



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

**GRADO EN MEDICINA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Expresión de factores angiogénicos en  
pacientes con psoriasis moderada o severa  
antes y después del tratamiento con  
Adalimumab**

Expression of angiogenic factors in patients  
with moderate or severe psoriasis before and  
after treatment with Adalimumab

**Autor:** Dña. Cristina Abad Pérez

**Director:** Dña. Carmen González-Vela/D. Fidel Fernández

**Santander, Junio 2017**

## INDICE

1. Resumen.....	3
2. Introducción.....	5
3. Planteamiento del trabajo.....	12
4. Objetivos.....	12
5. Material y método.....	12
6. Resultados.....	15
7. Discusión.....	23
8. Conclusiones.....	25
9. Bibliografía.....	26
10. Agradecimientos.....	32

## 1. RESUMEN

**Introducción:** la psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica con una base patogénica multifactorial por lo que múltiples abordajes terapéuticos han sido investigados. La angiogénesis desempeña una importante función en la patogenia de la psoriasis.

El objetivo de nuestro estudio ha sido: a) cuantificar la angiogénesis y la expresión de VEGF en la piel sana y en la placa de psoriasis, antes y a los 6 meses del inicio del tratamiento con adalimumab, y b) correlacionar dichos parámetros con las escalas de valoración clínica (PASI, BSA, NAPSI, PGA, PASE, DLQI, BASDAI, BAFI y con la presencia de artritis).

**Material y métodos:** se realiza un estudio prospectivo de una serie consecutiva de pacientes con psoriasis moderada-grave. Los pacientes recibieron inyecciones subcutáneas de adalimumab hasta completar los 6 meses de tratamiento. Antes de su inicio, se realizaron 2 biopsias punch, una de piel normal y otra de la periferia de placa de psoriasis, repitiéndose la biopsia a las 24 semanas de iniciarse el tratamiento, en la zona inicialmente lesionada. En cada biopsia se realizó un estudio inmunohistoquímico para VEGF, TNF $\alpha$  y CD31. La cuantificación de la angiogénesis (CD31) se analizó con un Automated Cellular Imaging System (DAKO). La correlación entre parámetros clínicos e histológicos se llevó a cabo mediante el coeficiente de Pearson o la Rho de Spearman. La comparación de los parámetros clínicos e histológicos en ambos períodos de estudio se realizó con la prueba de la suma de rangos de Wilcoxon.

**Resultados:** Se estudiaron 23 pacientes (13 mujeres y 10 varones), con una media de edad de 37 $\pm$ 12 años y una evolución media de la psoriasis de 19,9 $\pm$ 13.1 años. Seis pacientes (26%) tenían además artritis. En la visita basal los siguientes valores fueron significativamente más altos en la biopsia de piel con psoriasis que en la piel sana: a) niveles de angiogénesis (área endotelial-CD31 positiva): 2274,2 $\pm$ 833,1 vs. 810,61 $\pm$ 425,2 ( $p < 0.001$ ); b) positividad en la expresión de VEGF: 87% vs. 8,7% ( $p < 0.001$ ) y c) positividad en la expresión de TNF $\alpha$ : 82,6 vs 4,3% ( $p < 0.001$ ). Se observó una mejoría clínica e histológica significativa en la expresión de TNF $\alpha$ , VEGF y de la angiogénesis tras el tratamiento con adalimumab. Los parámetros clínicos de psoriasis y los de angiogénesis (VEGF, TNF $\alpha$  y CD31) mostraron únicamente una correlación significativa entre la mejoría en el CD31 y el PASI basal. Así, los pacientes con un menor PASI basal tenían una mayor respuesta al tratamiento ( $r = 0,590$ ;  $p < 0,003$ ).

**Conclusiones:** en este estudio se demuestra que el tratamiento con adalimumab (anti-TNF $\alpha$ ) disminuye los niveles de VEGF y la angiogénesis en la placa de psoriasis. Este hecho parece sugerir que una parte de su efecto en la mejoría de la psoriasis se debe a la inhibición de la angiogénesis.

**Palabras clave:** psoriasis, tratamiento, factores angiogénicos, anti-TNF, VEGF.

## 1. ABSTRACT

**Introduction:** psoriasis is a chronic inflammatory disease with a multifactorial pathogenic base and multiple therapeutic approaches have been investigated. Angiogenesis plays an important role in the pathogenesis of psoriasis.

The aim of our study was: a) to quantify angiogenesis and VEGF expression in healthy skin and psoriasis plaques before and 6 months after starting treatment with adalimumab; and b) to correlate these parameters with clinical assessment scales (PASI, BSA, NAPSI, PGA, PASE, DLQI, BASDAI, BAFI and with the presence of arthritis).

**Material and methods:** a prospective study of a consecutive series of patients with moderate-severe psoriasis was performed. Patients received subcutaneous injections of adalimumab during 6 months of treatment. Before its initiation, 2 punch biopsies were performed, one of normal skin and one of the periphery of plaque of psoriasis, being repeated the biopsy at the 24 weeks of beginning the treatment, in the zone initially injured. At each biopsy, an immunohistochemical study was performed for VEGF, TNF $\alpha$  and CD31. Quantification of angiogenesis (CD31) was analyzed with an Automated Cellular Imaging System (DAKO). The correlation between clinical and histological parameters was performed using the Pearson's or Spearman's Rho coefficient. The comparison of clinical and histological parameters in both study periods was performed with the Wilcoxon rank sum test.

**Results:** A total of 23 patients (13 females and 10 males) were studied, with a mean age of  $37 \pm 12$  years and an average evolution of psoriasis of  $19.9 \pm 13.1$  years. Six patients (26%) also had arthritis. At the baseline visit, the following values were significantly higher in skin biopsy with psoriasis than in healthy skin: a) angiogenesis levels (CD31 positive endothelial area):  $2274.2 \pm 833.1$  vs.  $810.61 \pm 425.2$  ( $p < 0.001$ ); b) positivity in VEGF expression: 87% vs. 8.7% ( $p < 0.001$ ) and c) positivity in TNF $\alpha$  expression: 82.6 vs 4.3% ( $p < 0.001$ ). Significant clinical and histological improvement in the expression of TNF $\alpha$ , VEGF and angiogenesis after treatment with adalimumab was observed. Clinical parameters of psoriasis and angiogenesis (VEGF, TNF $\alpha$  and CD31) showed only a significant correlation between improvement in CD31 and baseline PASI. Thus, patients with lower baseline PASI had a greater response to treatment ( $r = 0.590$ ,  $p < 0.003$ ).

**Conclusions:** this study demonstrates that treatment with adalimumab (anti-TNF $\alpha$ ) decreases levels of VEGF and angiogenesis in plaque psoriasis. This fact seems to suggest that part of its effect on the improvement of psoriasis is due to the inhibition of angiogenesis.

**Key words:** psoriasis, treatment, angiogenic factors, anti-TNF, VEGF.

## 2. INTRODUCCIÓN

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada clínicamente por la presencia de placas cutáneas eritematosas bien delimitadas. Se trata de una entidad frecuente, afectando, aproximadamente, al 2% de la población con similar prevalencia en ambos sexos.<sup>1</sup>

Es un modelo importante para el estudio y la investigación de la inflamación crónica con el objetivo de crear nuevas estrategias terapéuticas basadas en su patogenia. La mayoría de las investigaciones están centradas en la variante clínica *psoriasis vulgar* por ser la más común ya que afecta al 85-90% de los pacientes con esta enfermedad.<sup>2</sup>

A pesar de que cada año se avanza en el conocimiento de los distintos aspectos de la enfermedad, actualmente, sigue habiendo incógnitas en esta patología.

La psoriasis conlleva un alto grado de morbilidad y un importante coste para el sistema de salud y la sociedad. Los pacientes se sienten mal por el aspecto de su piel y, además, por los efectos secundarios que pueda tener la medicación.<sup>1</sup> A su vez, se observa un descenso en la calidad de vida de las personas con esta patología. Hasta en el 40% de los pacientes podemos encontrar manifestaciones articulares.<sup>3</sup>

Cada vez se considera más a la psoriasis como una enfermedad sistémica ya que se están observando importantes relaciones con otras enfermedades inflamatorias crónicas como la enfermedad de Crohn y la Diabetes Mellitus en cuanto a sus manifestaciones sistémicas.<sup>1</sup> Las condiciones que comparten estas afecciones son el síndrome metabólico, la depresión y el cáncer.<sup>2</sup> A su vez, la relación entre psoriasis y enfermedad cardiovascular está adquiriendo gran importancia, principalmente en las formas moderadas-graves, con riesgo aumentado de infarto agudo de miocardio.<sup>4,5</sup>

### PATOGENIA

La psoriasis puede ser desencadenada por multitud de factores, incluyendo traumatismos, infecciones y medicaciones, pero puede ser difícil identificar el factor individualmente en pacientes con psoriasis.<sup>6</sup>

Las escamas de las placas cutáneas son el resultado de una epidermis hiperproliferativa con maduración prematura de los queratinocitos y una cornificación incompleta con retención de núcleos en el estrato córneo (paraqueratosis).

