosis in fission yeast. *Nature* 1981;292:558-60.
242. Meijer, L. Cyclin-dependent kinase inhibitors as potential anticancer, antineurodegenerative, antiviral and antiparasitic agents. *Drug Resistance Updates* 2000;3:83-8.
243. Hooijberg JH, Broxterman HJ, Scheffer GL, et al. Potent interaction of flavopiridol with MRP1. *Br J Cancer* 1999;81:269-76.
244. Hirai H, Kawanishi N, Iwasawa Y. Recent Advances in the Development of Selective Small Molecule Inhibitors for Cyclin-Dependent Kinases. *Curr. Top Med. Chem.*, 5 (2005), p. 167-79.
245. Motokura T, Bloom T, Kim HG, Juppner H, Ruderman JV, Kronenberg HM, Arnold A. A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene. *Nature* May 1991;350(6318):512-5.
246. Healy E, Reynolds NJ, Smith MD et al. Up-regulation of p21WAF1/C1P1 in psoriasis after the application of irritants and tape stripping. *JInvestDermatol* 1995;105:274-9.
247. Michieli P, Chedid m, Lin D, Pierce JH, Mercer WE, Givol D. Induction of WAF1/CIP1 by a p53-independent pathway. *Cancer Res* 1994;54:3391-3395.
248. El-Domyati M, Attia S. Saleh F, Galaria N, Ahmad H, Gaspam F, Uitto J. Expression of p53 in normal sun-exposed and protected skin (type IV-V) in different decades of age. *Acta Derm-Venereol* 2003;83:98-104.
249. Tadini G, Cerri A, Crosti L, et al. P53 and oncogenes expression in psoriasis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1989;146:33-5.
250. Gasparro FP. p53 in dermatology. *Arch Dermatol* 1998;134:1029-32.

251. McGregor JM, Yu CC, Dublin EA, et al. Aberrant expression of p53 tumour-suppressor protein in non-melanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 1992;127:463-9.
252. Ro YS, Cooper PN, Lee JA, et al. p53 protein expression in benign and malignant skin tumours. *Br J Dermatol* 1993;128:237-41.
253. Escalonilla P, Grilli R, Canamero M, et al. Sebaceous carcinoma of the vulva. *Am J Dermatopathol* 1999;21:468-72.
254. Hussein MR, Al-Badaiwy ZH, Guirguis MN. Analysis of p53 and bcl-2 protein expression in the non-tumorigenic, pretumorigenic, and tumorigenic keratinocytic hyperproliferative lesions. *J Cutan Pathol* 2004;31:643-51.
255. Salvador G, Sanmarti R, Garcia-Peiro A, et al. p53 expression in rheumatoid and psoriatic arthritis synovial tissue and association with joint damage. *Ann Rheum Dis* 2005;64:183-7.
256. Helander SD, Peters MS, Pittelkow MR. Expression of p53 protein in benign and malignant epidermal pathologic conditions. *J Am Acad Dermatol* 1993;29:741-8.
257. Bianchi B, Campolmi P, Mavilia L, Danesi A, Rossi R, Cappugi P. Monochromatic excimer light (308 nm): an immunohistochemical study of cutaneous T cells and apoptosis-related molecules in psoriasis. *J EADV* 2003;17:408-13.
258. Moles JP, Theillet C, Basset-Seguin N, Guilhou JJ. Mutation of the tumor suppressor gene TP53 is not detected in psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 1993;101:100-2.
259. Barr RJ, Rohan MK, Dangaran K. Effect of orally administered antithyroid thioureylenes on PCNA and p53 expression in psoriatic lesions. *Int J Dermatol* 1995;34:280-3.
260. Schmid P, Cox D, McMaster GK, Itin P. In situ hybridization analysis of cytokine, proto-oncogene and tumour suppressor gene expression in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1993;285:334-40.
261. Michel G, Auer H, Kemeny L, Bocking A, Ruzicka T. Antioncogene p53 and mitogenic cytokine interleukin-8 aberrantly expressed in psoriatic skin are inversely regulated by the antipsoriatic drug tacrolimus (FK506). *Biochem Pharmacol* 1996;51:1315-20.
262. Yazici AC, Karabulut AA, Özen O, Eksiolu M, Üstün H. Expression of p53 in lesions and unaffected skin of patients with plaque-type and guttate psoriasis: a quantitative comparative study. *Journal of Dermatology* 2007;34:367-74.
263. Bijl M, Kallenberg CG. Ultraviolet light and cutaneous lupus. *Lupus* 1006;15(11):724-7.
264. Campbell H, Slatter T, Jeffs A, Mehta R, Rubio C, Baird M, Braithwaite A. Does A133p53 isoform trigger inflammation and autoimmunity? *Cell Cycle* 2012 Feb 1;11(3):446-50. Epub 2012 Feb 1.

