

# EL ÁCIDO 2,5-DHBS INHIBE LA INFLAMACIÓN Y LA ANGIOGÉNESIS INDUCIDA POR EL FGF

ESTUDIO OBSERVACIONAL  
EN PACIENTES AFECTADOS  
DE PSORIASIS

REBECA DE MIGUEL  
MARZO 2010



Universidad  
de Alcalá

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

## AGRADECIMIENTOS:

*A Pedro, por su dedicación y entusiasmo. Por saber despertar en mí, el interés por la investigación y enseñarme a lo largo de todos estos años a escribir.*

*Al departamento de Histología del Hospital Ramón y Cajal, especialmente a Chantal y Javier, por su ayuda inestimable.*

*A Walter, por su confianza aún cuando todavía no era ni residente de dermatología.*

*A mi marido, por su apoyo y por las innumerables sesiones informáticas, las cuales parece que finalmente han dado sus frutos.*

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1. ANGIOGÉNESIS</b> .....	<b>5</b>
1.1.1. Historia de la angiogénesis.....	5
1.1.2. Importancia de la angiogenesis.....	6
1.1.3. Etapas .....	9
<b>1.2. FACTOR DE CRECIMIENTO PARA FIBROBLASTOS (FGF)</b> .....	<b>12</b>
<b>1.3. FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR (VEGF)</b> .....	<b>13</b>
<b>2. PSORIASIS</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1. LA PSORIASIS ES UNA ENFERMEDAD ANGIOGÉNESIS DEPENDIENTE</b>	<b>16</b>
<b>2.2. PREVALENCIA E IMPACTO CLÍNICO</b> .....	<b>17</b>
<b>2.3. FISIOPATOLOGÍA</b> .....	<b>19</b>
<b>2.5. FACTORES PRECIPITANTES</b> .....	<b>23</b>
<b>2.6. SEVERIDAD</b> .....	<b>24</b>
<b>2.7. TRATAMIENTOS ACTUALES</b> .....	<b>25</b>
<b>3. ÁCIDO 2,5 - DIHIDROXI -BENCENOSULFONATO (DHBS)</b> .....	<b>41</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>44</b>
<b>5. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>47</b>
<b>5.1- ESTUDIOS PRECLÍNICOS</b> .....	<b>48</b>
5.1.1.- Modelo de dermatitis aguda en la rata .....	48
5.1.2. Cuantificación de la actividad mieloperoxidásica.....	49
5.1.3. Modelo de angiogénesis in vivo .....	51
5.1.4. Análisis estadístico.....	52

<b>5.2. ESTUDIOS CLÍNICOS</b> .....	<b>52</b>
5.2.1. Pacientes .....	52
5.2.2. Criterios de inclusión .....	53
5.2.3. Criterios de exclusión.....	54
5.2.4. Análisis estadístico.....	54
5.2.5. Tratamiento.....	54
<b>6. RESULTADOS</b> .....	<b>56</b>
<b>6.1. RESULTADOS PRECLÍNICOS</b> .....	<b>57</b>
6.1.1. El ácido DHBS inhibe la permeabilidad vascular en un modelo animal de dermatitis aguda. ....	57
6.1.2. El ácido DHBS disminuye la actividad mieloperoxidásica .....	58
6.1.3. El ácido DHBS inhibe la angiogénesis inducida por el FGF-1.....	60
<b>6.2. RESULTADOS CLÍNICOS</b> .....	<b>62</b>
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	<b>68</b>
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	<b>76</b>
<b>9. ANEXOS</b> .....	<b>78</b>
<b>10 BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>83</b>

# INTRODUCCIÓN

## **1.1. ANGIOGÉNESIS**

### **1.1.1. Historia de la angiogénesis**

1787- El cirujano Hunt utilizó por primera vez el término “angiogénesis” para describir el crecimiento de nuevos vasos en el cuerno de un reno.

1971- Folkman formuló la hipótesis de que el crecimiento tumoral depende de la angiogénesis.

1975- Folkman y Brem descubren el primer factor angiogénico en el cartílago.

1984- Yuen Shing y Klagsbrun purifican el primer factor angiogénico: bFGF.

1986- Giménez-Gallego secuencia y sintetiza el aFGF.

1989- Ferrara descubre uno de los factores de crecimiento angiogénico más importantes: VEGF.

1989- Se realiza con éxito el primer tratamiento en tumores angiodependientes usando INF alfa 2a.

1994- Se funda la Angiogenesis Foundation.

1999- Ola masiva de drogas antiangiogénicas en diversos ensayos clínicos en cáncer, degeneración macular, retinopatía diabética y psoriasis.

2003- Avastatin (Bevacizumab) es la primera droga antiangiogénica que se muestra en ensayos clínicos a gran escala: inhibe el crecimiento de los vasos y prolonga la supervivencia de pacientes con cáncer.

### **1.1.2. Importancia de la angiogenesis**

El término angiogénesis significa, literalmente, formación de nuevos vasos sanguíneos. En este proceso se diferencian la vasculogénesis y la angiogénesis propiamente dicha; en la vasculogénesis se establece el patrón vascular del adulto mediante la formación de vasos sanguíneos provenientes de células endoteliales diferenciadas que proliferan, paralelamente al crecimiento corporal. Por otra parte, la angiogénesis propiamente dicha consiste en la formación de nuevos capilares a partir de otros ya existentes. Esto ocurre en condiciones fisiológicas como en la reparación de tejidos y el ciclo menstrual femenino. Sin embargo, una angiogénesis exuberante se asocia con un importante número de procesos patológicos como las enfermedades tumorales, donde es crucial para el crecimiento, la invasión y las metástasis. La angiogénesis patológica también está presente en las denominadas enfermedades angiogénicas, entre las que se encuentran además de los tumores sólidos y sus metástasis, la retinopatía diabética, la arteriosclerosis, la hipertensión y diversas afecciones de base patológica inflamatoria como la psoriasis y la artritis reumatoide (Cuevas P, 2000).

## INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la implicación del endotelio en enfermedades dependientes de la angiogénesis justifica como el endotelio disfuncional participa inicialmente en enfermedades cutáneas como la esclerodermia o la psoriasis, mucho antes de que sus manifestaciones clínicas sean percibidas por el especialista.

El endotelio interviene en la homeostasis vascular de diferentes procesos fisiológicos como la regulación del tráfico leucocitario a nivel de vénulas post-capilares, la modulación de la hemostasis y de la trombosis, el control del tono vascular, la angiogénesis y la permeabilidad vascular.

La angiogénesis puede ser inducida en cualquier parte del organismo por diferentes estímulos como hipoxia, isquemia, trauma físico (heridas, fracturas) o inflamación. Dicho proceso comienza por una alteración en el equilibrio local entre los factores reguladores positivos y negativos. Entre los factores de crecimiento promotores de la angiogénesis mejor caracterizados, destacan algunos factores de tipo polipeptídico como el factor de crecimiento para fibroblastos (bFGF), el factor de crecimiento placentario (PlGF), el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor necrosante tumoral (TNF)- $\alpha$ .

El VEGF o VPF (Factor de Permeabilidad Vascular) desempeña un papel fundamental durante la inflamación cutánea, pues aumenta la permeabilidad vascular en la dermis



y su potencia en este proceso es 50.000 veces mayor que la histamina (Ferrara N, 2004).

Por estas razones, la inhibición farmacológica de la angiogénesis patológica se plantea como una nueva estrategia para este tipo de enfermedades (Pandya NM et al., 2006; Kiselyov A. et al., 2007) y puesto que en el adulto la angiogénesis fisiológica tiene una importancia menor, la inhibición específica de dicho proceso implicaría unos resultados colaterales aceptables en relación con el beneficio terapéutico.

Hoy es técnicamente posible, por un lado, desarrollar terapias para acelerar el proceso de neovascularización (terapia angiogénica) en el infarto de miocardio o en la insuficiencia vascular periférica (Peter R, et al., 2001; Cuevas P, 2002). Recientemente se ha demostrado la eficacia terapéutica del FGF en pacientes sometidos a bypass coronarios. La revascularización farmacológica con FGF en estos pacientes aumenta la capacidad contráctil del corazón infartado, produce una mayor resistencia del paciente a pruebas ergométricas y una menor incidencia de episodios de angina. Por otro lado, también es posible el uso de fármacos para neutralizar la angiogénesis (terapia antiangiogénica), que podría ser aplicada en cualquier enfermedad angiodependiente, aunque es en oncología donde ha experimentado su mayor avance (Nishida N et al., 2006; Tabruyn SP and Griffioen AW, 2007; Tonra JR and Hicklin DJ, 2007).

La modulación de la angiogénesis desde el punto de vista clínico propiciará que en las próximas décadas más de 500 millones de personas en todo el mundo puedan beneficiarse de esta nueva modalidad terapéutica (Carmeliet P, 2005).

### 1.1.3. Etapas

La angiogénesis es un complejo proceso biológico en el que se suceden diferentes etapas, como muestra la siguiente figura.

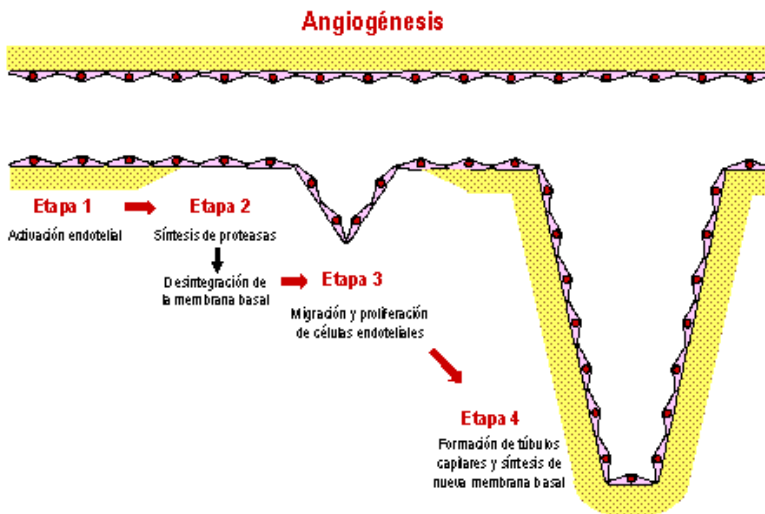


Fig.1.- Representación de las distintas etapas de la angiogénesis

### **Etapa 1: Activación endotelial**

Las células endoteliales activadas en la angiogénesis muestran una rápida proliferación por lo que requieren un alto soporte metabólico, que las hace más susceptibles a la acción citotóxica de agentes antitumorales, así como a la de nuevos agentes antiproliferativos específicos.

### **Etapa 2: Síntesis y liberación de proteasas**

Una vez que las células endoteliales se activan, se produce un cambio en su fenotipo y liberan una serie de proteasas que permitirán disolver la membrana basal perivascular. Las más importantes son las metaloproteinasas de la matriz o MPMs (matrix metalloproteinases o MMPs) que degradan la matriz extracelular, el material que llena los espacios entre las células, compuesto de proteínas y polisacáridos. La degradación de esta matriz permite la migración de las células endoteliales.

Estas enzimas proteolíticas también pueden modular la actividad de los factores angiogénicos, bien sea por la activación directa de citocinas latentes, como el TGF-beta, o de forma indirecta liberando factores de crecimiento unidos a la matriz extracelular, como el FGF.

Algunos factores angiogénicos, como VEGF, bFGF, TNF-alfa e IL-1, estimulan la producción de MMP-1, MMP-3 y MMP-9 por las células endoteliales. Además, algunos inhibidores de MMPs son inhibidores de la angiogénesis in vitro e in vivo.

### **Etapa 3: Migración de las células endoteliales**

Las células endoteliales migran, invadiendo el tejido conectivo y el parénquima. Dicha migración presenta múltiples dianas para la intervención farmacológica como la interacción de las células endoteliales con moléculas como fibronectina, laminina y proteínas de adhesión celular.

Durante la migración de las células endoteliales, el FGF induce la expresión del activador de plasminógeno tipo uroquinasa (u-PA), del tipo tisular (t-PA), del inhibidor del activador de plasminógeno-1 (PAI-1) y del receptor de u-PA. El factor angiogénico VEGF también estimula la producción por las células endoteliales de los activadores de plasminógeno y de sus inhibidores.

### **Etapa 4: Diferenciación de las células endoteliales para formar túbulos capilares**

Algunas de las células han de volver al estado de reposo para formar las paredes de los nuevos capilares y comenzar a producir la matriz extracelular y la membrana basal necesarias para estabilizarlos.

A medida que las células endoteliales migran a los tejidos vecinos, empiezan a dividirse. Pronto se organizan en tubos huecos que evolucionan gradualmente y se convierten en una red madura de vasos sanguíneos.

## **1.2. FACTOR DE CRECIMIENTO PARA FIBROBLASTOS (FGF)**

La primera evidencia de la existencia de factores estimulantes del crecimiento de fibroblastos data de más de 70 años, al demostrar Trowell (1939) que en extractos cerebrales existía una importante fuente de componentes que estimulaban la mitogénesis de los fibroblastos. Armelín (1973) mostró que la glándula pituitaria contenía también dichos factores para favorecer la proliferación de fibroblastos Balb/c 3T3, una estirpe celular de ratones que desde entonces ha sido fundamental en los estudios biológicos necesarios para identificar las sustancias responsables de forma individual.

En los años siguientes, Gospodarowicz et al. (1978) encontraron en extractos cerebrales, unos factores que estimulaban la división de fibroblastos Balb/c 3T3, llamándoles Factores de Crecimiento fibroblástico.

Años más tarde se determinó la existencia de dos isoformas del FGF; aFGF (proteína ácida, FGF-1, ECGF o HBGF-1) y bFGF (proteína básica, FGF-2, HBGF-2 o EDGF) . Hoy en día son las dos isoformas de la familia de los FGF mejores caracterizadas (Giménez-Gallego G et al., 1985, 1986).