La frecuencia mitótica de los queratinocitos basales está incrementada (cada 4-5 días; aceleración siete veces superior a la normal) en comparación con la piel de una persona sana.<sup>2</sup> Como resultado, la epidermis está engrosada (acantosis) y junto con el infiltrado inflamatorio dérmico contribuye al espesor total de las lesiones, las cuales varían entre placas gruesas y delgadas.<sup>7</sup>

El infiltrado inflamatorio consiste principalmente en células dendríticas, macrófagos y células T en la dermis y neutrófilos, con algunas células T en la epidermis. El enrojecimiento de las lesiones se debe al aumento del número de capilares tortuosos que alcanzan la superficie de la piel a través de un epitelio marcadamente adelgazado.<sup>1</sup>

Se produce una ruptura en la barrera protectora causada por el fracaso de los

queratinocitos para apilarse normalmente, secretar lípidos extracelulares y adherirse entre sí.<sup>8</sup>

Las vías inmunitarias que se activan en la psoriasis representan amplificaciones de circuitos inmunes de fondo que existen como vías constitutivas o inducibles en la piel humana normal.<sup>9</sup>

## **FACTORES GENÉTICOS**

En los estudios poblacionales se ha observado una mayor incidencia de psoriasis en familiares de primer y segundo grado que en la población general. Esto se ha evidenciado por estudios de concordancia de la enfermedad entre gemelos, que han mostrado que el riesgo de esta patología es de dos a tres veces más alto en gemelos monocigotos que en gemelos dicigotos.<sup>10</sup>

Se trata de un modelo de herencia complejo. Se han identificado por lo menos nueve loci cromosómicos relacionados con la enfermedad y se han denominado *Psoriasis Susceptibility 1 through 9 (PSORS1-PSORS9)*.<sup>11</sup>

El principal determinante genético de la psoriasis es PSORS1,<sup>12</sup> que se ha visto implicado en el 35 a 50% de la heredabilidad y se localiza dentro del complejo mayor de histocompatibilidad en el cromosoma 6p, en la región HLA-B.

Los estudios de asociación del genoma han identificado variantes en el gen que codifica el receptor de la IL23 (IL23R) y en la región no codificante del gen de la IL12, como indicadores de riesgo de psoriasis.<sup>13,14</sup> Así mismo, las variantes de IL23R se han asociado, también, con la espondilitis anquilosante y la artritis psoriásica.<sup>15,16</sup> A su vez, el gen CDKAL1 ha sido identificado como asociado a la psoriasis, la enfermedad de Crohn y la diabetes mellitus tipo 2.<sup>17</sup>

Los estudios genómicos en las lesiones psoriásicas apuntan a las células dendríticas y las células T como principales responsables de la patogenia de la enfermedad y el interferón tipo 1, el interferón-gamma y el TNF- $\alpha$  como citoquinas claves en el proceso.<sup>18,19</sup> Así, observamos que las células y los mediadores del sistema inmunológico tienen un papel clave en la susceptibilidad y el mantenimiento de la psoriasis.<sup>1</sup>

## **CARACTERÍSTICAS INMUNOPATOLÓGICAS DE LA PSORIASIS**

Se ha demostrado la presencia de un mayor número de células inmunes (especialmente, células dendríticas y células T) en lesiones psoriásicas,<sup>20,21</sup> la aparición de células T clonales en las lesiones a lo largo del tiempo,<sup>22</sup> el papel funcional de las células T y citoquinas en los modelos humanos de psoriasis,<sup>23</sup> la actividad de los fármacos dirigidos al sistema inmune,<sup>24,25</sup> los hallazgos de que la psoriasis puede curarse en pacientes que han sido sometidos a un trasplante de médula ósea y que la psoriasis puede ser transferida de un donante de trasplante a un receptor.<sup>26,27</sup> Por lo tanto, las lesiones psoriásicas probablemente evolucionan como una interacción entre las células y los mediadores del sistema inmune y el epitelio de la piel y el tejido conectivo.<sup>28</sup>

## EL SISTEMA INMUNE INNATO Y EL PAPEL DE LOS QUERATINOCITOS

Hay evidencia de desregulación del sistema inmune innato en la psoriasis.<sup>29</sup> Las observaciones clínicas apuntan hacia un papel importante de la citoquina innata, interferón- $\alpha$ , como una inductora de la psoriasis.<sup>30</sup> Los principales productores de interferón- $\alpha$ , las células dendríticas plasmacitoides, están incrementadas y activadas en las lesiones psoriásicas tempranas.<sup>1</sup>

Los queratinocitos responden a diferentes señales de peligro y dirigen las respuestas inmunes innata y adaptativa. Los queratinocitos psoriásicos son una fuente rica de péptidos antimicrobianos, incluyendo LL-37,  $\beta$ -defensinas y S100A7 (psoriasina).<sup>1</sup> Además de su actividad antimicrobiana, los péptidos antimicrobianos también pueden tener una función quimiotáctica y formar la función de la célula inmune, incluyendo la de las células dendríticas y las células T.<sup>31</sup> La IL-17 es el estimulante patogénico más importante de los queratinocitos en la psoriasis.

Los queratinocitos participan en las respuestas inmunes innatas incrementando la síntesis de moléculas innatas efectoras y, también, en la respuesta inmune adaptativa dirigiendo la migración de nuevos subconjuntos de células T a la piel mediante la producción de citoquinas.<sup>9,32</sup>

Las células inmunes innatas producen citoquinas claves (TNF- $\alpha$ , interferón- $\alpha$ , interferón- $\gamma$ , interleuquina-1 $\beta$  y interleuquina-6) que activan las células mieloides dendríticas.<sup>1</sup> Las células dendríticas activadas presentan antígenos y secretan mediadores como interleuquina-12 e interleuquina-23, conduciendo a la diferenciación de las células T helper, tipo 17 y tipo 1 (Th17 y Th1).<sup>1</sup> Las células T secretan mediadores que activan a los queratinocitos e inducen la producción de péptidos antimicrobianos, citoquinas proinflamatorias, quimioquinas y proteínas S100.<sup>1</sup> Estos mediadores solubles retroalimentan el ciclo de la enfermedad proinflamatoria y forman el infiltrado inflamatorio.<sup>1</sup>

### CÉLULAS DENDRÍTICAS

Las células dendríticas superan la brecha entre la inmunidad innata y la adaptativa.<sup>1</sup> En la piel, las principales poblaciones de células dendríticas incluyen CD epidérmicas (células de Langerhans) y CD dérmicas (CD mieloides y CD plasmocitoides).<sup>6</sup> Las células dendríticas dérmicas mieloides están incrementadas en las lesiones psoriásicas e inducen la autoproliferación de las células T así como la producción de citoquinas de la célula Th1.<sup>21</sup> También tienen capacidad proinflamatoria y subgrupos especializados producen TNF- $\alpha$  y óxido nítrico sintasa inducible.<sup>33</sup>

### CÉLULAS T

Una cuestión importante se refiere a la naturaleza autoinmune de la psoriasis y la contribución de las células T autorreactivas al proceso de la enfermedad.<sup>1</sup> La psoriasis está colocada dentro de un espectro de enfermedades autoinmunes relacionadas con la inflamación crónica en ausencia de agentes infecciosos conocidos o antígenos.<sup>34</sup>

El interés reciente se ha centrado en las células Th17 productoras de interleuquina-17A.<sup>1</sup> Este tipo de célula está especializada en la vigilancia inmunológica del epitelio y también

secreta interleuquina-22, una citoquina clave entre los efectores inmunes adaptativos y la desregulación epitelial en la psoriasis.<sup>1</sup>

Cuando las células T efectoras no están siendo retenidas por las células T reguladoras, sus efectos sin restricción conducen a la autoinmunidad.<sup>35</sup> Algunos estudios han demostrado que las T reguladoras son disfuncionales en la psoriasis, con una capacidad supresora disminuida, lo que sugiere que la enfermedad puede ser resultado de la incapacidad de suprimir la autoinflamación.<sup>36</sup> Sin embargo, la función de las células T reguladoras derivadas de la piel aún no ha sido estudiada.<sup>9</sup>

### CITOQUINAS

El éxito clínico de la terapia anti-TNF en el tratamiento de la psoriasis, pone de manifiesto el importante papel que juegan las citocinas en su patogenia.<sup>37</sup> Tanto el TNF- $\alpha$  como el interferón- $\gamma$  también tienen propiedades antiinflamatorias; esto podría explicar, en parte, la observación clínica de que la terapia anti-TNF induce psoriasis en una minoría de pacientes.<sup>38</sup>

### MACRÓFAGOS

Los macrófagos son células fagocíticas que participan en la homeostasis tisular.<sup>39</sup> Los macrófagos han sido reconocidos como células presentadoras de antígeno, capaces de activar las células T de memoria durante la estimulación de la respuesta inmune adaptativa.<sup>6</sup> Los macrófagos se encuentran aumentados tres veces más en la piel lesional psoriásica.<sup>40</sup> Es probable que contribuyan a la inflamación patógena en la psoriasis mediante la liberación de productos inflamatorios clave.<sup>41</sup>

### MECANISMO CONTRARREGULADORES

Durante la homeostasis de los tejidos, los estados proinflamatorios se equilibran a través de mecanismos contra-reguladores.<sup>1</sup> Aunque los estudios han indicado que el número de células T reguladoras (Treg) no está alterado en la piel psoriásica lesional, parece haber un defecto en su actividad supresora global.<sup>36</sup> Una citoquina reguladora importante, la interleuquina-10, está disminuida en la psoriasis.<sup>1</sup>