265. Kerkhof P. Textbook of psoriasis. Blackwell Publishing Ltd., Oxford:2033;pp.83-109.
266. Qin JZ, Chaturvedi V, Denning MF et al.: Regulation of apoptosis by p53 in UV-irradiated human epidermis, psoriatic plaques and senescent keratinocytes. *Oncogene* 2002,21:2991-3002.
267. Nickoloff BJ: Creation of psoriatic plaques: the ultimate tumor suppressor pathway. A new model for an ancient T-cell-mediated skin disease. *Viewpoint. J Cutan Pathol* 2001;28:57-64.
268. Lew DJ, Dulic V, Reed SI. Isolation of three novel human cyclins by rescue of G1 cyclin (Cln) function in yeast. *Cell* Oct 1991;66(6):1197-206.
269. Michaelides RJ, Van Veelen NM, Kristel PM, Hart AA, Loftus BM, Hilgers FJ, Balm AJ. Overexpression of cyclin D1 indicates a poor prognosis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123(5):497-502.
270. Ishikawa T, Furihata M, Ohtsuki Y, Murakami H, Inoue A, Ogoshi S. Cyclin: D1 overexpression related to retinoblastoma protein expression as a prognostic marker in human oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1998; 77(1):92-7.
271. Caputi M, Groeger AM, Esposito V, Dean C, De Luca A, Pacilio C, Muller MR, Giordano GG, Baldi F, Wolner E, Giordano A. A pronostic role of cyclin D1 in lung cancer. Relationship to proliferating cell nuclear antigen. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20(4):746-50.
272. Bae DS, Cho SB, Kim YJ, Whang JD, Sony SY, Park CS, Kim DS, Lee JH. Aberrant expression of cyclin D1 is associated with poor prognosis in earky stage cervical cancer of the uterus. *Gynecol Oncol* 2001; 81(3):341-7.
273. Yasushi Y, Ritsuro S, Kensei T, Yoshihiro M, Ryo I, Masataka O, Motoko Y, Jun-ichi T, Naokuni U, Yuko H, Yasuo M, Taizan S, Masao S y Shiego N. Significancia de la sobreexpresión de ciclina D para el diagnóstico de linfoma de manto (LM): comparación entre LM ciclina D1 positivos y linfomas B simil manto ciclina D1 negativo.
274. Moyano L, Franco C, Carreño L, Robinson P, Sánchez G. HBME and cyclin D1 as diagnostic markers for follicular thyroid carcinoma.
275. M. Abou EL-Ela et. al. Expression of cyclin D1 and p16 in psoriasis before and after phototherapy. *Clin Exp Dermatol* 2010 Oct;35(7):781-5.
276. Miyakawa Y, Matsushime H. Rapid downregulation of cyclin D1 mRNA and protein levels by ultraviolet irradiation in murine macrophage cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;284:71-6.

277. Cooper KD. Cell-mediated immunosuppressive mechanisms induced by UV radiation. *Photochem Photobiol.* 1996 Apr;63(4):400-6.
278. Diffey BL. Towards optimal regimens for the UVB phototherapy of psoriasis: a mathematical model. *Acta Derm Venereol* 2004;84:259-64.
279. Kastelan M, Massari LP, Brajac I. The role of bcl-2 family proteins in psoriasis. *Lijec Vjesn* 2010 Jan-Feb;132(1-2):31-3. [Article in Croatian].
280. Bubendorf L, Kononen J, Barlund M, et al. Tissue microarray FISH and digital imaging: towards automated analysis of thousands of tumors with thousands of probes. The American Society of Human Genetics, 49th Annual Meeting, San Francisco, CA, 1999.
281. Marghescu S. Palmoplantar reactions. *Dermatology* 1994;189:30.
282. Heule F, Tahapary GJ, Bello CR, van Joost T. Delayed-type hypersensitivity to contact allergens in psoriasis. A clinical evaluation. *Contact Dermatitis* 1998;38:78-82.
283. Clark AR, Sherertz EF. The incidence of allergic contact dermatitis in patients with psoriasis vulgaris. *Am J Contact Dermat* 1998;9:96-9.
284. Malhotra V, Kaur I, Saraswat A, Kumar B. Frequency of patch-test positivity in patients with psoriasis: a prospective controlled study. *Acta Derm Venereol* 2002;82:432-5.
285. Cribier B. Psoriasis under the microscope. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006;20:3.
286. Ackerman AB, Troy JL, Rosen RB, Jerasutus S, White CR, King FD. Differential diagnosis in dermatopathology II. Philadelphia: Lea&Febiger, 1982;10.
287. Aydin O, Engin B, Oguz O, Ilvan S, Demirkesen C. Non-pustular palmo-plantar psoriasis: is histologic differentiation from eczematous dermatitis possible? *J Cutan Pathol* 2008;35:169-73.
288. Cesinaro AM, Nannini N, Migaldi M, Pepe P, Maiorana A. Psoriasis vs. Allergic contact dermatitis in palms and soles: a quantitative histologic and immunohistochemical study. *Apmis.* 2009 Aug;117(8):629-34.
289. Doger FK, Dikicioglu E, Ergin F, Unal E, Sendur N, Uslu M. Nature and cell kinetics in psoriatic epidermis. *J Cutan Pathol* 2007;34:257-63.
290. Bovenuschen HJ, Seyger MMB, Van De Kerkhof PCM. Plaque psoriasis vs. atopic dermatitis and lichen planus: a comparison for lesional T-cell subsets, epidermal proliferation and differentiation. *Br J Dermatol* 2005;153:72-8.
291. Sweet WL, Smoller BR. Differential proliferation of endothelial cells and keratinocytes in psoriasis and spongiotic dermatitis. *J Cutan Pathol* 1997;24:356-63.