La familia de FGF es un grupo de moléculas que necesitan la presencia de HSPGs (heparan sulfate proteoglycans) para unirse a sus receptores, con lo que se potencia su actividad biológica (Baird A. et al., 1988; Ishihara M. et al., 1994). La función de los factores de crecimiento no sólo es la de

estimular la proliferación celular mediante la regulación del ciclo celular iniciando la mitosis, sino también el mantener la supervivencia celular, estimular la migración celular, la diferenciación celular e incluso inhibir la apoptosis.

Actúan uniéndose a receptores celulares situados en la membrana celular que transmiten la señal del exterior al interior de la célula, mediante el acoplamiento de diferentes proteínquinas que se fosforilan y que activan una cascada de señales que acaba con la activación de uno o varios genes.

### ***1.3. FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR (VEGF)***

El VEGF es un regulador clave de la angiogénesis durante la embriogénesis, el crecimiento del esqueleto, la curación de heridas y las funciones reproductivas. Se le ha implicado también en la patogénesis de una gran variedad de patologías, como los tumores, la degeneración macular, la isquemia de miocardio y las enfermedades inflamatorias.

En las enfermedades inflamatorias, el VEGF se comporta como una citocina pro-inflamatoria, por lo que incrementa la permeabilidad de las células endoteliales. Durante la cicatrización de las heridas o en la psoriasis se expresan grandes cantidades de VEGF por lo que se aumenta la permeabilidad vascular y la angiogénesis.

En estudios de hibridación in-situ se demuestra la expresión de RNA mensajero del VEGF en la mayoría de los tumores humanos; a diferencia del estímulo isquémico que tiene lugar en la isquemia de miocardio y en las enfermedades retinianas, en los tejidos neoplásicos su síntesis es promovida por las propias células tumorales (Ferrara N, 2004).

Por todo ello, la inhibición de la angiogénesis es una estrategia terapéutica prometedora para enfermedades que dependen de la misma. La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha se han realizado en patología tumoral. En dichos estudios, la mayoría de los inhibidores de la angiogénesis tumoral aprobados por la FDA, son monoterapias que bloquean el VEGF (Folkman J, 2006), como Avastáin por ejemplo, que se utiliza como primera línea de tratamiento para el cáncer colorectal metastático, en combinación con quimioterapia (Ferrara N, 2004).

# PSORIASIS



## **2.1. LA PSORIASIS ES UNA ENFERMEDAD ANGIOGÉNESIS DEPENDIENTE**

La angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes) es un proceso biológico clave en la psoriasis. En la dermis de las lesiones psoriásicas existe un intenso proceso angiogénico, caracterizado por la existencia de vasos sanguíneos dilatados y tortuosos que muestran una intensa proliferación endotelial.

La inflamación cutánea que aparece en las fases iniciales de la lesión psoriásica está asociada a la presencia de citocinas que activan localmente diferentes factores de crecimiento como el FGF que, a su vez, induce la proliferación de los queratinocitos epidérmicos (Krueger JB, 1998). De esta forma se produce la hiperplasia epidérmica. El aumento local de queratinocitos epidérmicos, junto con el aumento del número de células inflamatorias, perpetua la lesión psoriásica.

En condiciones normales la vascularización cutánea de un individuo adulto permanece quiescente, ya que predominan los inhibidores endógenos de la angiogénesis sobre los inductores angiogénicos. El nivel de oxígeno de un tejido está regulado fisiológicamente por el equilibrio existente entre su aporte y su consumo. Como en las lesiones psoriásicas el número de queratinocitos y de células inflamatorias aumenta considerablemente, el consumo de oxígeno predomina sobre el aporte sanguíneo del mismo, y por lo tanto, se genera una

hipoxia local que va a condicionar la evolución y persistencia de la lesión psoriásica. Las células hipóxicas expresan el factor inducible por la hipoxia (HIF) que está muy activado en las lesiones psoriásicas (Rosenberger C. et al., 2007). Este factor activa a su vez al FGF y al VEGF (Li J. et al., 2002; Li W. et al., 2009) necesarios para, al aumentar la angiogénesis, conseguir un mayor aporte de oxígeno necesario para la supervivencia, tanto de los queratinocitos como de las células inflamatorias de la lesión. Se consigue así un ambiente de menor hipoxia, donde estas células pueden sobrevivir mejor y por ende, perpetuar las lesiones psoriásicas. Además, el HIF es fundamental para la supervivencia y función de los linfocitos T (Kojima H., 2003).

## ***2.2. PREVALENCIA E IMPACTO CLÍNICO***

La psoriasis presenta una prevalencia que oscila entre un 1-3% en la población general, con dos picos de mayor incidencia: los 30 y los 60 años (Schon MP & Boehnke WH, 2005).

Se manifiesta clásicamente como placas y/o pápulas eritemato-descamativas bien delimitadas en cuero cabelludo, codos, rodillas, manos, pies, uñas y tronco. Existen otros patrones clínicos como son la psoriasis en placas, invertida (en pliegues), eritrodérmica (forma generalizada) o pustulosa (generalizada, anular, pustulosis palmoplantar, acrodermatitis continua de Hallopeau).

Existe una comorbilidad asociada a la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad cardiovascular y linfoma.

Al margen de la existencia de asociaciones estadísticamente significativas entre psoriasis y otras enfermedades prevalentes, la cronicidad de ésta hace que, con frecuencia, el paciente psoriásico presente otras enfermedades de carácter también crónico, y que en muchos momentos exista una sensación por parte del paciente de pérdida de control. Por ello es importante la educación del paciente hacia la enfermedad.

Existe una gran variabilidad de la afectación de la calidad de vida del paciente psoriásico, sin correlacionarse en muchas ocasiones con el grado de severidad de la enfermedad y con una repercusión que puede llegar a ser muy relevante. De hecho, a pesar de que sólo el 30% de los psoriásicos tiene una enfermedad moderada o grave, se observa una mayor depresión e ideación suicida entre los pacientes con psoriasis que en los controles (Gollnick HPM,1998).

Todo ello propicia que muchos pacientes no tengan en cuenta los límites de los tratamientos, pretendiendo conseguir un completo aclaramiento a pesar de que sea a expensas de un uso excesivo de fármacos, con sus correspondientes efectos secundarios. Esta circunstancia, por otra parte, puede incidir en el elevado coste que suponen dichos tratamiento para el sistema sanitario.

El objetivo de los tratamientos debería ser lograr disminuir la frecuencia y la intensidad de los brotes pero sin causar efectos secundarios importantes. Todo ello a través de tratamientos secuenciales, combinados y rotacionales.

### **2.3. FISIOPATOLOGÍA**

La Psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel, con una base genética poligénica, autoinmune y causa todavía desconocida. Los estudios genéticos apuntan hacia una alteración en el cromosoma 6 (PSORS1) localizado en el complejo mayor de histocompatibilidad (cromosoma 6p21.3 ) en más del 50% de los pacientes. A ello se suman factores ambientales y diversos desencadenantes como infecciones, fármacos o estrés.

Microscópicamente se caracteriza por una hiperproliferación de los queratinocitos epidérmicos, una angiogénesis dérmica y una intensa infiltración de células inflamatorias T (Nickoloff BJ & Nestle FO, 2004). Estos parámetros histológicos son los que condicionan el aspecto bien delimitado de las lesiones psoriásicas que, aunque comúnmente se localizan en la cara posterior del codo y anterior de la rodilla, pueden afectar a cualquier superficie cutánea.

Las interacciones moleculares entre los queratinocitos y los linfocitos T que acontecen en las fases iniciales de las lesiones psoriásicas, originan un “nicho” o “ambiente” molecular rico en citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento que incluyen

las interleucinas 1, 12 y 23, el factor de necrosis tumoral (TNF)-alfa, interferones, el FGF y el VEGF (Detmar M. et al., 1994; Creamer D. et al., 2002; Nielsen HJ et al., 2002; Simonetti O et al., 2006; Fink AM et al., 2007). El aumento de moléculas inflamatorias (citocinas, quimiocinas, FGF y VEGF) no sólo es local a nivel de la lesión, sino también a nivel sistémico (Schon MP & Beohnke WH, 2005). Por ello, la detección sistémica de estas moléculas, no sólo es un índice de la gravedad de la psoriasis, sino que también puede ser un parámetro biológico para demostrar la eficacia terapéutica de los diversos tratamientos antipsoriásicos (Bhushan M et al., 1999; Carmena Ramón R. et al, 2002; Nielsen HJ et al., 2002).

Estas observaciones justifican las terapias diana o específicas que, al bloquear la actividad de las citocinas, quimiocinas o de los factores de crecimiento, pueden ser eficaces en el tratamiento de la psoriasis y de otras enfermedades autoinmunes (Griffits CEM & Woorhess JJ, 1996).

La inflamación y la angiogénesis son dos procesos biológicos codependientes y, por lo tanto, la inhibición de la angiogénesis produce efectos antiinflamatorios (Jakson JR et al. 1997). Es muy difícil poder discernir cual de los dos procesos, inflamación y angiogénesis, es el iniciador de la lesión psoriásica. Lo que sí es evidente es que la angiogénesis es un proceso biológico necesario para aportar más células inflamatorias al área de inflamación local.

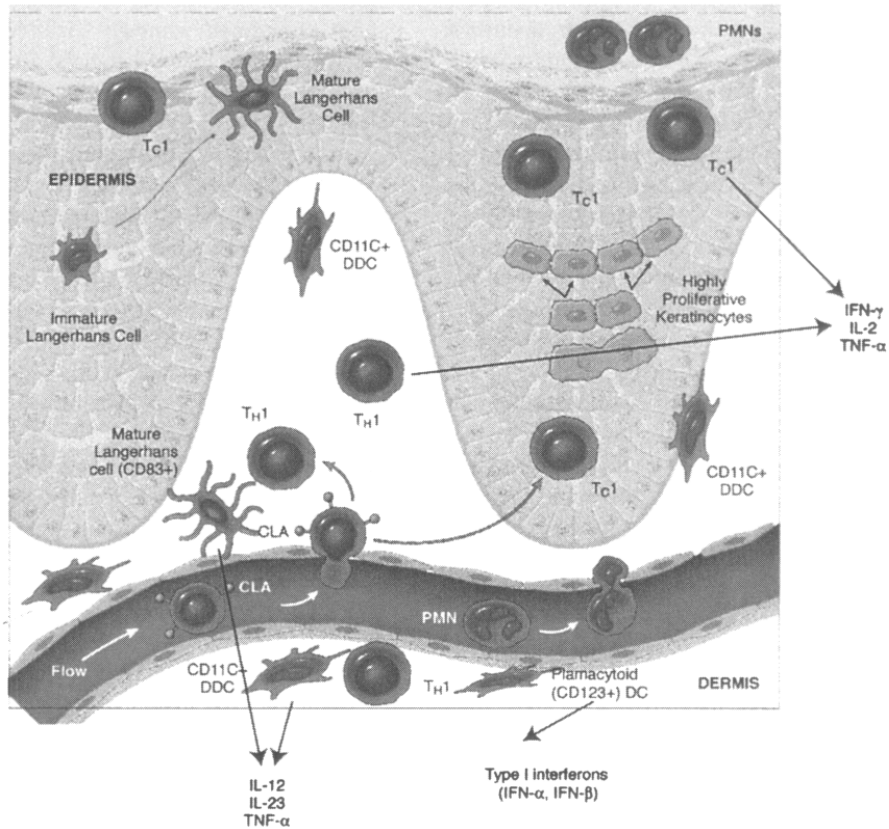


Fig. 2. Esquema representativo de la participación de citocinas en la psoriasis

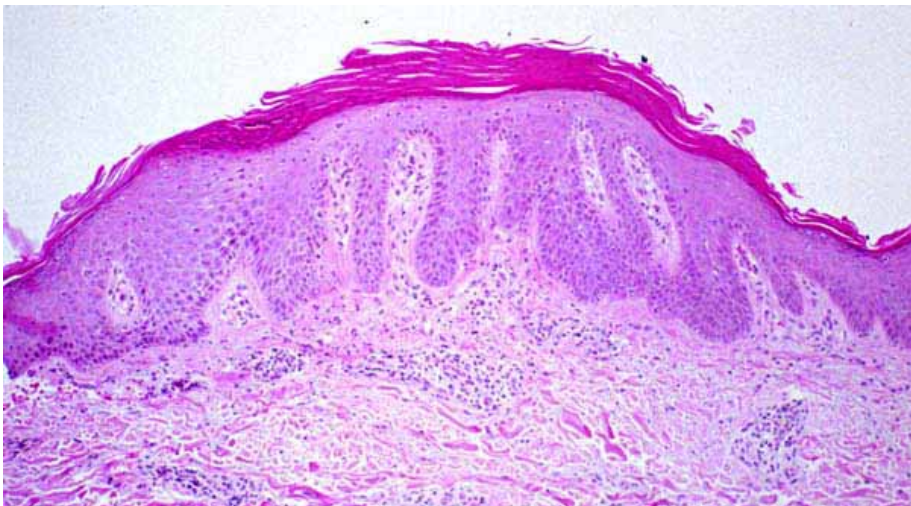
## 2.4. HISTOLOGÍA

Histológicamente la psoriasis se caracteriza por hiperplasia epidérmica (acantosis), disminución de la capa granular (hipogranulosis), paraqueratosis intermitente, papilas dérmicas alargadas regulares, infiltración leucocitaria en epidermis y dermis (perivascular) y angiogénesis dérmica (Krueger JC, 1998; Nickoloff BJ, 2004). Los acúmulos de neutrófilos en el estrato córneo forman los llamados micro-abscesos de Munro-

## PSORIASIS

Sabouraud y menos frecuentemente en la capa espinosa, con el nombre de pústula esponjiforme de Kogoj. Un signo patognomónico de la lesión psoriásica es la presencia en las papilas dérmicas de capilares tortuosos y ectásicos con frecuentes figuras mitóticas endoteliales.

La figura siguiente muestra el aspecto histológico típico de una lesión psoriásica .