### **LA MICROVASCULARIZACIÓN PSORIÁSICA**

La angiogénesis consiste en el desarrollo de nuevos vasos a partir de estructuras vasculares preexistentes.<sup>84</sup> Se puede llevar a cabo por dos vías: formación de nuevos capilares a partir de vasos sanguíneos preexistentes y mediante la división de vasos preexistentes.<sup>42,43</sup> La matriz extracelular, las células del sistema inmune innato y adaptativo, así como las células endoteliales son fuente de factores angiogénicos que pueden estimular o inhibir receptores específicos y modificar la respuesta de distintas vías de señalización intracelular.<sup>44</sup>

La angiogénesis fisiológica tiene lugar transitoriamente durante procesos como cicatrización de heridas, embarazo o el ciclo reproductivo femenino.<sup>45</sup> La angiogénesis patológica se produce en condiciones como el crecimiento tumoral y la inflamación crónica, lo cual se observa durante la artritis reumatoide o la psoriasis.<sup>45</sup>

Los vasos sanguíneos alargados y dilatados en las papilas dérmicas representan un signo

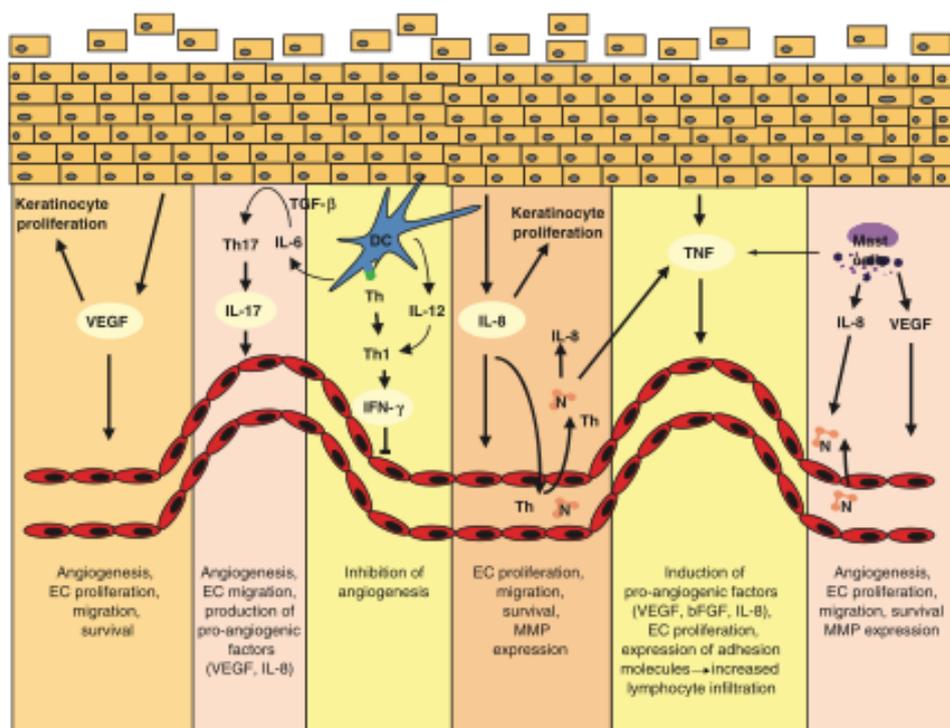
histológico adicional de las lesiones cutáneas psoriásicas.<sup>45</sup>

Mientras que, en la piel normal, los capilares muestran un fenotipo arterial, en la piel psoriásica presentan características de los capilares venosos, como una membrana basal de una o varias capas y fenestraciones del endotelio.<sup>46</sup> De este modo, se ha visto que, tras el tratamiento de la enfermedad, los capilares venosos tornan al fenotipo arterial, propio de la piel no afectada.<sup>46</sup>

Además de los cambios morfológicos, los microvasos dérmicos papilares en las lesiones psoriásicas muestran una mayor expresión de moléculas de adhesión asociadas a la inflamación, tales como E-selectina, ICAM-1 y la molécula 1 de adhesión celular vascular.<sup>45</sup> Estas moléculas de adhesión permiten la adhesión de leucocitos al endotelio<sup>85</sup> importante acción para la extravasación de linfocitos y el establecimiento de una respuesta inflamatoria.

La formación de nuevos vasos sanguíneos comienza con los cambios psoriásicos tempranos y desaparecen con la cura de la enfermedad.<sup>1,47</sup> Varios mediadores angiogénicos como el factor de crecimiento endotelial, los factores inducibles por hipoxia, las angiopoyetinas y las citocinas angiogénicas, como el TNF, IL-8 e IL-17, están involucrados en el desarrollo de la psoriasis.<sup>45</sup>

Como la angiogénesis está estrechamente regulada por un equilibrio entre estímulos pro-angiogénicos y anti-angiogénicos, la expresión de factores anti-angiogénicos también debe ser modulada durante la psoriasis.<sup>45</sup> De hecho, los queratinocitos aislados de la piel psoriásica muestran una expresión fuertemente reducida de la trombospondina-1 (TSP-1), un inhibidor endógeno de la angiogénesis.<sup>45</sup> TSP-1 suprime la proliferación y migración de las células endoteliales, formación de neovasos y crecimiento tumoral.<sup>48,49,50</sup>



**Figura 1.** El papel de la angiogénesis en la patogenia de la psoriasis. VEGF, vascular endothelial growth factor; IL, interleukin; IFN, interferon; TNF, tumour necrosis factor; TGF, tumour growth factor; MMP, matrix metalloproteinases; bFGF, basic fibroblast growth factor; ECs, endothelial cells; DC, dendritic cells; Th, T-helper cells; N, neutrophils.<sup>45</sup>

## VEGF

El factor de crecimiento vascular endotelial es el factor angiogénico más crítico en la patogenia de la psoriasis con lo que se considera una diana óptima para el tratamiento de la enfermedad.<sup>81</sup> La familia de VEGF consta de varios miembros en los mamíferos, pero VEGF-A es el principal componente y al que normalmente nos referimos<sup>51,82</sup> El gen humano del VEGF está localizado en el cromosoma 6p21.3.<sup>82</sup>

El VEGF-A se puede unir con dos receptores expresados en las células endoteliales (VEGFR-1 y VEGFR-2).<sup>45</sup> La unión del factor a uno de estos receptores lleva a la activación de este último con la consecuente transducción de la señal intracelular.<sup>52,53,54</sup> Sin embargo, las principales funciones relacionadas con el crecimiento y efectos angiogénicos son llevadas a cabo por el VEGFR-2, mientras que el VEGFR-1 es requerido durante la embriogénesis para el desarrollo normal de los vasos sanguíneos.<sup>54,83</sup>

Detmar y col. observaron que la sobreexpresión de VEGF selectivamente en queratinocitos basales dio lugar a una inflamación crónica de la piel con un aumento de capilares tortuosos, expresando niveles incrementados de VEGFR-1 y -2, un número elevado de mastocitos en la dermis superior y un aumento de migración y adhesión de leucocitos.<sup>55</sup>

Otro hallazgo a favor de la importante implicación de este factor en la patogenia de la psoriasis es la fuerte correlación de los polimorfismos de un solo nucleótido con la enfermedad.<sup>78</sup>

La psoriasis puede ser inducida por una lesión externa, lo cual es conocido como fenómeno de Koebner, y, curiosamente, la disrupción de la homeostasis de la barrera epidérmica induce la expresión de VEGF.<sup>56</sup> Así, la producción fisiológica de este factor ayuda a la proliferación, diferenciación y funcionamiento normal de la epidermis ya que se ha visto en ratones transgénicos, con deficiencia en la expresión del mismo, una recuperación retardada de la barrera, con disminución de la densidad de vasos sanguíneos y de hiperplasia epidérmica.<sup>56</sup>

## HIFs

En las lesiones psoriásicas, se observa una fuerte proliferación epidérmica con el consecuente aumento de las demandas metabólicas provocando condiciones de hipoxia por lo que la expresión de las formas de HIFs está aumentada.<sup>45</sup>

## Angiopoyetinas

En el proceso de la angiogénesis también intervienen Ang-1 y Ang-2 y su receptor Tie-2. Son esenciales para el crecimiento, maduración y estabilización de los vasos sanguíneos.<sup>57,58,59,60,61</sup>

El sistema Ang-Tie-2 se activa durante la psoriasis.<sup>62,63</sup> Son inducidos en la dermis papilar de la piel de la psoriasis.<sup>62</sup> Ang-1 se expresa en fibroblastos, células mononucleares o células dendríticas, mientras que la expresión de Ang-2 parece estar limitada a las células endoteliales.<sup>45</sup> La reducción prominente de la expresión de Ang-2 después de una terapia exitosa sugiere un papel importante de Ang-2 durante la angiogénesis en la psoriasis.<sup>62</sup> Además, la sobreexpresión de Tie-2 refleja varias características de la psoriasis en modelos de ratones transgénicos.<sup>45</sup>

### Citoquinas

Intervienen en la proliferación, migración o supervivencia de las células endoteliales o modulan la expresión de factores pro- o anti-angiogénicos. Entre las citoquinas con actividad pro-angiogénica, TNF, IL-8 e IL-17 son expresadas durante la psoriasis.<sup>45</sup>

**TNF** conduce a la activación de las células endoteliales, dando como resultado una expresión aumentada de moléculas de adhesión y quimioquinas.<sup>64</sup> El TNF induce varios factores pro-angiogénicos, tales como VEGF, IL-8 y bFGF, en la célula endotelial<sup>65</sup> y ejerce efectos tanto pro como anti-angiogénicos.

La **IL-8** es producida por varios tipos de células (mastocitos,<sup>66</sup> neutrófilos,<sup>67</sup> células T,<sup>67</sup> queratinocitos<sup>68</sup> y células endoteliales<sup>69</sup>). Es un quimioatrayente fuerte para neutrófilos, basófilos y linfocitos T, y está implicada en enfermedades autoinmunes, inflamatorias e infecciosas.<sup>70</sup> La IL-8 puede ser inducida por IL-1, TNF, IL-6, IFN- $\gamma$ , lipopolisacáridos, especies reactivas de oxígeno y otros mediadores del estrés celular.<sup>45</sup> La IL-8 es también un potente factor pro-angiogénico. Los efectos pro-angiogénicos de la IL-8 son independientes de sus funciones proinflamatorias, ya que la IL-8 también estimula la angiogénesis en ausencia de inflamación.<sup>71,72</sup>

Por otra parte, la IL-8 promueve la supervivencia de la célula endotelial mediante la inhibición de la apoptosis de la célula endotelial mediante la inducción de proteínas anti-apoptóticas, como Bcl2, y la regulación a la baja de proteínas pro-apoptóticas como Bax en la célula endotelial.<sup>73</sup>

La **IL-17A** inicia la cascada de producción de quimioquinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión por las células epiteliales, fibroblastos y células endoteliales.<sup>45</sup> Es un factor pro-angiogénico que puede inducir la formación de nuevos vasos sanguíneos en un ensayo sobre córnea de rata<sup>74</sup> y la migración de las células endoteliales *in vitro*, además de estimular la expresión de otros factores, incluyendo VEGF.<sup>45</sup> Así mismo, promueve la expresión de TNF por los macrófagos.<sup>75</sup>

### 3. PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

La angiogénesis desempeña una importante función en la patogenia de la psoriasis. El TNF- $\alpha$  es un mediador esencial, al inducir la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que activa a las células endoteliales, promoviendo la angiogénesis. Así, en el presente trabajo se pretende estudiar el impacto de la angiogénesis, mediante la inhibición de la vía del TNF- $\alpha$ , sobre la patogenia de la enfermedad.

El adalimumab es un anticuerpo monoclonal humano usado en el tratamiento de la psoriasis y otras enfermedades autoinmunes que bloquea la respuesta inmune interfiriendo la unión del TNF $\alpha$  a sus receptores.

### 4. OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio son los siguientes:

1º. Cuantificar la angiogénesis y la expresión de VEGF en piel sana y en la placa de psoriasis antes y a los 6 meses del inicio del tratamiento con adalimumab, un inhibidor del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ).

2º. Correlacionar estos parámetros con escalas de valoración clínica: PASI (Psoriasis Area and Severity Index), BSA (Body Surface Area), NAPSI (Nail Psoriasis Severity Index), PGA (Physician's Global Assessment of disease severity), PASE (Psoriatic Arthritis Screening and Evaluation questionnaire) y DLQI (Dermatology Life Quality Index).

### 5. MATERIAL Y MÉTODO

Se realiza un estudio prospectivo de una serie consecutiva de pacientes con psoriasis moderada-grave, los cuales fueron vistos en las consultas clínicas del servicio de Dermatología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander, Norte de España), debiendo iniciar terapia anti-TNF $\alpha$  por indicación médica.<sup>76</sup> Los pacientes sometidos a estudio tenían una edad de 18 años o superior. Todos ellos fueron clínicamente examinados y diagnosticados de psoriasis por un dermatólogo. Para ello se excluyeron pacientes con enfermedad renal, hipertensión o índice de masa corporal  $\geq 35$  Kg/m<sup>2</sup>.

Los pacientes recibieron inyecciones subcutáneas de adalimumab (Humira, Laboratorios Abbot S.A., Madrid, España) con 80 mg en la semana 0 seguidos de 40 mg cada dos semanas, empezando una semana después de la dosis inicial y hasta completar los 6 meses de duración del tratamiento.<sup>86</sup> El protocolo del estudio fue aprobado por el comité de ética institucional local, y fue establecido de acuerdo a los estándares éticos perfilados en la Declaración de Helsinki. Los pacientes dieron su consentimiento informado para participar en este estudio.

En el momento de la inscripción todos los pacientes fueron sometidos a evaluación de sus características clínicas y demográficas (Tabla 1). Al inicio del estudio (antes del tratamiento con adalimumab) y tras 6 meses de terapia, todos los pacientes fueron evaluados para determinar la actividad de la enfermedad, incluyendo el porcentaje de

superficie corporal afectada (BSA), el índice de gravedad y el área de psoriasis (PASI), cuestionario de detección y evaluación de artritis psoriásica (PASE), índice de gravedad de la psoriasis ungueal (NAPSI) y valoración médica global de la severidad de la enfermedad (PGA).

**Tabla 1.** Pacientes con psoriasis moderada-grave que completaron 6 meses con adalimumab.<sup>76</sup>

Variable	
Men/Women, n	14 /15
Age at the time of the study (years); mean±SD	38.6±10.7
Disease duration (years); mean±SD	18.2±12.1
Classic cardiovascular risk factors, n (%)	
Current smokers	10 (34)
Ever smoked	14 (48)
Obese (BMI > 30 Kg/m <sup>2</sup> )	7 (24)
Dyslipidemia	13 (44)
BMI (kg/m <sup>2</sup> ); mean±SD	27.5±3.7
SD	96.1±10.8

#### Biopsias y estudio inmunohistoquímico

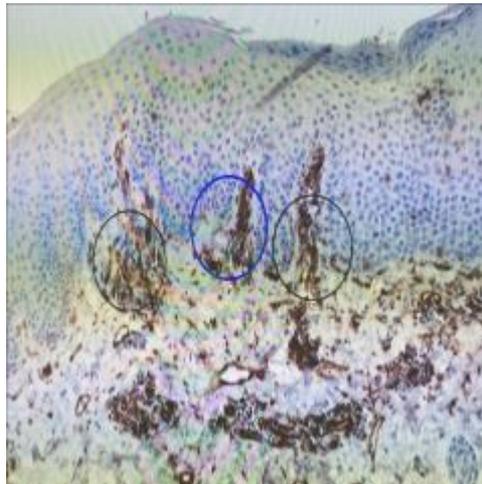
Antes de iniciar el tratamiento se realizaron 2 biopsias punch (6 mm de diámetro). Una fue tomada de piel normal y otra de la periferia de placa de psoriasis, repitiéndose a cada paciente la biopsia a las 24 semanas de iniciarse el tratamiento con adalimumab, en la zona inicialmente lesionada. También se hizo, en las visitas posteriores, la analítica correspondiente.

La biopsia punch de piel fue cortada en dos mitades. Una de las mitades fue incluida en Tissue-Tek OCT y congelada en nitrógeno líquido y almacenada a - 80°C. La otra mitad, fue fijada en formaldehído al 4% e incluida en parafina.

A partir de los bloques de parafina se realizaron secciones de 4 micras que se tiñeron usando la técnica Avidina-Biotina-Immunoperoxidasa (LSAB; Dako, Glostrup, Dinamarca). La recuperación de antígeno se realizó incubando las muestras con tampón

citrato a pH 6.0 y calentando en un autoclave (3 min, 1.5 atm). Las laminillas se tiñeron con el anticuerpo primario: anti-VEGFA-isoformas: VEGF-121, 165, 189. Clon VG1 (DAKO), anticuerpo anti-TNF $\alpha$ : Abcam ab6671 anti-CD31: clon JC70A (DAKO). Se utilizó diaminobencidina como cromógeno y las secciones se contrastaron con hematoxilina. Los controles positivos y negativos apropiados se realizaron en paralelo.

La cuantificación de la angiogénesis fue analizada utilizando el sistema automatizado de imagen celular (ACISS-III de DAKO). El sistema de imagen fue usado para identificar la inmunorreactividad para CD31 de los vasos de la dermis papilar. El área vascular se cuantificó por inmunotinción CD31 con el software ImagePro. (Figura 2). Las unidades fueron dadas en micrómetros (4 píxeles: 1 micrómetro<sup>2</sup>) y se contaron cuatro campos aleatorios de 40x en cada laminilla.



**Figura 2.** Área teñida (positividad marrón) definido en píxeles.

La expresión inmunohistoquímica de VEGF y TNF- $\alpha$  se analizó usando un método semicuantitativo. Se asignó una puntuación que dependía del porcentaje estimado de células positivas. La escala era la siguiente: negativa (0%), débil (0-25%), intermedia (20%-50%) y fuerte (> 50%). Los queratinocitos, fibroblastos y células inflamatorias de la dermis fueron inmunorreactivos para VEGF.

#### Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado utilizando STATA 12/SE (StataCorp, College Station, TX). Los resultados se informaron como media  $\pm$  desviación estándar (DE). Para la comparación de las variables normalmente distribuidas entre los grupos, se utilizó la prueba t de Student.

La correlación de la angiogénesis, TNF- $\alpha$  y VEGF, antes del adalimumab (en el momento 0) y después de seis meses de tratamiento, con variables continuas seleccionadas se realizó ajustando por edad, sexo y duración de la enfermedad mediante la estimación del coeficiente de correlación parcial de Pearson (r). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a  $p < 0.05$ .