*Fig. 3: Aspecto microscópico de una lesión psoriásica que muestra acantosis psoriasiforme, hiperparaqueratosis, atrofia epidérmica suprapapilar y capilares dérmicos dilatados.*

## **2.5. FACTORES PRECIPITANTES**

La psoriasis cursa en brotes, aunque existe mayor probabilidad de que aparezca uno de ellos cuando nos encontramos con los siguientes factores desencadenantes:

- **DROGAS:** betabloqueantes, litio, AINES, IECAS, antipalúdicos.
- **INFECCIONES:** como por ejemplo la psoriasis gutata, que se asocia a streptococo beta hemolítico grupo A.
- **ALCOHOL/TABACO:** el alcoholismo es un factor de riesgo que aumenta la morbimortalidad entre los pacientes con psoriasis. También aumenta la toxicidad de fármacos como el Metotrexate.
- **TRAUMATISMOS** (fenómeno isomórfico de Koebner).
- **ESTRÉS PSICOLÓGICO:** el impacto de la psoriasis en la calidad de vida es similar a otra enfermedad médica mayor como cáncer, HTA, DM, HTA, depresión... Hasta el 40% de los brotes son causados por estrés.
- Resultados de los Miembros de la Fundación Nacional de Psoriasis, con enfermedad severa, referían sentirse frustrados con el manejo de su enfermedad y por percibir ineficacia de las terapias.
- **CLIMA:** el ambiente caluroso, soleado, y húmedo mejora las lesiones; por el contrario el frío y seco las empeora.



## **2.6. SEVERIDAD**

La psoriasis tiene un impacto en la calidad de vida de los pacientes, sin embargo no es concordante con la severidad clínica; para valorar esta última se utiliza un indicador llamado score PASI: Psoriasis Area and Severity Index (Finlay AY & Khan GK, 1994). (anexo 1)

En general un PASI 75 ha sido hasta la fecha un punto de corte para la mayoría de ensayos clínicos, aunque se ha observado que con un PASI 50 ya se obtiene un cambio importante en la calidad de vida de estos pacientes. De hecho un PASI 50 es estadísticamente significativo con respecto a placebo.

Clínicamente se considera psoriasis leve (70-80%): la variedad en gotas y la forma en placas que afecta a menos del 10% de la superficie cutánea; moderada (12-15%) cuando las placas ocupan del 10 al 25% de la totalidad del tegumento, siempre y cuando se respeten manos, pies, genitales, pliegues y región facial (áreas incapacitantes) y no haya artropatía, y finalmente grave (5-10%) cuando la extensión de las lesiones supera el 25% de la superficie corporal, se localiza en zonas incapacitantes y existe artropatía o afectación psicológica que interfiera en la vida diaria.

## **2.7. TRATAMIENTOS ACTUALES**

Durante décadas la terapia antipsoriasis ha estado limitada por un lado en su forma tópica a corticoides, breas y retinoides (Tabla 1) y por otro lado al tratamiento de Goeckerman, fototerapia y diversas drogas por vía sistémica, con un uso limitado debido a los efectos secundarios, muchas veces graves, ya que eran utilizados generalmente durante largos periodos de tiempo.

Hoy en día se dispone de un amplio abanico de tratamientos tanto tópicos como sistémicos, a pesar de lo cual un 40% de los pacientes se sienten frustrados por la ineffectividad de sus actuales tratamientos y un 32% piensa que su tratamiento no es lo suficientemente agresivo (Gudjonsson JE & Elder JT, 2009).

En los casos leves (70%) de psoriasis se suelen utilizar preparados tópicos como los corticoides, análogos de la vitamina D y retinoides principalmente. (Tabla 2)

El cumplimiento de estos tratamientos tópicos por parte de los pacientes es limitado. Hasta un 30% no cumplen con la duración del tratamiento y un 50% no siguen la frecuencia de aplicación. Sin embargo, son tratamientos muy eficaces cuando se realizan correctamente, por lo que el dermatólogo juega un papel fundamental para conseguir esa adherencia al tratamiento (Gudjonsson JE & Elder JT, 2009).

Los casos moderado-severos a menudo requieren fototerapia o tratamiento sistémico incluyendo el metotrexate, acitretino, ciclosporina o agentes biológicos (Lebwohl M et al., 2005).

La introducción de los agentes biológicos en 2003 revolucionó la terapia de la psoriasis, pero con la experiencia, se ha visto que en muchas ocasiones no son suficientes en monoterapia.

A continuación realizaremos un somero repaso de todos ellos.

Entre los tratamientos clásicos que han ido desapareciendo, destaca la terapia de Goeckerman, consistente en la aplicación de breas y UVB de banda estrecha. Es un tratamiento muy eficaz, con largos periodos libres de enfermedad (De Miguel R & Alzahari R, 2009), pero engorroso y que precisa de personal, instalaciones apropiadas y posibilidad del paciente a acudir el tiempo necesario para su realización (3 semanas aproximadamente). Por ello, son escasos los centros europeos en los que lo siguen usando como es el caso de la República Checa. Esta terapia disminuye significativamente la actividad angiogénica existente en la psoriasis, como se demostró en un estudio en el que se compararon las cifras de VEGF y FGF en pacientes psoriásicos, antes y después del tratamiento (Andrys C et al., 2007).

Otro tratamiento poco utilizado actualmente es el Régimen de Ingram (combina antralina con fototerapia UVB). Produce dermatitis de contacto irritativas y tinción tanto de ropa, como de piel, cabello y uñas.

Los corticoides son uno de los tratamientos tópicos más utilizados para las placas de psoriasis, por su eficacia en casos leves y como coadyuvante en moderados o severos. Pero su uso queda limitado, ya que puede producir atrofia de la piel, telangiectasias, estrías, dermatitis perioral, glaucoma y acné entre otros (Mills CM & Marks R, 1993; Kane D et al., 2003). Estos efectos secundarios son más evidentes si la aplicación tópica del corticoide se realiza sobre áreas intertriginosas o en la cara, así como en áreas sometidas a un tratamiento prolongado o con un corticoide potente.

Dentro de los análogos de la vitamina D, los más utilizados son el calcipotriol, el tacalcitol y maxacalcitol. Se usan generalmente en combinación con los corticoides tópicos, para intentar ahorrar cantidad de corticoide para minimizar los efectos secundarios de éstos. Son menos eficaces que los corticoides por si solos. Es frecuente la irritación en el sitio de aplicación que va disminuyendo conforme se usa el producto. La hipercalcemia es rara si no se sobrepasan los 100gr/semana.

El Tazaroteno es un retinoide de tercera generación que al igual que los análogos de la vitamina D, se usa conjuntamente con los corticoides tópicos. También se puede combinar con fototerapia UVB o incluso UVA (pero recomendándose que se disminuya la dosis de luz UV). En monoterapia produce irritación local.

**Tabla 1**

## **CLASIFICACION CORTICOIDES POR POTENCIA**

### **CLASE I: SUPERPOTENTES**

Propionato de clobetasol 0.05%  
Diacetato de diflucortolona 0.05%  
Propionato de halobetasol 0.05%  
Halcinónido 0.1%

### **CLASE II /III: ALTA POTENCIA**

Dipropionato de betametasona 0.05%  
Dipropionato de beclometasona 0.025%  
Acetónido de triamcinolona 0.1%  
Acetónido de fluocinolona 0.1%  
Furoato de mometasona 0.1%  
Valerato de diflucortolona 0.1%  
Fluocinónido 0.05%  
Fluocortolona 0.2%  
Aceponato de metilprednisolona 0.1%

### **CLASE III /IV: MODERADA POTENCIA**

Valerato de betametasona 0.1%  
Fuorato de mometasona 0.1%  
Prednicarbato 0.25%  
Fluocinónido 0.025%  
Aceponato de hidrocortisona 0.1%  
Propionato-butirato de hidrocortisona 0.1%

## CLASE VI / VII: BAJA POTENCIA

Hidrocortisona 1 y 2.5%

Prednicarbato 0.05%

A pesar de la existencia de dos fármacos inhibidores de la calcineurina: Tacrólimus y Pimecrólimus, este último tiene escasa eficacia en psoriasis, por lo que su uso se limita a lesiones de sebopsoriasis faciales principalmente. El Tacrólimus tampoco es eficaz para placas de psoriasis crónica, pero sí lo es para psoriasis invertida y facial. La sensación de quemazón en el lugar de aplicación ocurre sólo en los primeros días, pero en algunos pacientes es suficiente para suspender el tratamiento. Hay que tener en cuenta los casos descritos de neoplasias malignas en pacientes psoriásicos tratados con Tacrólimus.

El Tacrólimus y el Pimecrólimus se pueden usar por vía oral, reduciendo el PASI un 83% en algunos estudios.

Como hemos ido observando, la terapia combinada es muy utilizada en el tratamiento habitual de la psoriasis para aumentar la respuesta clínica, minimizando los efectos secundarios de fármacos antipsoriásicos como ocurre con los corticoides. Además de combinar tratamientos tópicos con tópicos, es habitual la combinación de tópicos con sistémicos como acitretino con un análogo de la vitamina D y de sistémicos entre sí, como el caso de Metotrexate y fármacos anti TNF $\alpha$ .

**Tabla 2**

	PRINCIPIO	MECANISMO DE ACCIÓN	USOS PRINCIPALES	EFFECTOS ADVERSOS
<b>Emolientes y humedactantes</b>	Vaselina, parafina, urea, glicerina, polioxietilenglicoles	Hidratán la capa córnea, disminuyen la unión de los corneocitos	Cualquier forma de psoriasis	
<b>Queratólíticos</b>	Ac salicílico	Favorecen la separación de los corneocitos	Lesiones con gran componente descamativo	Se absorben percutáneamente; no aplicar sobre zonas muy extensas
<b>Reductores</b>	Compuestos de brea Compuesto de antralina	Acción antimitótica. Fotosensibilizante. Goeckerman. Acción antimitótica. Ingram.	Procesos descamativos del cuero cabelludo	Tinción de ropa; irritante cutáneo; erupciones acneiformes. Tinción piel y ropa; dermatitis perilesional; aplicada cerca de los ojos puede provocar conjuntivitis.
<b>Corticoides</b>			Psoriasis estable en placas	Supresión eje hipotálamohipófisis; efectos secundarios sistémicos, rebrote al aplicarlos en grandes superficies o en curas oclusivas; taquifilaxia; uso prolongado: estrias, telangiectasias, atrofia cutánea
<b>Derivados de la vitamina D</b>	Calcipotriol Tacalcitol Maxacalcitol	Regulan la proliferación e inhibe la diferenciación de queratinocitos	Placas de psoriasis leve a moderada	Empeoramiento de las lesiones al principio del tratamiento; El tacalcitol se inactiva con la radiación solar. Acción sobre el metabolismo del calcio; irritantes cutáneos
<b>Retinoides</b>	Tazaroteno	Normaliza la diferenciación de epidermis; efecto antiproliferativo	Placas de psoriasis leve a moderada (reduce placas y escamas pero no el eritema)	Irritante cutáneo
<b>Inhibidores de la calcineurina</b>	Tacrólimus Pimecrólimus	Inhibe la calcineurina, bloqueando la trasducción de señales de LT (incluida IL2)	Psoriasis invertida y facial	Sensación quemazón. Casos de linfoma

El mecanismo de acción de la fototerapia no es del todo conocido. La energía fotovoltáica es absorbida por los tejidos y, tras determinadas reacciones químicas, deplecciona de forma selectiva las células T de la epidermis y desplaza la respuesta Th1 a Th2 en la zona lesionada. Por otra parte disminuye la síntesis de DNA con lo que disminuye la proliferación de queratinocitos, células inflamatorias y células presentadoras de antígenos. Dicha reacción aumenta con el uso de psoralenos.

Existen distintas modalidades: UVB banda estrecha (312nm), UVB de banda ancha (290-320), radiación UVA (400-320nm) junto con un psoraleno por vía oral: PUVA y láser excímero entre otros.

La luz ultravioleta B de banda estrecha (312nm) es superior a la UVB de banda ancha (290-320nm) con respecto a la desaparición de las lesiones y los tiempos de remisión. El tratamiento con PUVA es más eficaz que con UVB pero menos conveniente por los efectos secundarios.

El láser excímero monocromático (308nm) es eficaz en pacientes con lesiones psoriásicas clásicas en codos y rodillas resistentes a otros tratamientos.

La terapia fotodinámica a pesar de ser un tratamiento que últimamente se está utilizando en una gran variedad de dermatosis inflamatorias no se considera eficaz en la psoriasis; además produce un dolor importante durante y después del tratamiento.



En psoriasis moderada a grave se usan una serie de fármacos sistémicos que, aunque en muchos casos consiguen un blanqueamiento aceptable, se asocian frecuentemente a importantes efectos secundarios (Zeichner JA & Lebwohl M, 2007; Menter et al. 2009).

El **metotrexate** es un fármaco que inhibe una enzima que participa en el metabolismo de las purinas, acumulándose la adenosina extracelular que tiene una acción antiinflamatoria potente, sobre todo para los neutrófilos. Este mecanismo parece ser independiente de la dihidrofolato reductasa por lo que la ingesta de ácido fólico de forma concomitante reduce la anemia megaloblástica pero no interfiere en la eficacia del tratamiento.

Es uno de los fármacos más eficaces para la psoriasis, siendo especialmente útil en artropatía psoriásica, pero hay que tener en cuenta que su efecto es lento.

Puede provocar desde síntomas generales (Saporito FC & Menter MA, 2004) (como fatiga, astenia, artromialgia y cefalea), gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, anorexia, estomatitis), anemia megaloblástica, neumonitis y hepatotoxicidad, pudiendo inducir fibrosis, por lo que se recomienda realizar biopsias hepáticas seriadas.

La asociación con el linfoma no está clara. Recientemente se han publicado numerosos casos de linfoma asociado a VEB en pacientes psoriásicos en tratamiento con metotrexate.