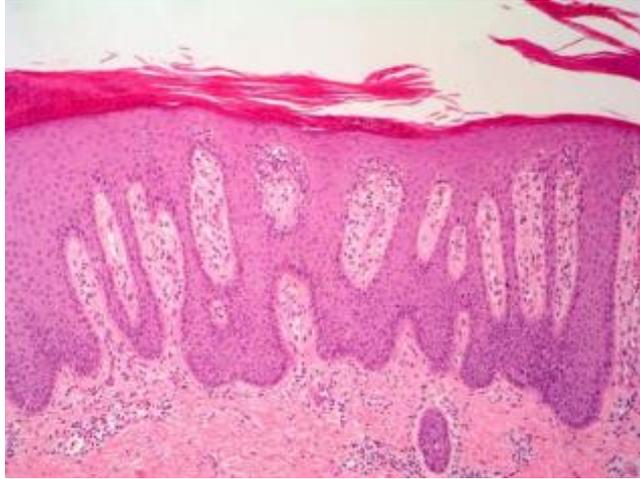
## 6. RESULTADOS

### RESULTADOS CLINICOS

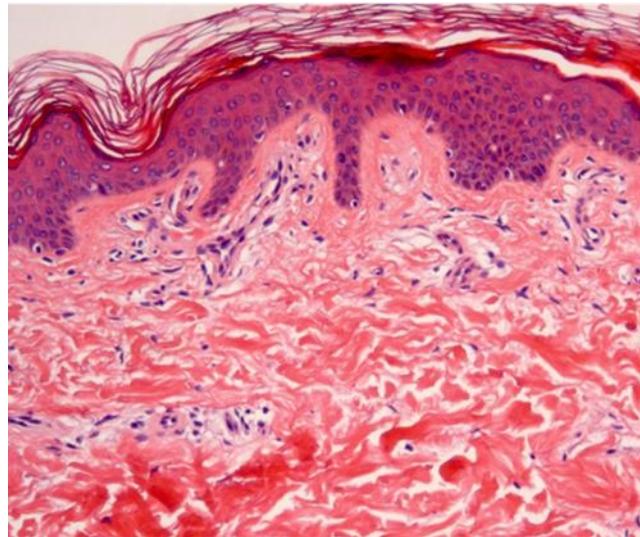
Veintinueve pacientes (52% mujeres; media  $\pm$  DE 38.6 $\pm$ 10.7 años) con psoriasis moderada-grave (BSA 37.9 $\pm$ 16.3%, PASI 18.9 $\pm$ 7.8) completaron 6 meses de terapia con adalimumab pero sólo en 23 pacientes había sido realizada una biopsia antes (Figura 2 A y B) y después del tratamiento (Figura 3).

En la **tabla 2** se observan las diferencias en los parámetros clínicos entre el momento 0 (inmediatamente antes del comienzo de la terapia con adalimumab) y tras 6 meses de tratamiento con este agente biológico.

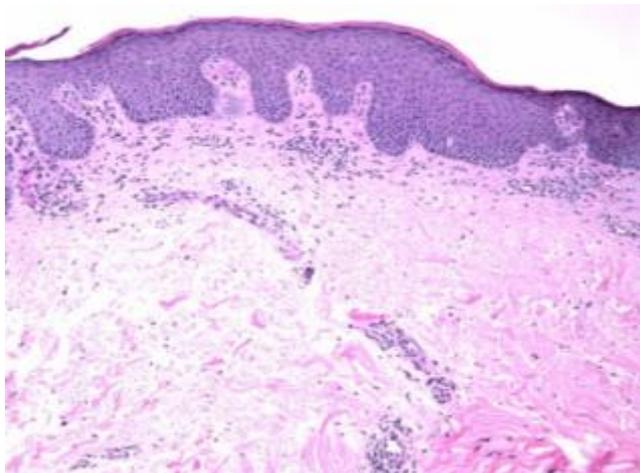
Variable	Basal (time 0)	At month 6	p-value
BSA (%)	37.9 $\pm$ 16.3	3.1 $\pm$ 5.5	<0.001
PASI (0-72)	18.9 $\pm$ 7.8	1.3 $\pm$ 2.1	<0.001
NAPSI hands (0-80)	5.4 $\pm$ 10.5	1.5 $\pm$ 3.9	0.04
PGA psoriasis (0-6)	3.9 $\pm$ 0.6	0.7 $\pm$ 0.6	<0.001
PASE total score (15-75)	32.5 $\pm$ 15.9	25.2 $\pm$ 13.0	0.005
PASE functional (8-40)	15.9 $\pm$ 8.7	12.1 $\pm$ 6.2	0.005
PASE symptoms (7-35)	16.6 $\pm$ 7.7	13.1 $\pm$ 7.3	0.007
BSA (%)	37.9 $\pm$ 16.3	3.1 $\pm$ 5.5	<0.001



**Figura 2A.** Biopsia de una placa de psoriasis.



**Figura 2B.** Biopsia de piel sana.

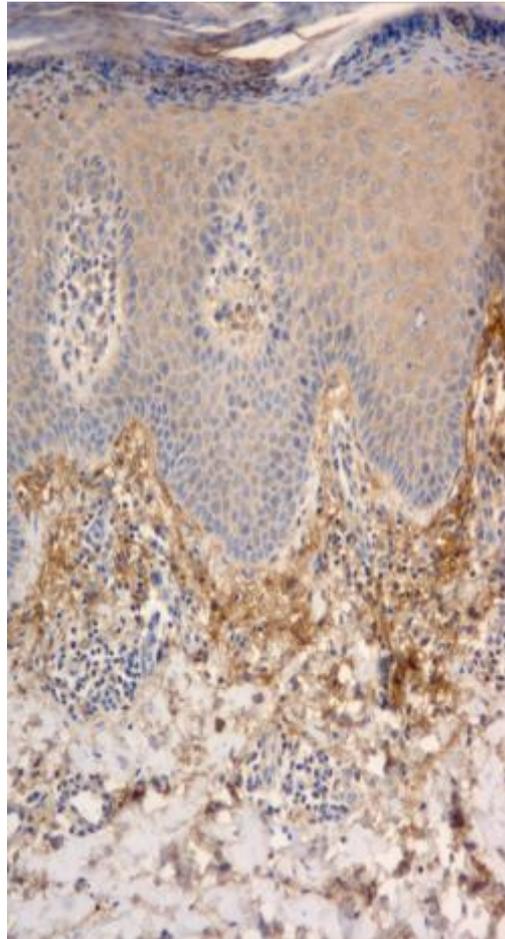


**Figura 2A.** Biopsia de piel después del tratamiento.

## RESULTADOS INMUNOHISTOQUIMICOS

### **TNF- $\alpha$**

En el estudio IHQ observamos positividad para TNFalfa (Figura 4) en la biopsia correspondiente a la placa de psoriasis en todos los casos. Observamos una positividad leve para TNF alfa en la biopsia de piel sana en 1 de los pacientes.

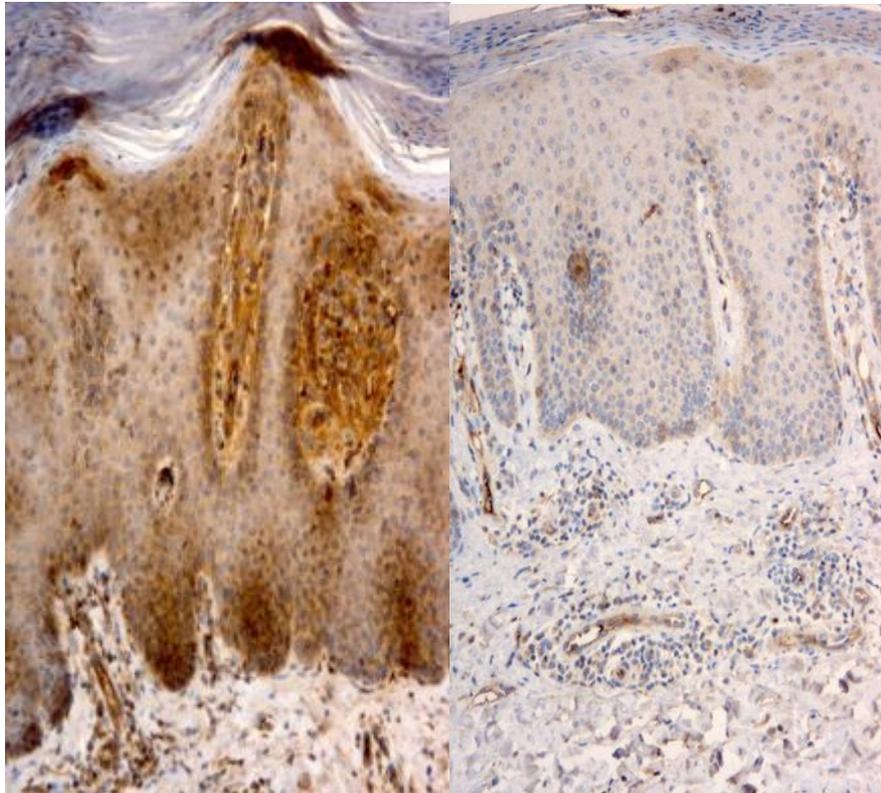


**Figura 4.** Positividad mediante inmunohistoquímica para TNF- $\alpha$ .

Después del tratamiento observamos positividad leve para TNF- $\alpha$  en dos de los 23 casos estudiados. El resto de los pacientes mostraban negatividad para TNF- $\alpha$ .

## VEGF

La positividad para VEGF se observó principalmente en los queratinocitos, con diferentes grados de intensidad. (Figura 5). En la tabla 3 y 4 se observan los resultados del estudio IHQ de VEGF en la piel sana y en la piel con psoriasis respectivamente, antes del tratamiento con adalimumab.