Parece que en los pacientes con artritis reumatoide tratados con este fármaco se ha observado un aumento de riesgo de tumores: tres veces más casos de melanoma, 5 veces de linfoma no Hodgkin y 3 veces de cáncer de pulmón.

La **ciclosporina** (Pearce DJ et al., 2006) es un inmunomodulador que inhibe de forma rápida y eficaz la activación de las células T. El efecto secundario más importante es la nefrotoxicidad en incluso la hipertensión arterial. También se ha observado cefalea, hipertricosis, hipercalcemia, hiperuricemia, hipomagnesemia e hipertrigliceridemia entre otros. La alta frecuencia de carcinoma espinocelular podría atribuirse a que son pacientes que han estado expuestos previamente a psoralenos y UVA/UVB.

Parece ser que los efectos secundarios más graves como los renales son más evidentes con una posología continuada de dos a tres años, aunque ya en las guías americanas recomiendan no superar el año de tratamiento.

Es especialmente útil en la psoriasis diseminada muy inflamatoria o muy eritrodérmica.

El **Acitretino** (Wang CK & Lee JY, 1996) es un retinoide de segunda generación cuyos efectos secundarios a corto plazo son sobre todo muscarínicos; también se observa un aumento de enzimas hepáticas y lípidos y teratogenicidad. A largo plazo puede existir un aumento de calcificaciones de ligamentos y esqueléticas como la hiperostosis. Existe un síndrome llamado:

DISH (Diffuse Idiopathic Skeletal Hyperostosis), que parece asociarse a este tratamiento.

En fotoquimioterapia se puede usar como psoraleno la isotretinoína, especialmente en mujeres en edad fértil. Parece ser que la isotretinoína mejora la respuesta del ultravioleta B.

Los **ésteres del ácido fumárico** llevan usándose desde 1959 con una eficacia atribuida a las propiedades inmunomoduladoras, induciendo un cambio de respuesta Th1 a Th2 y aumentando la producción de interleucinas antiinflamatorias. Pueden presentar efectos secundarios gastrointestinales, elevación de creatinina y linfopenia. A pesar de existir estudios con una reducción promedio del 80% del PASI no están aprobados de forma extendida, sólo se usan en el norte de Europa (en Alemania y Holanda) con una dosis máxima de 1200mgr.

Existen otros **tratamientos sistémicos** menos utilizados y con experiencia limitada como son el micofenolato mofetilo, la hidroxiurea, la 6 tioguanina, la sulfasalazina, paclitaxel, dapsona, colchicina y azatioprina entre otros (Halverstam & Lebwohl, 2008).

El **micofenolato mofetilo** puede ser particularmente útil en pacientes con psoriasis que tienen una infección por hepatitis C ya que es un fármaco que tiene propiedades antivirales. Parece tener un efecto sinérgico con la ciclosporina. Los efectos adversos son fundamentalmente digestivos. Al ser un fármaco

inmunosupresor, se debería tener en cuenta posibles infecciones oportunistas, enfermedades linfoproliferativas y neoplasias.

La **sulfasalazina** es un tratamiento habitual en la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa y ocasionalmente la artritis reumatoide. Produce una mejoría aunque parcial de la artritis psoriásica. Los efectos secundarios no son graves en la mayoría de los casos pero ocurren en el 60% de los pacientes que en muchas ocasiones obligan a los pacientes al abandono del tratamiento. Entre los efectos secundarios destacan intolerancia gastrointestinal, dolor de cabeza, artralgia, reacciones cutáneas e infertilidad masculina debido a oligospermia entre otros. Otros efectos secundarios más serios serían la leucopenia y la agranulocitosis.

La **hidroxiurea** al igual que la sulfasalazina tiene escasos beneficios teniendo en cuenta los efectos secundarios. Puede originar mielosupresión y macrocitosis. No existe experiencia en tratamientos a largo plazo.

La **6-tioguanina** ha sido utilizada esporádicamente. Puede producir efectos adversos como mielosupresión.

La **Azatioprina** puede ser útil en pacientes que presenten de forma concomitante un penfigoide bulloso y psoriasis. Los efectos adversos principales tienen que ver con la toxicidad medular y gastrointestinal, siendo lo suficientemente importantes como para considerar la azatioprina como una

alternativa sólo en pacientes que son refractarios a los tratamientos habituales.

El uso “off-label” de fármacos como la azatioprina, la dapsona, la sulfasalazina..etc. está decayendo debido a la revolución de las nuevas terapias, denominadas biológicas, que están permitiendo ampliar el abanico de posibilidades en pacientes con enfermedad severa o refractaria a los tratamientos habituales.

Estas terapias actúan de forma selectiva en vías específicas de la respuesta inmune. Hay tres tipos de agentes biológicos: citocinas humanas recombinantes, proteínas de fusión y anticuerpos monoclonales que pueden ser quiméricos o humanizados.

El factor de necrosis tumoral (TNF)-alfa es una citocina proinflamatoria producida por linfocitos T, macrófagos y queratinocitos, encontrándose altos niveles en la piel psoriásica. Bloqueando el (TNF)-alfa se consigue inhibir la cascada inflamatoria presente en la psoriasis y la artritis psoriásica. Los fármacos que inhiben esta cascada son: **etanercep** (proteína de fusión formada por el dominio extracelular del receptor de (TNF)-alfa unido a la porción Fc de la IgG1), **infiximab** (anticuerpo monoclonal quimérico humano/ratón, dirigido contra el (TNF)-alfa, **adalimumab** (anticuerpo monoclonal humanizado contra el (TNF)-alfa.

Los agentes biológicos que actúan a nivel de los linfocitos T son: **efalizumab** (anticuerpo monoclonal recombinante humanizado (IgG1) diseñado para disminuir el proceso inflamatorio en el organismo contra la molécula CD 11a, Subunidad de LFA-1), **alefacept** (proteína de fusión humana recombinante bivalente consistente en un dominio externo de LFA-3, y la porción Fc de la inmunoglobulina humana IgG1).

El **Ustekinumab** (Stelara) es un anticuerpo monoclonal humano que se une con gran especificidad a la subunidad p40 de las interleucinas IL12 y 23, las cuales tienen un papel importante en la fisiopatología de la psoriasis. La aprobación de este fármaco se basó en dos ensayos pivotaes (PHONIX 1 y 2) cuyos resultados fueron publicados en Lancet en mayo de 2008. La tasa de respuesta tanto a la semana 12 como a la 24 se encuentra dentro de las más altas de los tratamientos biológicos.

Niveles elevados de IL12 se asocian con depresión mayor, manía-depresión bipolar y esquizofrenia entre otros. La disminución de estas interleuquinas ocasionada por el ustekinumab podría relacionarse con la mejoría en la calidad de vida reflejada en los cuestionarios DLQI.

Estas terapias biológicas han sido previamente utilizadas en otras áreas terapéuticas como la enfermedad de Crohn, espondilitis anquilopoyética y artritis reumatoide tanto en niños como adultos.

Los tratamientos biológicos, a pesar de su probada eficacia, presentan algún inconveniente (Pearce DJ et al., 2004) como son los efectos secundarios, la incertidumbre a largo plazo de su seguridad al ser fármacos relativamente nuevos y el elevado precio; un ejemplo de ello es el Efalizumab, aprobado en el 2004, con los casos de leucoencefalopatía multifocal progresiva que finalmente ha tenido que ser retirado del mercado.

A continuación se profundiza en algunos de estos efectos secundarios de los tratamientos biológicos aprobados en España (Zeichner JA & Lebwohl M., 2007):

- Entre los efectos secundarios del **infliximab** cabe destacar: dolor de cabeza, prurito, infección respiratoria de vías altas, reactivación de infección tuberculosa latente, al igual que en otros fármacos que inhiban (TNF)-alfa (por lo que se realiza un test de tuberculina antes de iniciar el tratamiento), formación de Ac-anti Infliximab, ya que son proteínas “extrañas” y por ello pueden provocar respuestas inmunes en los sucesivos tratamientos que condicionen la eficacia del mismo y aumenten los efectos secundarios. No está claro si puede incrementar el riesgo de enfermedades desmielinizantes y de otras alteraciones del sistema nervioso central.
- **Etanercept** podría afectar a la respuesta al cáncer por parte del sistema inmune, objetivándose que los casos de linfoma encontrados se resolvían en gran parte al

interrumpir el tratamiento. También se han detectado títulos mayores de anticuerpos antinucleares y anti DNA. No está claro, por otra parte, si se asocia con enfermedades desmielinizantes, pero se prefiere no administrar dicho fármaco en aquellos pacientes con antecedentes de este tipo de enfermedad. En cuanto a las infecciones se han dado más casos en aquellos pacientes que tienen una enfermedad seria concomitante, o tienen ciertas condiciones predisponentes como por ejemplo la diabetes. No conviene vacunarse con vacunas de virus vivos mientras se esté tomando el fármaco. El riesgo de agravar el fallo cardíaco congestivo es controvertido.

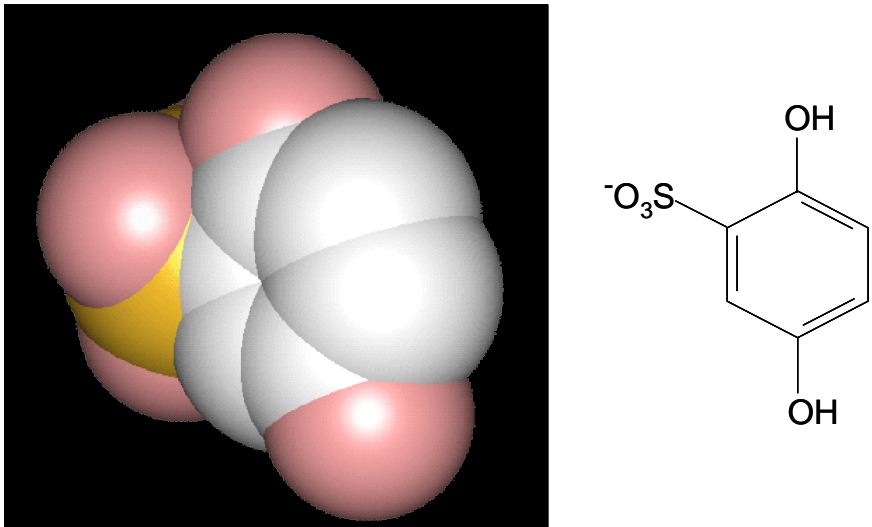
- **Adalimumab** fue aprobado en enero de 2008 y hasta la fecha los efectos secundarios son similares a otros tratamientos biológicos incluyendo el mayor riesgo posible de desarrollar infecciones.
- **Ustekimumab** es el último biológico aprobado, ya en 2009. De momento se conocen escasos efectos secundarios, pero habrá que esperar para poder aseverarlo.
- **Efalizumab** fue autorizado en octubre de 2004 para el tratamiento de psoriasis en placas, crónica, moderada o grave en pacientes adultos, en los que haya fracasado la respuesta o tengan una contraindicación o intolerancia a otros tratamientos sistémicos que incluyen ciclosporina, metotrexato y PUVA.



En el año 2009, el Comité de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Europea de Medicamentos ha reevaluado el balance beneficio/riesgo de Efalizumab (Raptiva®). Esta reevaluación ha justificado la retirada del mercado de Raptiva®. El motivo ha sido la notificación de tres casos confirmados (dos de ellos mortales) y uno probable, de leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP) en pacientes que utilizaban Raptiva®. La LMP es una enfermedad subaguda progresiva del SNC causada por la reactivación del virus JC, predominantemente en pacientes inmunodeprimidos y que suele provocar una discapacidad grave o la muerte.

En los últimos años se vienen realizando estudios de larga duración con estos tratamientos biológicos para valorar la seguridad del fármaco. Sin embargo, no se plantean estos tratamientos como una terapia más, rotacional a corto plazo, con el fin de minimizar riesgos y ser eficientes en la gestión de nuestros recursos sino como fármacos de duración indefinida. Por otra parte, al utilizarse sólo en pacientes con enfermedad severa el 90% de los pacientes psoriásicos no se benefician de este tipo de tratamiento biológico.

**ÁCIDO  
2,5-DHBS**



*Fig. 4. Estructura química del ácido 2,5-dihidroxibenceno sulfonato*

El ácido 2,5-dihidroxibenceno sulfonato (DHBS) se sintetiza en dos sales diferentes, cálcica y potásica. La sal cálcica (Dobesilato) se viene utilizando clínicamente desde los años 70 de forma muy empírica como protector vascular en la insuficiencia venosa crónica (Arceo A et al., 2002) y en las hemorroides (Misra MC & Inlitsensu, 2005). El tratamiento tópico del ácido DHBS cálcico formulado en forma de crema ha demostrado ser eficaz en: psoriasis (Cuevas P & Arrázola JM, 2005a), rosácea (Cuevas P & Arrázola JM, 2005b), carcinoma basocelular (Cuevas P & Arrazola JM, 2005c) y queratoacantoma (Espinoza W et al., 2009). Aunque se ha publicado que el Dobesilato se asocia a casos de

agranulocitosis (Cladera Serra A et al, 1995; Zapater P et al, 2003) un estudio reciente realizado en Suiza (Allain H et al., 2004) estimó que el número de pacientes que ingerían comprimidos de Dobesilato presentaba una incidencia de agranulocitosis diez veces menor que la que aparece en condiciones normales en la población general. Además el Dobesilato se ha utilizado hasta hace escasos años como agente angioprotector en el tratamiento de la retinopatía diabética (Garay RP et al., 2005).

La sal cálcica del DHBS es de procedencia comercial (Sigma-Aldrich). En los experimentos animales, el DHBS se ha utilizado disuelto en solución salina.

En el estudio clínico en pacientes psoriásicos, el DHBS se ha utilizado en forma de crema formulada al 5%. La crema, preparada en el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid, consta de:

A.- Parte activa (sal cálcica del ácido 2,5-dihidroxibencenosulfonato al 5%).

B.- Parte inactiva. El excipiente incluye: alcohol cetílico (2,5%), alcohol estearílico (2,5%), vaselina líquida (30%), vaselina filante (20%), sorbinato deato (5%) y agua destilada (c.s.p. 100gr).

# OBJETIVOS

## OBJETIVOS

El FGF, por sus actividades proinflamatorias y proangiogénicas desempeña un papel muy importante en el desarrollo y el mantenimiento de las lesiones psoriásicas (Presta M et al., 2009).

Diferentes datos experimentales y clínicos han demostrado que el FGF y el VEGF actúan sinérgicamente que la presencia de FGF en el medio extracelular es un prerrequisito para que las células sinteticen VEGF (Castellón R et al., 2002; Kano MR, 2005). Por ello, la inhibición del FGF y concomitantemente del VEGF, podría ser la base científica que justificara un tratamiento tópico y específico de las lesiones psoriásicas. Recientemente se ha demostrado mediante técnicas de biología molecular, de ingeniería genética, cristalográficas y espectroscópicas que el compuesto sintético 2,5-dihidroxibencenosulfonato (DHBS) es un potente inhibidor de las actividades biológicas más significativas del FGF (Sánchez Fernández I, 2008).

Dos son los objetivos principales de nuestros estudios experimentales y clínicos que soportan la presente tesis doctoral:

- a) Analizar en modelos animales el efecto anti-inflamatorio y anti-angiogénico del compuesto DHBS.
- b) Si se confirmaran las actividades anti-inflamatorias y anti-angiogénicas del compuesto DHBS aplicarlo, en forma de tratamiento tópico, a un grupo reducido de

## OBJETIVOS

pacientes psoriásicos como prueba de concepto que pudiera apoyar su posible uso clínico estandarizado.

Una vez alcanzados los objetivos preclínicos perseguidos en nuestro estudio, planteamos un estudio observacional como “prueba de concepto”, para valorar la eficacia del tratamiento tópico del ácido DHBS cálcico formulado en forma de crema al 5% en lesiones psoriásicas. Los objetivos de este estudio clínico pretenden:

- Observar la eficacia del tratamiento en las manifestaciones cutáneas de la psoriasis, tras la aplicación del compuesto durante un periodo de 3-4 meses, de acuerdo con el índice PASI.
- Evaluar el tiempo de respuesta al ácido DHBS.
- Evaluar la seguridad y la tolerabilidad del ácido DHBS.
- Documentar gráficamente dicho estudio.
- Cuantificar los meses sin rebrote de la enfermedad, una vez suspendido el fármaco, y la intensidad del mismo si lo hubiera.
- Evaluar el impacto en la calidad de vida de dichos pacientes con el cuestionario DLQI.

Los pacientes que no experimenten una mejoría respecto a su situación basal en los 3-4 meses de tratamiento, no se incluirán para realizar el seguimiento post-tratamiento de tres meses.

# 5

## MATERIAL Y MÉTODOS



## **5.1- ESTUDIOS PRECLÍNICOS**

En este estudio experimental, se han utilizado ratas Sprague-Dawley adultas, estabuladas en el animalario del Departamento de Investigación del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid. Los experimentos han sido realizados en el Servicio de Histología del mencionado hospital. Los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con una mezcla anestésica formada por Ketolar (2,5mg/ml), Valium (2mg/ml) y Atropina (0,1mg/ml), y fueron tratados de acuerdo con las normas de la Unión Europea específicas para la investigación animal (Ley nº 86/09).

### **5.1.1.- Modelo de dermatitis aguda en la rata**

Para estudiar el efecto anti-inflamatorio del ácido DHBS, hemos utilizado un modelo animal previamente descrito (Hyun E. et al., 2004), para provocar una inflamación cutánea caracterizada por un intenso eritema y una gran permeabilidad vascular. Como el eritema asociado a la permeabilidad vascular son dos fenómenos que acontecen en la evolución de la psoriasis, este modelo puede considerarse útil para testar compuestos que pudieran ser útiles en el tratamiento tópico de las lesiones psoriásicas.

La dermatitis experimental se indujo, aplicando tópicamente en el dorso de ambas orejas, 40µl de una solución de cloruro de benzalconio al 5% conteniendo 1:5 aceite de oliva/acetona

(Sigma-Aldrich). En la oreja derecha se aplicó DHBS al 5% en forma de crema treinta minutos después de la aplicación del irritante. En la oreja izquierda se aplicó la crema vehículo sin el principio activo (DHBS), siguiendo la misma pauta que en el tratamiento de la oreja derecha. Quince minutos después se inyectó a través de una vena yugular 400  $\mu$ l de una solución de azul de Evans al 0.5%. El colorante sólo se extravasa en áreas de la piel donde exista un aumento de la permeabilidad vascular como ocurre durante la inflamación cutánea. Después de cuatro horas se cuantifica morfométricamente el área cutánea coloreada de azul en ambos grupos de animales, controles (n=10) y tratados con DHBS (n=10), mediante un sistema computarizado de análisis de imágenes (Motic Images Advanced 3.0). El área de dermatitis se obtiene relacionando el área cutánea coloreada de azul con el área cutánea total de la oreja.

### **5.1.2. Cuantificación de la actividad mieloperoxidásica**

La actividad mieloperoxidásica en una zona determinada de un tejido inflamado se relaciona con la cantidad de leucocitos (granulocitos) extravasados en las fases precoces de la inflamación. Por ello, hemos utilizado como un índice de inflamación la cuantificación de la actividad mieloperoxidásica tisular en orejas de rata, en las que se indujo una dermatitis aguda como en el apartado anterior. Con esta determinación

pretendemos valorar bioquímicamente el efecto anti-inflamatorio del DHBS.

Hemos utilizado animales distribuidos en tres grupos:

- a) control (n=4) en los que no se aplicó cloruro de benzalconio en ambas orejas
- b) vehículo (n=5)
- c) tratado (n=3).

Sólo en los grupos vehículo y tratado fue inducida la dermatitis en ambas orejas como en el apartado anterior. Posteriormente, ambas orejas de cada animal fueron tratadas con crema de DHBS al 5% (grupo tratado) o con glicerol anhidro (grupo vehículo).

Después de cuatro horas, las orejas fueron extirpadas y sumergidas en nitrógeno líquido y mantenidas a -80°C hasta la determinación de la actividad mieloperoxidásica. Para ello las orejas fueron homogenizaron en tapón fosfato con bromuro de hexadeciltrimetilamonio al 0,5%. Después de varios ciclos de sonicación, las muestras se centrifugaron a 13,000xg durante 20 minutos a 4°C. Seguidamente se añadió H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y O-dianisidina a los sobrenadantes y, después de una hora de incubación a temperatura ambiente, la actividad mieloperoxidasica se midió a 460nm en un espectofotómetro. La actividad mieloperoxidasa se expresó en unidades de absorbancia por miligramo de tejido.

### **5.1.3. Modelo de angiogénesis in vivo**

Para el estudio del efecto antiangiogénico del DHBS hemos utilizado, como soporte liberador del factor proangiogénico (FGF), esponjas de gelatina de 1cm<sup>3</sup> (Curaspon Dental. Clinimed Holding Wanenburg. The Netherlands). Las esponjas se sumergieron durante una hora en 200µl de FGF ácido (aFGF, FGF-1). Un grupo de esponjas (grupo control) se sumergieron en el vehículo (tampón salino-fosfato) sin FGF-1. Seguidamente las esponjas se implantaron subcutáneamente en la región posterior del cuello. Los animales se dividieron en tres grupos, incluyendo cinco animales por grupo. Los grupos control y vehículo (FGF-1 + vehículo) recibieron por vía intraperitoneal una inyección diaria del vehículo (0,3ml de solución salina). Al grupo tratado (FGF1 + DHBS) se le inyectó diariamente por vía intraperitoneal 0,3ml de una solución fisiológica conteniendo 100mg/kg de DHBS potásico. Después de siete días los animales fueron sacrificados y se extrajeron las esponjas que, una vez fotografiadas, fueron procesadas para su estudio histológico. Las secciones (6µm) fueron coloreadas con hematoxilina-eosina para su estudio microscópico. Para el análisis morfométrico de la angiogénesis se analizaron seis áreas (0,176mm<sup>2</sup>) diferentes en cada esponja y para su cuantificación se empleó un sistema computarizado de análisis de imágenes (Motic Images Advanced 3.0).

#### **5.1.4. Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados estadísticamente usando un ANOVA, seguido de un test de Student-Newmann-Keuls

## **5.2. ESTUDIOS CLÍNICOS**

### **5.2.1. Pacientes**

Este estudio es un ensayo clínico observacional, en el que se incluyen 10 pacientes, con psoriasis leve-moderada que acudieron a la consulta de Dermatología del área 4 de Madrid; dos de ellos presentaban afectación de las manos, uno con psoriasis en gotas, uno con afectación de ambas piernas y codos, y el resto con el tipo de psoriasis típica en placas en codos y rodillas.

Todos estos pacientes habían recibido previamente diversos tratamientos tópicos sin obtener resultados satisfactorios.

Tras un periodo de lavado de otros fármacos de dos semanas de duración, se procedió a la firma del consentimiento informado. Cada paciente rellenó un cuestionario sobre calidad de vida adaptado y validado con 10 items (Finlay AY & Khan GK, 1994). Se analizó el score PASI de cada uno de ellos (Tabla II).

La psoriasis se considera grave cuando la extensión de las lesiones supera el 25% de la superficie corporal (PASI >20), se localiza en zonas incapacitantes y existe artropatía o afectación psicológica que interfiera en la vida diaria. Como zonas incapacitantes nos referimos a las manos, pies, genitales, pliegues y región facial. Estas zonas no son contempladas en el score PASI por lo que en estos casos no se correlaciona la gravedad con el número PASI.

**Tabla 3**

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PASI	19,1	21,5	MANOS	6,6	7	9	7	MANOS	7	7

### 5.2.2. Criterios de inclusión

- Paciente mayor de 18 años.
- Diagnosticado de psoriasis por un dermatólogo; en el caso de existir alguna duda se comprobará mediante biopsia.
- Enfermedad psoriásica clínicamente estable de una intensidad entre leve y moderada.
- Posibilidad de recibir tratamiento ambulatorio.
- Consentimiento informado del paciente.

### **5.2.3. Criterios de exclusión**

- Evidencia de otras lesiones cutáneas tales como eczemas que puedan interferir en la evaluación del efecto del tratamiento.
- Terapia los 15 días previos al estudio con tratamientos tanto tópicos como orales para la psoriasis.
- Embarazo.

### **5.2.4. Análisis estadístico**

Para determinar el porcentaje medio de reducción del PASI se utilizó un análisis t de Student pareado.

### **5.2.5. Tratamiento**

El estudio está diseñado para probar la eficacia del ácido DHBS cálcico formulado en forma de crema al 5% y aplicado una vez al día durante 3-4 meses. Mensualmente se realiza una visita en la que se valora tanto la eficacia como los efectos secundarios si los hubiera. Los parámetros que se incluyen para valorar la eficacia son el eritema, la induración, descamación, prurito y extensión en cada visita, con respecto a la semana basal (ver ANEXO 2). Durante dicho tratamiento se realizan fotografías en las semanas 0, 4, 8, 12 y 16.

Tras terminar el tratamiento se sigue al paciente durante un periodo de 3 meses para valorar un posible rebrote y la

intensidad del mismo si lo hubiera, realizando una fotografía a los tres meses de suspender el tratamiento, siempre y cuando el paciente no haya empezado otro tratamiento.

El primer reclutamiento comenzó el 1 junio de 2007 y el último el 1 de septiembre de 2007.

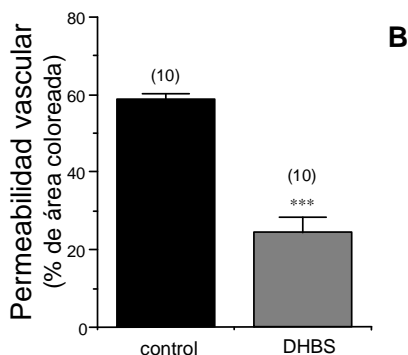


# RESULTADOS

## 6.1. RESULTADOS PRECLÍNICOS

### 6.1.1. El ácido DHBS inhibe la permeabilidad vascular en un modelo animal de dermatitis aguda.

La aplicación tópica del DHBS inhibe significativamente la permeabilidad vascular en un modelo de dermatitis aguda en la rata provocada por la aplicación tópica de cloruro de benzalconio. Como se aprecia en la Figura 5 (Panel A), la extravasación de azul de Evans como prueba evidente de la hiperpermeabilidad en la oreja izquierda control es mucho más intensa que en la oreja tratada con DHBS. En el panel B de la misma figura se muestra la cuantificación porcentual comparativa de la permeabilidad vascular en orejas control y en orejas tratadas con DHBS

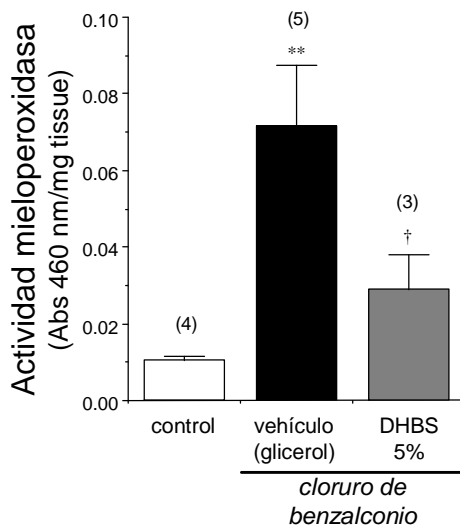


**Fig. 5.** Efecto inhibitorio del tratamiento tópico con 2,5-dihidroxibenceno sulfonato potásico (DHBS) sobre el incremento de permeabilidad vascular asociado a la dermatitis inducida por la aplicación de cloruro de benzalconio en la oreja de rata. La dermatitis se indujo en ambas orejas y solo la oreja derecha fue tratada de forma tópica con crema que contenía DHBS al 5% mientras que la oreja izquierda se usó como control. La inyección intravenosa del colorante azul de Evans reveló la extensión de la permeabilidad vascular asociada a la dermatitis. La aplicación de la crema con DHBS redujo claramente la extravasación del colorante causada por el aumento de permeabilidad vascular asociado a la dermatitis después de 4 horas, como se observa en la fotografía (A). La cuantificación de la permeabilidad vascular se muestra en el panel B. Los datos se expresan como la media±EEM del porcentaje de área coloreada en cada oreja. El número de ratas empleadas para las determinaciones se indica entre paréntesis. \*\*\* indica  $p < 0.001$  vs control (orejas no tratadas) mediante un análisis t de Student pareado.