**Figura 5A.** Positividad intensa y ligera mediante inmunohistoquímica para VEGF.

**Tabla 3.** Resultados de IHQ para VEGF en piel sana.

VEGF_sano					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	% acumulado
Válidos	negativo	21	91,3	91,3	91,3
	ligero	2	8,7	8,7	100,0
	Total	23	100,0	100,0	

**Tabla 4.** Resultados de IHQ para VEGF en psoriasis antes del tratamiento.

VEFG_psoriasis					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	% acumulado
Válidos	negativo	3	13,0	13,0	13,0
	ligero	8	34,8	34,8	47,8
	moderado	9	39,1	39,1	87,0
	intenso	3	13,0	13,0	100,0
	Total	23	100,0	100,0	

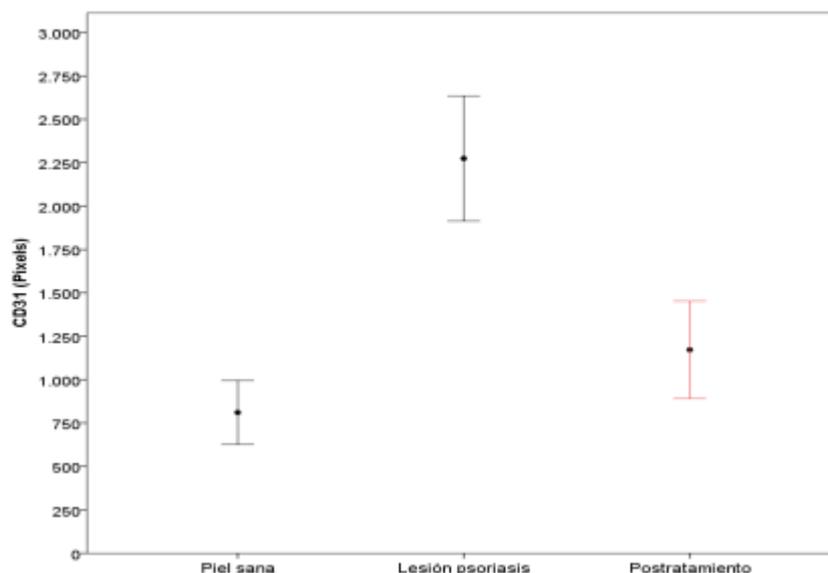
**Tabla 5.** Resultados de IHQ para VEGF después del tratamiento.

VEFG_postto					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	negativo	<b>19</b>	82,6	82,6	82,6
	ligero	2	8,7	8,7	91,3
	moderado	2	8,7	8,7	100,0
	Total	23	100,0	100,0	

Observamos una significativa sobreexpresión de VEGF en la placa de psoriasis en comparación con la piel normal. El 86.9% de las biopsias de las placas psoriásicas mostraron tinción positiva para VEGF. Por otro lado, se observó una débil positividad para el VEGF en el 8.7% de las biopsias de la piel no lesionada. Además, había un claro descenso de la expresión de VEGF antes y después de tratamiento con adalimumab. Basal psoriasis: negativa 3/23 (13%) vs Post-tto 19/23 (82,6%):  $p < 0,0001$  Basal psoriasis: positiva 20/23 (86,9%) vs Post-tto 4/23 (17,4%):  $p < 0,001$ . (Tabla 5).

## CD31

Comparamos la angiogénesis en placas de psoriasis antes y después de seis meses de tratamiento y observamos que la inmunotinción CD31 (Figura 5) se redujo estadísticamente en las placas psoriásicas después del tratamiento (prueba de Wilcoxon, Figura 6). CD31 antes y después del tratamiento ( $p < 0.0001$ ).



**Figura 6.** Prueba de Wilcoxon. Angiogénesis antes y después del tratamiento.

**Tabla 6.** Prueba de Wilcoxon (Angiogénesis antes y después del tratamiento).

Estadísticos de contraste <sup>a</sup>	
	CD31 postto - CD31 psoriasis
Z	-3,924 <sup>b</sup>
Sig. asintót. (bilateral)	,000
a. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon	
b. Basado en los rangos positivos.	

## COMPARACIÓN INMUNOHISTOQUIMICA VEGF Y ANGIOGENESIS CON LAS VARIABLES CLÍNICAS

De todos los parámetros clínicos estudiados, solamente existía una relación estadísticamente significativa entre la expresión de VEGF antes y después del tratamiento con el PASE. (Tabla 7). Los pacientes con mayor PASE son los que mayor expresión de VGFR tienen y se observa un claro descenso del VEGF después del tratamiento.

**Tabla 7.** Comparación de variables clínicas con la expresión de VEGF.

Correlaciones BIVARIADAS			
		VEFG_psoresis	VEFG_post-tto
BSA_porc	r	,083	-,234
	p	,708	,283
	n	23	23
PASI_072	r	,161	-,205
	p	,463	,349
	n	23	23
NAPSIhands	r	-,095	,342
	p	,666	,111
	n	23	23
PGA	r	,143	-,140
	p	,514	,524
	n	23	23
Artritis	r	-,015	,398
	p	,947	,060
	n	23	23
PASE_síntomas	r	,457	,451
	p	<b>,028</b>	<b>,031</b>
	n	23	23

PASE_funcional	r	,331	,493
	p	,123	<b>,017</b>
	n	23	23
PASE_total	r	,404	,496
	p	,056	<b>,016</b>
	n	23	23

No existe correlación entre expresión VEGF y factores de actividad de psoriasis.

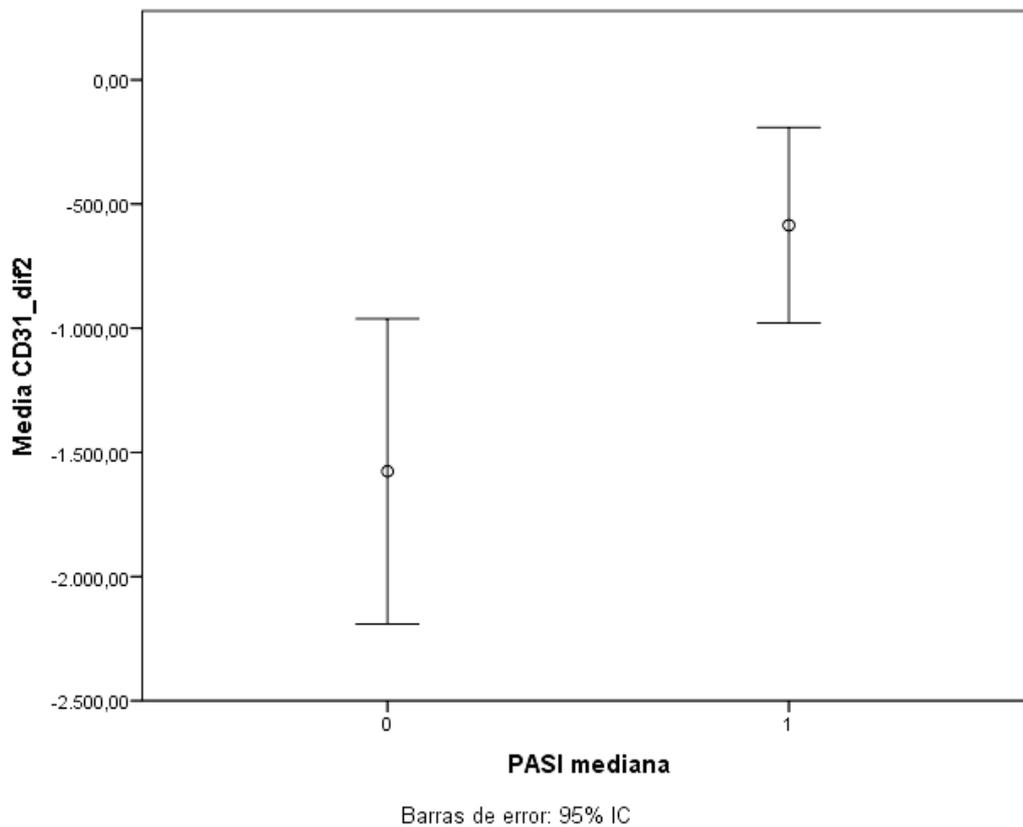
### ANGIOGÉNESIS

La diferencia que existe entre la angiogénesis (cuantificada con CD31) antes y después del tratamiento se correlaciona con el PASI basal. La correlación es directa (Tabla 8).

Los pacientes con un PASI basal mejor (menos puntuación en el PASI) tienen una mayor respuesta al tratamiento en términos de una mayor diferencia en el CD31, respecto a los pacientes con un PASI basal peor (Figura 7).

**Tabla 8.** Correlación de la diferencia de angiogénesis con el PASI.

Correlaciones						
			PASI cuartiles	PASI mediana	PASI	PASI 6m
Rho de Spearman	CD31_dif2	Coeficiente de correlación	,508	,590	,521	,144
		Sig. (bilateral)	,013	,003	,011	,556
		N	<b>23</b>	<b>23</b>	<b>23</b>	19



**Figura 7.** Coeficiente de correlación de la diferencia de angiogénesis con el PASI.

## 7. DISCUSIÓN

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria inmuno-mediada de la piel, caracterizada por engrosamiento de la epidermis debido a la proliferación de los queratinocitos, la infiltración por células inflamatorias y el aumento de la vascularización dérmica.<sup>2</sup> La angiogénesis es una etapa temprana de la psoriasis, ocurriendo antes del desarrollo de las lesiones psoriásicas y manifestándose con un aumento de la tortuosidad, la permeabilidad y la elongación de los capilares papilares dérmicos.<sup>46</sup>

La evidencia de un papel de las células endoteliales en la psoriasis, incluye la expresión aumentada del VEGF,<sup>77</sup> la inflamación psoriasiforme en modelos de ratones con sobreexpresión transgénica de VEGF en la epidermis, la asociación de psoriasis con variantes de genes de VEGF<sup>78</sup> y la eficacia de terapias contra la angiogénesis en modelos animales.<sup>79</sup>

El VEGF-A parece ser el principal factor angiogénico que contribuye a la expansión vascular. VEGF-A induce la proliferación de las células endoteliales y aumenta la permeabilidad vascular, mediante la estimulación de dos receptores tirosin kinasa, VEGFR-1 y VEGFR-2, en la superficie de la célula endotelial.