### 6.1.2. El ácido DHBS disminuye la actividad mieloperoxidásica

La inflamación aguda se asocia a un aumento de la permeabilidad vascular y a una intensa extravasación de leucocitos. Una vez demostrado que el DHBS es capaz de disminuir el aumento de la permeabilidad vascular, es preciso correlacionar este efecto con los leucocitos extravasados en el área inflamada. Para ello, hemos analizado la actividad mieloperoxidásica como índice evaluador de leucocitos activados. Este estudio demuestra que la aplicación tópica de DHBS en orejas inflamadas previamente disminuye significativamente la actividad mieloperoxidásica (Fig. 6). En

conclusión, el DHBS es capaz de neutralizar tanto la hiperpermeabilidad vascular como la actividad mieloperoxidásica, mostrando un efecto anti-inflamatorio evidente.



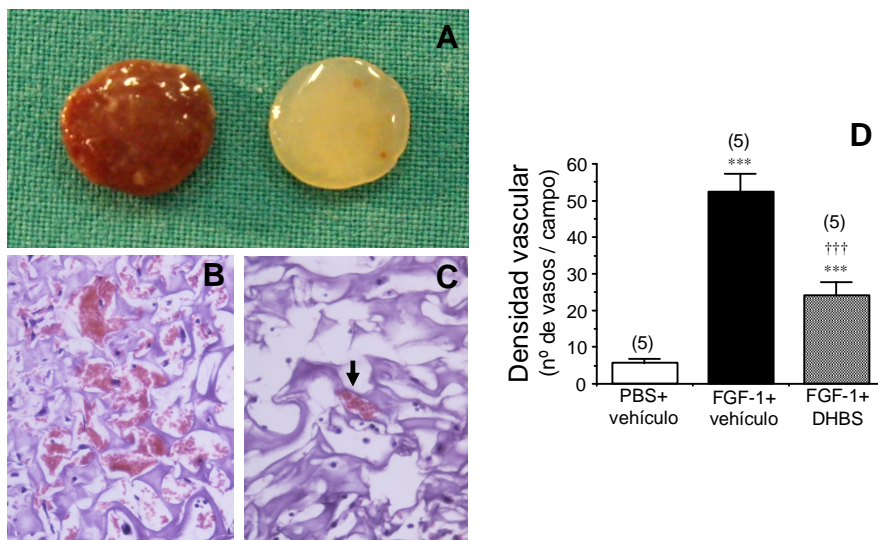
**Fig. 6.** Efecto inhibitorio del tratamiento tópico con 2,5-dihidroxibenceno sulfonato potásico (DHBS) sobre el incremento de actividad mieloperoxidasa (MPO) asociado a la dermatitis inducida por la aplicación de cloruro de benzalconio en la oreja de rata. Una vez inducida la dermatitis, las orejas se trataron con crema de DHBS al 5% o con vehículo (glicerol anhidro). Veinticuatro horas después de la inducción de la dermatitis, se extirparon y congelaron las orejas hasta la determinación de la actividad MPO. El grupo control corresponde a orejas de ratas en las que no se indujo la dermatitis. La actividad MPO se expresa como la media±EEM de la absorbancia a 460 nm normalizada por el peso del tejido en mg de la correspondiente oreja. El número de ratas empleadas para las determinaciones se indica entre paréntesis. \*\* indica  $p < 0.01$  vs. control, †  $p < 0.05$ , ††  $p < 0.01$  vs. vehículo

*mediante un test ANOVA de un factor seguido de un test Student-Newmann-Keuls.*

### **6.1.3. El ácido DHBS inhibe la angiogénesis inducida por el FGF-1**

Para testar la capacidad inhibitoria de la angiogénesis inducida por el FGF, hemos empleado un modelo in vivo que muestra como una esponja de gelatina embebida en FGF es capaz de inducir nuevos vasos sanguíneos a partir de los vasos que rodean al implante e invadir la esponja. Con este método hemos comprobado que la administración sistémica de DHBS a través del peritoneo es capaz de neutralizar el efecto proangiogénico del FGF y por lo tanto, inhibir la penetración de vasos en la esponja embebida con este factor proangiogénico. En la Figura 7 se muestra una esponja implantada en un animal control y otra en un animal tratado con DHBS. Los cortes histológicos coloreados con hematoxilina-eosina demuestran claramente la capacidad antiangiogénica del DHBS. Esta evidencia se pone de manifiesto en el histograma del panel D de la Figura 7.

## RESULTADOS



**Fig. 7.** Efecto de la administración intraperitoneal de 2,5-dihidroxibenceno sulfonato potásico (DHBS; 200 mg/kg/day) sobre la angiogenesis inducida por el factor de crecimiento para fibroblastos-1 (FGF-1) en esponjas de gelatina implantadas subcutáneamente en ratas durante 7 días. El panel A muestra el aspecto macroscópico de dos esponjas representativas inmediatamente después de ser extraídas de los animales, siete días después de ser implantadas embebidas en FGF-1 (10 µg/ml). La esponja de la izquierda, que presenta un color rojo intenso que sugiere una neovascularización generalizada, fue obtenida de una rata tratada con vehículo (0.9% NaCl), mientras que la esponja de la derecha fue obtenida de una rata tratada con DHBS y presenta un color pálido que sugiere una débil neovascularización. El estudio histológico de estas esponjas, teñidas con hematoxilina y eosina, muestra un gran número de vasos funcionales que contienen eritrocitos en la esponja obtenida de la rata tratada con vehículo (B) mientras que sólo ocasionalmente se observan vasos (flecha) en la esponja de la rata tratada con DHBS (C). Magnificación x 200. El panel D muestra la cuantificación de los resultados. Los datos se expresan como la media±EEM del número de vasos funcionales por campo determinados en 6 campos aleatoriamente

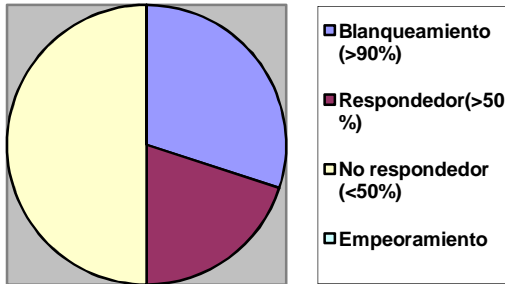
*adquiridos por espécimen. Entre paréntesis se indica el número de ratas empleadas para las determinaciones. \*\*\* indica  $p < 0.001$  vs PBS (tampón salino-fosfato)+vehículo, †††  $p < 0.001$  vs FGF-1+ vehículo mediante un test ANOVA de un factor seguido de un test Student-Newmann-Keuls.*

### **6.2. RESULTADOS CLÍNICOS**

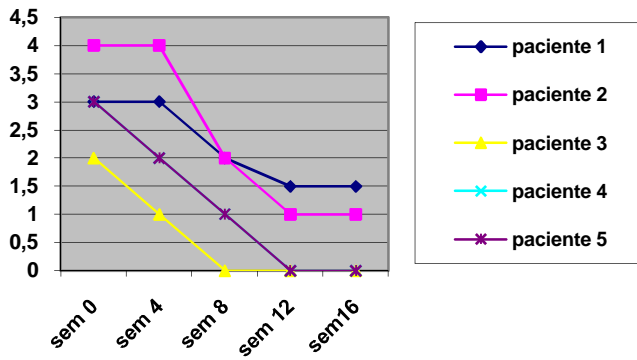
En los pacientes que respondieron al tratamiento, se produce ya cierta mejoría al mes de comenzar el tratamiento, pero es a los dos meses cuando el aclaramiento es significativo. Junto con dicho aclaramiento existe una mejoría de un síntoma poco frecuente como es el prurito, objetivable al mes de tratamiento al observarse menor número de lesiones por rascado.

De los 10 pacientes, tres respondieron de manera muy significativa pasando uno de ellos de un PASI score de 21.5 a 1.2; otros dos aceptablemente y el resto apenas experimentaron cambios; pero tampoco empeoró su enfermedad a pesar de que el estudio se realizó mayoritariamente al inicio de los meses de frío. En ningún caso se observaron efectos adversos.

**Fig. 8. Respuesta al tratamiento**

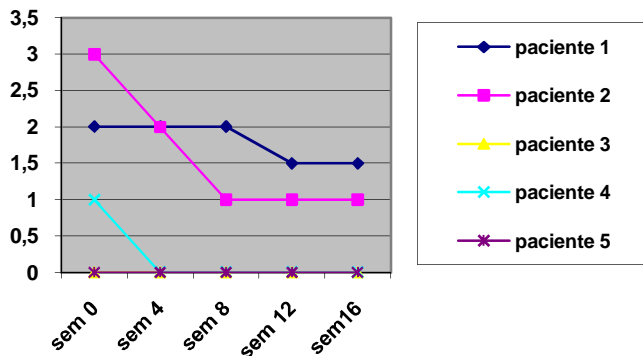


**Fig. 9. Eritema**

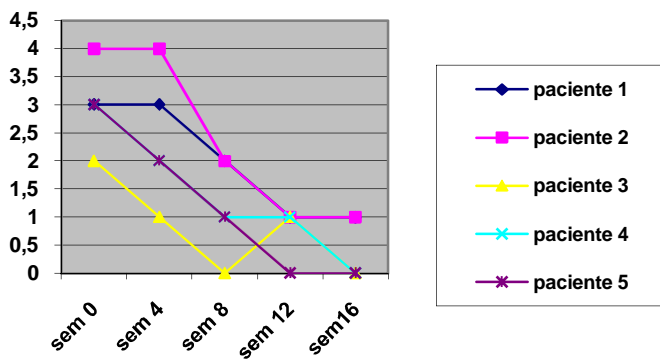




**Fig. 10. Descamación**

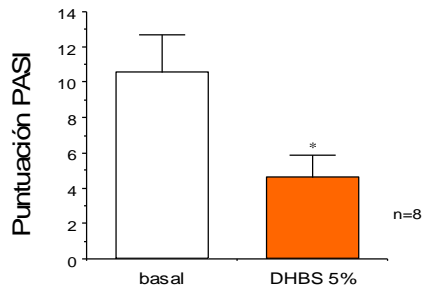


**Fig. 11. Prurito**



Mediante un análisis t de Student pareado se obtiene un porcentaje medio de reducción del PASI de  $50.01 \pm 14.28$  y un porcentaje medio de reducción del PASI en los pacientes que respondieron de  $66.35 \pm 12.93$  siendo la  $p < 0.05$  ( $p=0.0419$ ).

## RESULTADOS



*Fig. 12. Representación gráfica del efecto terapéutico del DHBS en relación con el PASI.*

El cuestionario DLQI varió notablemente en función del sexo y de la edad, siendo más afectadas las mujeres jóvenes o de edad media.

Tras tres a cuatro meses de seguimiento posterior sin tratamiento, los pacientes que habían respondido al tratamiento se mantuvieron sin brote cerca de tres meses.

## RESULTADOS



*Fig. 13. Semana 0*



*Fig. 14. Semana 8 de tratamiento*



*Fig. 15. Placas psoriásis piernas semana 0*



*Fig. 16. Semana 8 de tratamiento*



*Fig. 17. Semana 12 de tratamiento*



*Fig. 18. Semana 16 de tratamiento*

## RESULTADOS



Fig. 19. Semana 16 SIN tratamiento



Fig. 20. Psoriasis en placas en codos y antebrazos



Fig. 21. Semana 8 de tratamiento. La lesión hiperpigmentada en codo izquierdo corresponde a una lesión postraumática dos días antes de la foto.



Fig. 22. Psoriasis en palma mano, semana 0



Fig. 23. Semana 16

# DISCUSIÓN

## DISCUSIÓN

En nuestros estudios en animales, hemos demostrado que la aplicación tópica del ácido DHBS es capaz de inhibir dos actividades biológicas relacionadas con el FGF: la inflamación y la angiogénesis. Estos dos procesos biológicos participan activamente en la fisiopatología de la psoriasis. Por lo tanto, el ácido DHBS podría ser eficaz como tratamiento tópico de las lesiones psoriásicas. Con esta finalidad, iniciamos un estudio observacional en pacientes afectados de psoriasis. El citado estudio muestra que la aplicación tópica diaria del ácido DHBS formulado en forma de crema al 5% es eficaz, y no se asocia con efectos adversos.

En nuestro estudio con pacientes psoriásicos, se evidencia que el paciente que mejor responde al tratamiento con el ácido 2,5-DHBS es aquel que presenta el mayor componente angiogénico. En las fotografías de dicho paciente tomadas en la semana 0 (Fig.15), se puede observar grandes placas con un importante eritema y abundante contenido descamativo (PASI 21,5) y en la semana 12 un aclaramiento casi completo (PASI 1,2).

El análisis estadístico del estudio muestra un porcentaje medio de reducción del PASI de  $50.01 \pm 14.28$  y un porcentaje medio de reducción del PASI en los pacientes que respondieron de  $66.35 \pm 12.93$ , siendo la  $p < 0.05$  ( $p=0.0419$ ).

Como existe una tendencia a incluir el punto de corte satisfactorio de un estudio en una reducción del 50% del PASI (Carlin S et al., 2004), podríamos considera al estudio que nos

ocupa como satisfactorio. Y lo que es más importante, tras tres-cuatro meses de seguimiento posterior sin tratamiento, los pacientes que habían respondido se mantuvieron sin brote cerca de tres meses.

No obstante, la respuesta clínica al tratamiento es altamente variable tanto en un mismo individuo como de un individuo a otro. Desde el punto de vista terapéutico todo paciente psoriásico representa un problema individual por lo que se debe programar un tratamiento individualizado en función de las circunstancias personales.

Aunque la angiogénesis desempeña un papel muy importante en el inicio y evolución de la psoriasis, actualmente no existe una terapia antiangiogénica Standard para el tratamiento de estas lesiones. Únicamente existen datos aislados e incompletos del uso de inhibidores indirectos de la angiogénesis psoriásica. En este sentido es interesante destacar un caso clínico que muestra que el tratamiento oral con sunitinib (SU-011248), un inhibidor de VEGFR-2, de PDGFR y de FGFR mejora la psoriasis (Keshtgarpour M & Dudek AZ, 2007).

Sí se han realizado múltiples estudios en los que se ha comprobado la eficacia de moléculas antiangiogénicas en la inhibición tumoral y en su diseminación metastásica (Sun J et al., 2005; Nishida N et al., 2006; Buchler P et al., 2007). Recientemente ha surgido un interés científico sobre la implicación de la angiogenesis en la fisiopatología de la

psoriasis (Leong TT et al., 2005; Heidenreich R et al., 2009). Esta circunstancia ha motivado la búsqueda de nuevas moléculas seguras y eficaces capaces de inhibir las actividades biológicas exacerbadas del FGF y del VEGF en las lesiones psoriásicas.

La búsqueda de nuevas moléculas sintéticas capaces de inhibir el FGF constituye una línea prioritaria de investigación. El equipo de Giménez-Gallego en el Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC ha demostrado que existe cierta homología estructural entre la suramina, las suradistas y los derivados del naftaleno (Lozano RM et al., 2001, Fernández Tornero C et al., 2003) y el ácido DHBS (Sánchez Fernández I, 2008) y todas ellas con heparinas sintéticas (Presta M et al., 2005). Estas moléculas son capaces de inhibir el efecto antiproliferativo del FGF. De todas las moléculas anteriormente mencionadas, es el ácido DHBS el más potente inhibidor del FGF con una  $IC_{50}$  de aproximadamente  $5\mu\text{M}$ . Los primeros estudios experimentales in vivo sobre la capacidad del ácido DHBS en la inhibición del FGF demostraron, cuando se administraba conjuntamente con el FGF, un potente efecto antiangiogénico (Cuevas P et al., 2005d).

La familia del FGF está compuesta por 18 isoformas proteicas. Actúan uniéndose a receptores celulares situados en la membrana celular que transmiten la señal del exterior al interior de la célula, mediante el acoplamiento de diferentes proteincinasas que se fosforilan y activan una cascada de



señales que activan a su vez, uno o varios genes responsables de la proliferación, de la supervivencia celular, de la inflamación y de la angiogénesis entre otras funciones biológicas.

Como el ácido DHBS es un inhibidor del FGF (Sánchez Fernández, 2008) que está sobreexpresado en la psoriasis, la eficacia terapéutica del compuesto se puede relacionar con la inhibición de dicho factor. El FGF y el VEGF actúan sinérgicamente. Ambos factores participan directamente en la fisiopatología de la psoriasis. Tampoco se puede descartar que la aplicación tópica del ácido DHBS pudiera inhibir el VEGF presente en las lesiones psoriásicas.

El FGF-1 y el FGF-2 son las isoformas mejor caracterizadas y más estudiadas de la familia del FGF. El FGF-1 está expresado abundantemente en la artritis reumatoide y otras enfermedades crónicas inflamatorias. El FGF-2 está implicado directamente en la respuesta inflamatoria del tejido cardíaco tras una herida in vivo (Meij JT et al., 2002) y además tiene otros efectos ya conocidos como promotores de la angiogénesis coronaria y de la vasodilatación (Cuevas P, 2002). En enfermedades inflamatorias como la psoriasis existe un alto porcentaje de células T que expresan receptores para el FGF. En un estudio en sangre periférica de pacientes con artritis reumatoide (Byrd V et al., 1996) se demostró que el FGF-1 está sobreexpresado en el líquido sinovial articular y que su receptor, el FGFR1, se sobreexpresa en células CD4+ perivasculares. Además, el número de células T que son activadas por el FGF-1 está

incrementado en la sangre periférica de pacientes con artritis reumatoide.

La sobreexpresión del FGF también depende de las células T. Para entender la función del FGF en las células T se realizaron estudios con células T “Jurkat” que expresan el receptor del FGF (Byrd V et al., 1999). Estos experimentos muestran como el FGF estimula las células T Jurkat proporcionando una segunda señal que aumenta la reducción de IL-2. Sin embargo, el FGF de forma aislada, no tiene efecto en las células T Jurkat (Smithgall MD et al., 1995), y sólo induce modestas translocaciones nucleares de la proteína NFkB. Esta translocación se potencia por la combinación de anti-CD3 y FGF.

En las lesiones psoriásicas las células inflamatorias participan en la síntesis de múltiples moléculas inflamatorias. La síntesis de estas moléculas está regulada por dos factores de transcripción, el NFkB y la Stat 3.

El factor de transcripción NFkB es un dímero citoplásmico de la familia de las proteínquinas activadoras de la mitogénesis (MAPK) que evita que la Stat 3 se solape en la región reguladora 5' del gen promotor de la cadena del fibrinógeno gamma (Albrecht U et al., 2007). La proteína Stat 3 es un factor de transcripción implicado en la síntesis de citocinas. La Stat 3 activada está presente tanto en linfomas Hodgkin como no

## DISCUSIÓN

Hodgkin, y en la mitad de los casos de mieloma múltiple (Mandel JW, 2003). La fosforilación de Stat 3 contribuye a la patogénesis del mieloma múltiple al prevenir la apoptosis e inducir proliferación celular (Quintanilla-Martínez L. et al., 2003)

Estudios previos en células tumorales han puesto de manifiesto que el ácido DHBS es capaz de inhibir dos factores de transcripción, el NFκB y la Stat 3, que son activados por el FGF. El tratamiento con el ácido DHBS de células gliómicas de rata se traduce en una disminución de la proliferación y en un aumento de la apoptosis (Cuevas P et al., 2005). Estos efectos coinciden con la inhibición del NFκB y la Stat 3 (Cuevas P et al., 2006). Además la inhibición de Stat 3 es paralela a la inhibición de ciclina D1 y de bcl-xL.

No podemos descartar, aunque no dispongamos de datos al respecto que el ácido DHBS podría participar en la inhibición local del NFκB y de las Stat 3, en queratinocitos epidérmicos, dos factores de transcripción implicados en la fisiopatología de la psoriasis.

Esta nueva línea terapéutica podría considerarse un nueva posibilidad en el tratamiento de la psoriasis, así como lo está siendo de forma prometedora en otras enfermedades eritemato-descamativas; en ellas, dada la cronicidad que implican, deberíamos tener en cuenta no sólo la respuesta terapéutica sino también el uso de tratamientos con el menor número de efectos secundarios posibles.

## DISCUSIÓN

El tratamiento tópico con el ácido DHBS potásico posee una mayor penetración cutánea que el ácido DHBS cálcico (datos no publicados). Por ello, en un futuro tendría gran interés clínico el usar la sal potásica del ácido DHBS formulada en forma de crema al 5% en el tratamiento tópico de lesiones psoriásicas.

# CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

1. El ácido 2,5-dihidroxi-bencenosulfonato es un potente inhibidor de la permeabilidad vascular en la dermatitis aguda.
2. El ácido 2,5-dihidroxi-bencenosulfonato es un inhibidor de la activación leucocitaria en la dermatitis aguda.
3. Por los efectos 1 y 2 el ácido 2,5-dihidroxi-bencenosulfonato es un compuesto con efectos anti-inflamatorios evidentes.
4. El ácido 2,5-dihidroxi-bencenosulfonato es un inhibidor de la angiogénesis inducida por el FGF.
5. Por sus efectos anti-inflamatorios y anti-angiogénicos, el ácido 2,5-dihidroxi-bencenosulfonato puede ser útil para el tratamiento de lesiones psoriásicas.
6. La aplicación tópica del ácido 2,5-dihidroxi-bencenosulfonato formulado en forma de crema al 5%, es eficaz clínicamente en el tratamiento tópico de la psoriasis.
7. La aplicación tópica del ácido 2,5-dihidroxi-bencenosulfonato en pacientes psoriásicos no se asocia a efectos secundarios evidentes.

# ANEXOS

## **ANEXO 1. Orientaciones para el cálculo del PASI**

### FORMULA DEL PASI:

PASI = Cabeza + Tronco + Extremidades superiores +  
Extremidades inferiores

PASI = [0,1 (Eritema + Infiltración + Escama) área  
afectada] + [0.3 (Eritema + Infiltración + Escama) área]  
+ [0.2 (Eritema + Infiltración + Escama) área] + [0.4  
(Eritema + Infiltración + Escama) área]

Para calcular el área afectada se deberán seguir las siguientes orientaciones:

1. Hacer la marca del área afectada en los dibujos cuadrículados siguiendo el contorno del cuadrículado, aunque las placas tengan formas variables.
2. Contar los cuadros incluidos en el área afectada que se marcó en cada zona (cabeza, tronco, extremidades superiores y extremidades inferiores) sumando los anteriores con los posteriores.
3. Se considerarán dos cuadros incompletos por cada entero o sea se podrán contar todos los incompletos y dividir entre dos.
4. Buscar en la siguiente tabla el % a que corresponde la suma de los cuadros por área, así como el valor equivalente en la fila de abajo. Este número será el que se utilizará en la fórmula del PASI.
5. En caso de que un área no esté afectada el valor en la fórmula del PASI es 0.



El eritema, la infiltración y la escama se valorarán en la fórmula del PASI siguiendo los siguientes parámetros:

0. signo ausente
1. expresión ligera
2. expresión moderada
3. expresión intensa
4. expresión excepcionalmente intensa

**Tabla 4.**

<i>Area afectada</i>	<i>1-10 %</i>	<i>11-30%</i>	<i>31-50 %</i>	<i>51-70 %</i>	<i>71-90 %</i>	<i>91-100 %</i>
<b>Cabeza</b>	1-31	32-92	93-154	155-216	217-277	278-308
<b>Tronco</b>	1-178	179-533	534-888	889-1243	1244-1598	1599-1776
<b>Extremidades superiores</b>	1-110	111-330	331-551	552-771	772-991	992-1101
<b>Extremidades inferiores</b>	1-174	175-521	522-869	870-1217	1218-1564	1565-1738
<b>PASI</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>

## **ANEXO 2. SEGUIMIENTO DURANTE EL TRATAMIENTO.**

### **Evaluación del primer mes de tratamiento**

#### 1 - Datos evolutivos:

- a) ¿El paciente asistió a consulta? :
- b) Fecha de la consulta:
- c) Prurito (0-4):
- d) ¿El paciente presenta o ha presentado eventos adversos? :  
1- Si \_\_\_ 2- No \_\_\_
- e) En caso de respuesta afirmativa mencionar cuales fueron y sí requirió tratamiento:
- f) ¿Se produce interrupción del tratamiento? :  
1- Si \_\_\_ 2- No \_\_\_.

En caso de respuesta afirmativa, explicar causa.

#### 2 - Evaluación clínica:

- a) Complete esta tabla según las características clínicas del paciente.

**Tabla 5.**

Cabeza	Valor	Tronco	Valor	Area afectada:  0 = 0% 1 = <10% 2 = 10-<30% 3 = 30-<50% 4 = 50-<70% 5 = 70-<90% 6 = 90-100%
Area afectada (0-6)		Area afectada (0-6)		
Eritema (0-4)		Eritema (0-4)		
Infiltración (0-4)		Infiltración (0-4)		
Escama (0-4)		Escama (0-4)		
Extremidades superiores	Valor	Extremidades inferiores	Valor	
Area afectada (0-6)		Area afectada (0-6)		
Eritema (0-4)		Eritema (0-4)		
Infiltración (0-4)		Infiltración (0-4)		
Escama (0-4)		Escama (0-4)		

b) Especifique el resultado del PASI según su fórmula: \_\_\_\_

c) Diga a que respuesta pertenece:

1- Blanqueamiento \_\_\_\_ 2- Responder \_\_\_\_

3- No responder \_\_\_\_ 4- Empeoramiento \_\_\_\_

Al mismo tiempo se cuantifica la intensidad del prurito estableciéndose los siguientes valores:

0 = ocasional

1 = leve: mantenido pero sin afectar al sueño

2 = moderado: impertinente, que aumenta por las noches y produce lesiones por excoriaciones

3 = severo: angustioso, mantiene al paciente despierto, numerosas lesiones por excoriación.

1  
0

# BIBLIOGRAFÍA

## BIBLIOGRAFÍA

Albrecht U, Yang X, Asselta R, et al. Activation of NF-kappaB by IL-1beta blocks IL-6-induced sustained STAT3 activation and STAT3-dependent gene expression of the human gamma-fibrinogen gene. *Cell Signal* 2007;19:1866-78.

Allain H, Ramelet AA, Polard E, et al. Safety of calcium dobesilate in chronic venous disease, diabetic retinopathy and haemorrhoids. *Drug Saf* 2004;27:649-60.

Andrys C, Borska L, Pohl D, et al. Angiogenic activity in patients with psoriasis is significantly decreased by Goeckerman's therapy. *Arch Dermatol Res* 2007;298:479-83.

Arceo A, Berber A, Trevino C. Clinical evaluation of the efficacy and safety of calcium dobesilate in patients with chronic venous insufficiency of the lower limbs. *Angiology* 2002;53:539-44.

Armelin HA. Pituitary extracts and steroid hormones in the control of 3T3 cell growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973;70:2702-6.

Baird A, Schubert D, Ling N, et al. Receptor- and heparin-binding domains of basic fibroblast growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988;85:2324-8.