VEGF y el factor de angiogénesis estimulante de células endoteliales están significativamente aumentados en las placas de psoriasis y esos niveles parecen correlacionarse con la severidad clínica.<sup>80</sup>

En nuestro estudio observamos una significativa sobreexpresión de VEGF en la placa de psoriasis en comparación con la piel normal. Por lo que demostramos el importante papel de VEGF en el desarrollo de la psoriasis. Además, hay un claro descenso de la expresión de VEGF después de tratamiento con adalimumab. VEGF podría jugar un papel importante en la relación que existe entre inflamación y la angiogénesis.

Comparamos la angiogénesis en placas de psoriasis antes y después de seis meses de tratamiento y observamos que la angiogénesis determinada mediante inmunohistoquímica con CD31 se redujo en las placas psoriásicas después del tratamiento.

Probablemente adalimumab produce una disminución de VEGF y esta disminución de VEGF favorece la regresión de la angiogénesis que estaba incrementada en las placas de psoriasis. Además del descenso de otros factores proangiogénicos que se encuentran elevados en la psoriasis.<sup>77</sup>

La diferencia que existe entre la angiogénesis (cuantificada con CD31) antes y después del tratamiento se correlaciona con el PASI basal. Los pacientes con un PASI basal mejor (menos puntuación en el PASI) tienen una mayor respuesta al tratamiento en términos de mayor descenso de angiogénesis, respecto a los pacientes con un PASI basal peor.

TNF es el primer miembro de la superfamilia de citocinas TNF. El TNF dirige la activación de las células endoteliales, resultando en un incremento en la expresión de moléculas de adhesión y quimiocinas. Así mismo, induce varios factores pro-angiogénicos, tales como VEGF, IL-8 y bFGF, en las células endoteliales.

Las terapias que bloquean la actividad de TNF dan lugar a una mejoría clínica de la psoriasis y a una disminución en la expresión de factores pro-angiogénicos. Los datos confirman que el TNF contribuye a la angiogénesis asociada con la psoriasis. Sin embargo, se desconoce por el momento si éste causa angiogénesis directamente, o bien, indirectamente a través de la inducción de factores pro-inflamatorios o angiogénicos.

## **8. CONCLUSIONES**

El anti-TNF $\alpha$  adalimumab disminuye los niveles de VEGF, es decir, disminuye la angiogénesis con el tratamiento.

No observamos correlación entre los niveles de actividad clínica de la psoriasis y la expresión de VEGF antes y después del tratamiento. Solo se correlacionó con el PASE.

Los niveles de angiogénesis (área endotelial – CD31 positiva) son mayores en la placa de psoriasis que en la piel sana del mismo paciente. Y los niveles de angiogénesis disminuyen con el tratamiento.

Existe una relación entre la diferencia de angiogénesis antes y después del tratamiento con respecto al PASI inicial.

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. Frank O. Nestle, M.D., Daniel H. Kaplan, M.D., Ph.D., and Jonathan Barker, M.D. Mechanisms of disease. Psoriasis. *N Engl J Med* 2009;361:496-509.
2. Griffiths CE, Barker JN. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet* 2007;370:263-71.
3. Horn EJ, Fox KM, Patel V, Chiou CF, Dann F, Lebwohl M. Association of patient-reported psoriasis severity with income and employment. *J Am Acad Dermatol* 2007;57:963-71.
4. Gisondi P, Tessari G, Conti A, et al. Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: a hospital-based case-control study. *Br J Dermatol* 2007; 157:68-73.
5. Ludwig RJ, Herzog C, Rostock A, et al. Psoriasis: a possible risk factor for development of coronary artery calcification. *Br J Dermatol* 2007;156:271-6.
6. Jaehwan Kim, MD, PhD, James G, MD, PhD. The immunopathogenesis of Psoriasis. *Dermatol Clin* 33 (2015) 13-23.
7. Christensen TE, Callis KP, Papenfuss J, et al. Observations of psoriasis in the absence of therapeutic intervention identifies two unappreciated morphologic variants, thin-plaque and thick-plaque psoriasis, and their associated phenotypes. *J Invest Dermatol* 2006;126:2397-403.
8. Lowes MA, BowcockAM, KruegerJG. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature* 2007;445:866-73.
9. Lowes MA. Suárez-Fariñas M, Krueger JG. Immunology of psoriasis. *Annu Rev Immunol* 2014;32: 227- 55.
10. Farber EM, Nall ML. The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica* 1974;148:1-18.
11. Bowcock AM, Krueger JG. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol* 2005;5: 699-711. [Erratum, *Nat Rev Immunol* 2005;5:826.].
12. Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL, et al. Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997;6:813-20.
13. Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet* 2007;80:273-90.
14. Capon F, Di Meglio P, Szaub J, et al. Sequence variants in the genes for the interleukin-23 receptor (IL23R) and its ligand (IL12B) confer protection against psoriasis. *Hum Genet* 2007;122:201-6.

15. Rahman P, Inman RD, Maksymowych WP, Reeve JP, Peddle L, Gladman DD. Association of interleukin 23 receptor variants with psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2009;36:137-40.
16. Rahman P, Inman RD, Gladman DD, Reeve JP, Peddle L, Maksymowych WP. Association of interleukin-23 receptor variants with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2008;58:1020-5.
17. Wolf N, Quaranta M, Prescott NJ, et al. Psoriasis is associated with pleiotropic susceptibility loci identified in type II diabetes and Crohn disease. *J Med Genet* 2008;45:114-6.
18. Yao Y, Richman L, Morehouse C, et al. Type I interferon: potential therapeutic target for psoriasis? *PLoS One* 2008;3(7): e2737. [Erratum, *PLoS ONE* 2009;4(3).].
19. Haider AS, Lowes MA, Suárez-Fariñas M, et al. Cellular genomic maps help dissect pathology in human skin disease. *J Invest Dermatol* 2008;128:606-15.
20. Bos JD, Hulsebosch HJ, Krieg SR, Bakker PM, Cormane RH. Immunocompetent cells in psoriasis: in situ immuno-phenotyping by monoclonal antibodies. *Arch Dermatol Res* 1983;275:181-9.
21. Nestle FO, Nickoloff BJ. Role of dendritic cells in benign and malignant lymphocytic infiltrates of the skin. *Dermatol Clin* 1994;12:271-82.
22. Menssen A, Trommler P, Vollmer S, et al. Evidence for an antigen-specific cellular immune response in skin lesions of patients with psoriasis vulgaris. *J Immunol* 1995;155:4078-83.
23. Nestle FO, Nickoloff BJ. From classical mouse models of psoriasis to a spontaneous xenograft model featuring use of AGR mice. *Ernst Schering Res Found Workshop* 2005;50:203-12.
24. Griffiths CE, Powles AV, Leonard JN, Fry L, Baker BS, Valdimarsson H. Clearance of psoriasis with low dose cyclosporin. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986;293:731-2.
25. Prinz J, Braun-Falco O, Meurer M, et al. Chimaeric CD4 monoclonal antibody in treatment of generalised pustular psoriasis. *Lancet* 1991;338:320-1.
26. Eedy DJ, Burrows D, Bridges JM, Jones FG. Clearance of severe psoriasis after allogeneic bone marrow transplantation. *BMJ* 1990;300:908.
27. Gardembas-Pain M, Ifrah N, Foussard C, Boasson M, Saint Andre JP, Verret JL. Psoriasis after allogeneic bone marrow transplantation. *Arch Dermatol* 1990;126: 1523.
28. Schön MP, Boehncke W-H. Psoriasis. *N Engl J Med* 2005;352:1899-912.
29. Nickoloff BJ. Skin innate immune system in psoriasis: friend or foe? *J Clin Invest* 1999;104:1161-4.
30. Funk J, Langeland T, Schruppf E, Hanssen LE. Psoriasis induced by interferon-alpha. *Br J Dermatol* 1991;125: 463-5.
31. Büchau AS, Gallo RL. Innate immunity and antimicrobial defense systems in psoriasis. *Clin Dermatol* 2007;25:616-24.
32. Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, et al. Skin immune sentinels in health and

- disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9:679- 91.
33. Lowes MA, Chamian F, Abello MV, et al. Increase in TNF-alpha and inducible nitric oxide synthase-expressing dendritic cells in psoriasis and reduction with efalizumab (anti-CD11a). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:19057-62.
  34. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001;345: 340-50.
  35. Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+) CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol* 2010;10:849-59.
  36. Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4+ CD25high regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J Immunol* 2005;174:164- 73.
  37. Reich K, Nestle FO, Papp K, et al. Infliximab induction and maintenance therapy for moderate-to-severe psoriasis: a phase III, multicentre, double-blind trial. *Lancet* 2005;366:1367-74.
  38. Collamer AN, Guerrero KT, Henning JS, Battafarano DF. Psoriatic skin lesions induced by tumor necrosis factor antagonist therapy: a literature review and potential mechanisms of action. *Arthritis Rheum* 2008;59:996-1001.
  39. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* 2008;8: 958-69.
  40. Zaba LC, Cardinale I, Gilleaudeau P, et al. Amelioration of epidermal hyperplasia by TNF inhibition is associated with reduced Th17 responses. *J Exp Med* 2007;204:3183- 94.
  41. Fuentes-Duculan J, Suarez-Fannas M, Zaba LC, et al. A subpopulation of CD163-positive macrophages is classically activated in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2010;130:2412-22.
  42. Risau W. (1997) Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 386, 671–674.
  43. Carmeliet P. (2000) Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat. Med.* 6, 389–395.
  44. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med.* 1971;285:1182-6.
  45. Regina Heidenreich, Martin Röcken, Kamran Ghoreschi. Angiogenesis drives psoriasis pathogenesis. *Int. J. Exp. Path.* (2009), 90, 232–248.
  46. Braverman I.M. & Yen A. (1977) Ultrastructure of the capillary loops in the dermal papillae of psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 68, 53–60.
  47. Schon M.P. & Boehncke W.H. (2005) Psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 352, 1899–1912.
  48. Tolsma S.S., Volpert O.V., Good D.J., Frazier W.A., Polverini P.J., Bouck N. (1993) Peptides derived from two separate domains of the matrix protein thrombospondin-1 have anti-angiogenic activity. *J. Cell Biol.* 122, 497–511.
  49. Boukamp P., Bleuel K., Popp S., Vormwald-Dogan V., Fusenig N.E. (1997) Functional evidence for tumor-suppressor activity on chromosome 15 in human skin carcinoma cells and thrombospondin-1 as the potential suppressor. *J. Cell.*

- Physiol. 173, 256–260.
50. Streit M., Velasco P., Brown L.F. et al. (1999) Overexpression of thrombospondin-1 decreases angiogenesis and inhibits the growth of human cutaneous squamous cell carcinomas. *Am. J. Pathol.* 155, 441–452.
  51. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J. (2003) The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 9, 669–676.
  52. De Vries C., Escobedo J.A., Ueno H., Houck K., Ferrara N., Williams L.T. (1992) The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science* 255, 989–991.
  53. Shibuya M. (1995) Role of VEGF-flt receptor system in normal and tumor angiogenesis. *Adv. Cancer Res.* 67, 281–316.
  54. Shibuya M. & Claesson-Welsh L. (2006) Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Exp. Cell Res.* 312, 549–560.
  55. Detmar M., Brown L.F., Schon M.P. et al. (1998) Increased microvascular density and enhanced leukocyte rolling and adhesion in the skin of VEGF transgenic mice. *J. Invest. Dermatol.* 111, 1–6.
  56. Elias P.M., Arbiser J., Brown B.E. et al. (2008) Epidermal vascular endothelial growth factor production is required for permeability barrier homeostasis, dermal angiogenesis, and the development of epidermal hyperplasia: implications for the pathogenesis of psoriasis. *Am. J. Pathol.* 173, 689–699.
  57. Dumont D.J., Gradwohl G., Fong G.H. et al. (1994) Dominant-negative and targeted null mutations in the endothelial receptor tyrosine kinase, tek, reveal a critical role in vasculogenesis of the embryo. *Genes Dev.* 8, 1897–1909.
  58. Sato T.N., Tozawa Y., Deutsch U. et al. (1995) Distinct roles of the receptor tyrosine kinases Tie-1 and Tie-2 in blood vessel formation. *Nature* 376, 70–74.
  59. Suri C., Jones P.F., Patan S. et al. (1996) Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis [see comments]. *Cell* 87, 1171–1180.
  60. Davis S., Aldrich T.H., Jones P.F. et al. (1996) Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning [see comments]. *Cell* 87, 1161–1169.
  61. Maisonpierre P.C., Suri C., Jones P.F. et al. (1997) Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 277, 55–60.
  62. Kuroda K., Sapadin A., Shoji T., Fleischmajer R., Lebwohl M. (2001) Altered expression of angiopoietins and Tie2 endothelium receptor in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 116, 713–720.
  63. Voskas D., Jones N., Van Slyke P. et al. (2005) A cyclosporine-sensitive psoriasis-like disease produced in Tie2 transgenic mice. *Am. J. Pathol.* 166, 843–855.
  64. Patterson C., Perrella M.A., Endege W.O., Yoshizumi M., Lee M.E., Haber E. (1996) Downregulation of vascular endothelial growth factor receptors by tumor necrosis factor-alpha in cultured human vascular endothelial cells. *J. Clin. Invest.*

- 98, 490–496.
65. Yoshida S., Ono M., Shono T. et al. (1997) Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in tumor necrosis factor alpha-dependent angiogenesis. *Mol. Cell. Biol.* 17, 4015–4023.
  66. Biedermann T., Kneilling M., Mailhammer R. et al (2000) Mast cells control neutrophil recruitment during T cell-mediated delayed-type hypersensitivity reactions through tumor necrosis factor and macrophage inflammatory protein 2. *J. Exp. Med.* 192, 1441–1452.
  67. Gillitzer R. & Goebeler M. (2001) Chemokines in cutaneous wound healing. *J. Leukoc. Biol.* 69, 513–521.
  68. Nickoloff B.J., Mitra R.S., Varani J., Dixit V.M., Polverini P.J. (1994) Aberrant production of interleukin-8 and thrombospondin-1 by psoriatic keratinocytes mediates angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 144, 820–828.
  69. Karl E., Warner K., Zeitlin B. et al. (2005) Bcl-2 acts in a pro-angiogenic signaling pathway through nuclear factor-kappaB and CXC chemokines. *Cancer Res.* 65, 5063–5069.
  70. Brat D.J., Bellail A.C., Van Meir E.G. (2005) The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. *Neuro Oncol.* 7, 122–133.
  71. Hu D.E., Hori Y., Fan T.P. (1993) Interleukin-8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation* 17, 135–143.
  72. Strieter R.M., Kunkel S.L., Elner V.M. et al. (1992) Interleukin-8. A corneal factor that induces neovascularization. *Am. J. Pathol.* 141, 1279–1284.
  73. Li A., Dubey S., Varney M.L., Dave B.J., Singh R.K. (2003) IL- 8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J. Immunol.* 170, 3369–3376.
  74. Numasaki M., Fukushi J., Ono M. et al. (2003) Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth. *Blood* 101, 2620– 2627.
  75. Jovanovic D.V., Di Battista J.A., Martel-Pelletier J. et al. (1998) IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. *J. Immunol.* 160, 3513–3521.
  76. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015 Jul;29(7):1325-30. doi: 10.1111/jdv.12814. Epub 2014 Oct 29. Anti-TNF- $\alpha$  therapy improves insulin sensitivity in non-diabetic patients with psoriasis: a 6-month prospective study. Pina T<sup>1</sup>, Armesto S<sup>2</sup>, Lopez-Mejias R<sup>1</sup>, Genre F<sup>1</sup>, Ubilla B<sup>1</sup>, Gonzalez-Lopez MA<sup>2</sup>, Gonzalez-Vela MC<sup>3</sup>, Corrales A<sup>1</sup>, Blanco R<sup>1</sup>, Garcia-Unzueta MT<sup>4</sup>, Hernandez JL<sup>5</sup>, Llorca J<sup>6,7</sup>, Gonzalez-Gay MA<sup>1</sup>.
  77. 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.
  78. Young HS, Summers AM, Read IR, et al. Interaction between genetic control of vascular endothelial growth factor production and retinoid responsiveness in

- psoriasis. *J Invest Dermatol* 2006;126: 453-9.
79. Halin C, Fahrngruber H, Meingassner JG, et al. Inhibition of chronic and acute skin inflammation by treatment with a vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *Am J Pathol* 2008;173:265-77.
  80. Martyn-Simmons CL, Ranawaka RR, Chowienczyk P, Crook MA, Marber MS, Smith CH, Barker JN. A prospective case-controlled cohort study of endothelial function in patients with moderate to severe psoriasis. *Br J Dermatol*. 2011; 164: 26-32.
  81. Wei Li, Xiao-Yong Man, Jia-Qi Chen, Jiong Zhou, Sui-Qing Cai, Min Zheng. Targeting VEGF/VEGFR in the treatment of psoriasis. *Discov Med* 18(98):97-104.
  82. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, Cross MJ. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal* 19(10):2003-2012, 2007.
  83. Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling – in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7(5):359-371, 2006.
  84. N.A. Richarz, A. Boada, J.M. Carrascosa. Angiogenesis in Dermatology – Insights of molecular mechanisms and latest developments. *Actas Dermosifiliogr*. 2017.
  85. Springer T.A. (1994) Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 76, 301-314.
  86. L. Puig, X. Bordas, J.M. Carrascosa, E. Daudén, C. Ferrándiz, J.M. Hernanz, J.L. López-Esteban, J.C. Moreno, J.L. Sánchez-Carazo, F. Vanaclocha, H. Vázquez-Veiga. Consensus Document on the Evaluation and Treatment of Moderate to Severe Psoriasis. Spanish Psoriasis Group of the Spanish Academy of Dermatology and Venereology. *Actas Dermosifiliogr*. 2009; 100:277-86.

## **10. AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo ha sido realizado bajo la dirección de la Dra. Carmen González-Vela, a quien me gustaría expresar mi agradecimiento por su tiempo, dedicación y las facilidades aportadas.