Bhushan M, McLaughlin B, Weiss JB, et al. Levels of endothelial cell stimulating angiogenesis factor and vascular endothelial growth factor are elevated in psoriasis. *Br J Dermatol* 1999;141:1054-60.

Buchler P, Reber HA, Roth MM, et al. Target therapy using a small molecule inhibitor against angiogenic receptors in pancreatic cancer. *Neoplasia* 2007;9:119-27.

Byrd V, Zhao XM, McKeehan WL, et al. Expression and functional expansion of fibroblast growth factor receptor T cells in rheumatoid synovium and peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996;39:914-22.

## BIBLIOGRAFÍA

Byrd VM, Ballard DW, Miller GG, et al. Fibroblast growth factor-1 (FGF-1) enhances IL-2 production and nuclear translocation of NF-kappaB in FGF receptor-bearing Jurkat T cells. *J Immunol* 1999;162:5853-9.

Carlin CS, Feldman SR, Krueger JG, et al. A 50% reduction in the Psoriasis Area and Severity Index (PASI 50) is a clinically significant endpoint in the assessment of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:859-66.

Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005;438:932-6.

Carmena Ramón R, Cuevas B, Fernandez Ayerdi A, et al. Niveles séricos del factor de crecimiento para fibroblastos básico (bFGF) en la psoriasis". *Actas Dermosifiliogr* 2002;93:45.

Castellon R, Hamdi HK, Sacevio I, et al. Effects of angiogenic growth factor combinations on retinal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2002; 74:523-35.

Cladera Serra A, Blasco Mascaro I, Oliva Berini E, et al. Agranulocytosis induced by calcium dobesilate. *Med Clin (Barc)* 1995;105:558-9.

Creamer D, Allen M, Jaggar R, et al. Mediation of systemic vascular hypermeability in severe psoriasis by circulating vascular endothelial growth factor. *Arch Dermatol* 2002;138:791-6.

Cuevas P. Angiogénesis: concepto e implicaciones terapéuticas. *JANO EMC* 2000, enero;58:70.

Cuevas P ed. *Fibroblast Growth Factor in the Cardiovascular System*.ed. München: I. Holzapfel Publishers, 2002.

## BIBLIOGRAFÍA

Cuevas P, Diaz-González D, Dujovny M. Dihidroxy-2,5 benzenesulfonate (dobesilate) elicits growth arrest and apoptosis in glioma cells. *Neurol Res* 2005;27:797-800.

Cuevas P, Arrazola JM. Dobesilate in the treatment of plaque psoriasis. *Eur J Med Res* 2005a;10:373-6.

Cuevas P, Arrazola JM. Therapeutic response of rosacea to dobesilate. *Eur J Med Res* 2005b;10:454-6.

Cuevas P, Arrazola JM. Treatment of basal cell carcinoma with dobesilate. *J Am Acad Dermatol* 2005c;53:526-7.

Cuevas P, Sanchez I, Lozano RM, et al. Dobesilate is an angiogenesis inhibitor. *Eur J Med Res* 2005d;10:369-72.

Cuevas P, Diaz-Gonzalez D, Garcia-Martin-Cordova C, et al. Dobesilate diminishes activation of the mitogen-activated protein kinase ERK1/2 in glioma cells. *J Cell Mol Med* 2006;10:225-30.

Cuevas P, Diaz-Gonzalez D, Sanchez I, et al. Dobesilate inhibits the activation of signal transducer and activator of transcription Stat3, and the expression of cyclin D1 and bcl-XL in glioma cells. *Neurol Res* 2006;28:127-30.

De Miguel R, Alzahari R. Efficacy, safety and cost of Goeckerman therapy compared with biologics in the treatment of moderate to severe psoriasis. *Int J Derm* 2009, 48:652-8.

Detmar M, Brown LF, Claffey KP, et al. Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. *J Exp Med* 1994;180:1141-6.

Espinoza W, Pérez C, Cuevas P. Keratoacanthoma. *Brit Med J Case reports*; 28-IV-2009 (doi:10.1136/bcr.09.2009.0995).

Fernández-Tornero C, Lozano RM, Redondo-Horcajo M, et al. Leads for development of new naphthalenesulfonate derivatives with enhanced antiangiogenic activity: crystal structure of acidic

fibroblast growth factor in complex with 5-amino-2-naphthalene sulfonate. *J Biol Chem* 2003;278:21774-81.

Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:851-8.

Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev* 2004;25:581-611.

Fink AM, Cauza E, Hassfeld W, et al. Vascular endothelial growth factor in patients with psoriatic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25:305-8.

Finlay AY, Khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI)--a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol* 1994;19:210-6.

Folkman J. Antiangiogenesis in cancer therapy--endostatin and its mechanisms of action. *Exp Cell Res* 2006;312:594-607.

Garay RP, Hannaert P, Chiavaroli C. Calcium dobesilate in the treatment of diabetic retinopathy. *Treat Endocrinol* 2005;4:221-32.

Giménez-Gallego G, Rodkey J, Bennett C et al. Brain-derived acidic fibroblast growth factor: complete amino acid sequence and homologies. *Science* 1985;230:1385-8.

Giménez-Gallego G, Conn G, Hatcher VB, Thomas KA. The complete amino acid sequence of human brain-derived acidic fibroblast growth factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;138:611-7.

Gollnick HPM. The psoriatic patient and the use of topical antipsoriatics. *J Dermatol Treat* 1998;8(Suppl 3):S7-S11.

Gospodarowicz D, Bialecki H, Greenburg G. Purification of the fibroblast growth factor activity from bovine brain. *J Biol Chem* 1978;253:3736-43.



Griffits CEM, Voorhess JJ. Psoriasis, T cells and autoimmunity. *J R Soc Med* 1996;89: 315-9.

Gudjonsson JE, Elder JT. Psoriasis, En Dermatología en medicina general. Tomo 1. Fitzpatrick (Ed). Unigraf SL, 2009, pp: 169-193,

Halverstam CP, Lebwhol M. Nonstandeard and off.label therapies for psoriasis. *Clin Dermatol* 2008;26:546-53

Heidenreich R, Röcken M, Ghoreschi K. Angiogenesis drives psoriasis pathogenesis. *Int J Exp Pathol* 2009;90;232-48.

Hyun E, Bolla M, Steinhoff M, et al. Anti-inflammatory effects of nitric-oxide-releasing hydrocortisone NCX1022, in a murine model of contact dermatitis. *Br J Pharmacol* 2004;143:618-25.

Ishihara M, Shaklee PN, Yang Z, et al. Structural features in heparin which modulate specific biological activities mediated by basic fibroblast growth factor. *Glycobiology* 1994;4:451-8.

Jakson JR, Seed MP, Kircher CH, et al. The codependence of angiogenesis and chronic inflammation. *FASEB J* 1997;11:57-65.

Kane D, Barnes L, Fitzgerald O. Topical corticosteroid treatment: systemic side-effects. *Br J Dermatol* 2003;149:417.

Kano MR, Morishita Y, Iwata C, et al. VEGF-A and FGF-2 synergistically promote neoangiogenesis through enhancement of endogenous PDGF-B-PDGFR beta signaling. *J Cell Sci* 2005;18:3759-68.

Keshtgarpour M, Dudek AZ. SU-001248, a vascular endothelial growth factor receptortyrosine kinase inhibitor, controls chronic psoriasis. *Transl Res* 2007; 149: 103-6.

Kiselyov A, Balakin KV, Tkachenko SE. VEGF/VEGFR signalling as a target for inhibiting angiogenesis. *Expert Opin Investig Drugs* 2007;16:83-107.

Kojima H, Sitkovski MW, Cascalho W. HIF-1 alpha deficiency perturbs T and B cell functions. *Curr Pharm Des* 2003;9:1827-32.

Krueger JG. Pathogenic interactions of keratinocytes and T lymphocytes in psoriasis. In: Roenigk HH HJr, Melibach HI, eds. *Psoriasis*. New York. Marcel Dekker, 1998; p 315-27.

Lebwohl M, Ting PT, Koo JY. Psoriasis treatment: traditional therapy. *Ann Rheum Dis* 2005;64 Suppl 2:ii83-6.

Leong TT, Fearon U, Veale DJ. Angiogenesis in psoriasis and psoriatic arthritis: clues to disease pathogenesis. *Curr Rheumatol Rep* 2005;7:325-9.

Li J, Showorak NW, Simons M. Increased responsiveness of hypoxic endothelial cells to FGF-2 is mediated by HIF-1 alpha-dependent regulation of enzymes involved in synthesis of heparan sulfate FGF2-binding sites. *J Cell Sci* 2002;115:1951-9.

Li W, Sakai T, Nishi T, et al. Distribution of TRAP-positive cells and expression of HIF-1alpha, VEGF, and FGF2 in the reparative reaction in patients with osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Res* 2009;27:694-700.

Lozano RM, Redondo-Horcajo M, Jimenez MA, et al. Solution structure and interaction with basic and acidic fibroblast growth factor of a 3-kDa human platelet factor-4 fragment with antiangiogenic activity. *J Biol Chem* 2001;276:35723-34.

Mandell JW. Phosphorylation state-specific antibodies: applications in investigative and diagnostic pathology. *Am J Pathol* 2003;163:1687-98.

Meij JT, Sheikh F, Jiménez SK, et al. Exacerbation of myocardial injury in transgenic mice overexpressing FGF-2 is T cell dependent. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:H547-55.

## BIBLIOGRAFÍA

Menter A, Korman NJ, Elmets CA et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis : section 4. Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with traditional systemic agents. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:451-85.

Mills CM, Marks R. Side effects of topical glucocorticoids. *Curr Probl Dermatol* 1993;21:122-31.

Misra MC, Imlitemsu. Drug treatment of haemorrhoids. *Drugs* 2005;65:1481-91.

Nickoloff BJ, Nestle FO. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 2004;113:1664-75.

Nickoloff BJ. The skin cancer paradox of psoriasis: a matter of life and death decisions in the epidermis. *Arch Dermatol*. 2004;140:873-5.

Nielsen LJ, Kristensen JK. Elevated plasma levels of vascular endothelial growth factor and plasminogen activator inhibitor-1 decrease during improvement of psoriasis. *Inflamm Res* 2002;51:563-7.

Nishida N, Yano H, Nishida T, et al. Angiogenesis in cancer. *Vasc Health Risk Manag* 2006;2:213-9.

Pandya NM, Dhalla NS, Santani DD. Angiogenesis--a new target for future therapy. *Vascul Pharmacol* 2006;44:265-74.

Pearce DJ, Higgins KB, Stealey KH, et al. Adverse events from systemic therapies for psoriasis are common in clinical practice. *J Dermatolog Treat* 2006;17:288-93.

Pearce DJ, Thomas CG, Fleischer AB, Jr., et al. The cost of psoriasis therapies: considerations for therapy selection. *Dermatol Nurs* 2004;16:421-8, 32.

Presta M, Andrés G, Leali D, et al. Inflammatory cells and chemokines sustain FGF2-induced angiogenesis. *Eur Cytokine Netw* 2009;20:39-50.

Presta M, Oreste P, Zoppetti G, et al. Antiangiogenic activity of semisynthetic biotechnological heparins: low-molecular-weight-sulfated *Escherichia coli* K5 polysaccharide derivatives as fibroblast growth factor antagonists. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:71-6.

Quintanilla-Martínez L, Kremer M, Specht K, et al. Analysis of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat 3) pathway in multiple myeloma: Stat 3 activation and cyclin D1 dysregulation are mutually exclusive events. *Am J Pathol* 2003;162:1449-61.

Rosenberger C, Solovan C, Rosenberger AD, et al. Upregulation of hypoxia-inducible factors in normal and psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 2007;127:2443-52.

Sánchez Fernández I. Nuevos compuestos antiangiogénicos derivados de los ácidos del benceno: caracterización estructural. Universidad autónoma de Madrid. Facultad de Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas (SSIC: Tesis Doctoral. Madrid, 2008

Saporito FC, Menter MA. Methotrexate and psoriasis in the era of new biologic agents. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:301-9.

Schon MP, Boehnke WH. Psoriasis. *N Engl J Med* 2005;352:1899-912.

Simonetti O, Lucarini G, Goteri G, et al. VEGF is likely a key factor in the link between inflammation and angiogenesis in psoriasis: results of an immunohistochemical study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2006;19:751-60.

Smith JA, Kauffman CA. Endemic fungal infections in patients receiving Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  inhibitor therapy. *Drugs* 2008;69:103-15.

Smithgall MD, Wong JG, Linsley PS, et al. Costimulation of CD4+ T cells via CD28 modulates human immunodeficiency virus type 1 infection and replication in vitro. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995;11:885-92.

Sun J, Wang DA, Jain RK, et al. Inhibiting angiogenesis and tumorigenesis by a synthetic molecule that blocks binding of both VEGF and PDGF to their receptors. *Oncogene* 2005;24:4701-9.

Tabruyn SP, Griffioen AW. Molecular pathways of angiogenesis inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;355:1-5.

Tonra JR, Hicklin DJ. Targeting the vascular endothelial growth factor pathway in the treatment of human malignancy. *Immunol Invest* 2007;36:3-23.

Trowell O. Growth of tissues in vitro. VI. The effects of some tissue extracts on the growth of periosteal fibroblast. *J Exp Biol* 1939;16:60-70.

Vale PR, Losordo DW, Symes JF, et al. [Growth factors for therapeutic angiogenesis in cardiovascular diseases]. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:1210-24.

Wang CK, Lee JY. Macular amyloidosis with widespread diffuse pigmentation. *Br J Dermatol* 1996;135:135-8.

Zapater P, Horga JF, Garcia A. Risk of drug-induced agranulocytosis: the case of calcium dobesilate. *Eur J Clin Pharmacol* 2003;58:767-72.

Zeichner JA, Lebwohl M. Potential complications associated with the use of biologic agents for psoriasis. *Dermatol Clin* 2007;25:207-13