



Polimorfismos del receptor Fc gamma en patología cutánea inmunomediada: Papel en la patogenia del penfigoide ampollosa y en la respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis

Antonio Guilabert Vidal

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR FC GAMMA EN
PATOLOGÍA CUTÁNEA INMUNOMEDIADA:
PAPEL EN LA PATOGENIA DEL PENFIGOIDE
AMPOLLOSO Y EN LA RESPUESTA A TRATAMIENTO
BIOLÓGICO EN LA PSORIASIS**

Antonio Guilabert Vidal

TESIS DOCTORAL



UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Línea de Investigación: Agresión biológica y mecanismos de respuesta
Grupo de Investigación: Inmunoreceptores del sistema inmune innato y adaptativo

PROGRAMA DE DOCTORADO MEDICINA

Facultad de Medicina

Codirector: Dr. Francisco Lozano Soto

Codirector: Dr. José Manuel Mascaró Galy

*A Mónica y Pau, los auténticos
artífices de este trabajo*

La presente tesis doctoral se estructura siguiendo un FORMATO CLÁSICO.

La tesis se basa fundamentalmente en dos proyectos de investigación, uno de los cuales ha generado una publicación original (en la que el doctorando es primer autor) en una revista indexada dentro de los dos primeros cuartiles del área de conocimiento del doctorando (véase ANEXO A).

El otro proyecto de investigación incluido en esta tesis se encuentra en vías de publicación. Además, se incluye como ANEXO B una publicación científica tipo caso clínico generada también a partir de los resultados de esta tesis.

Agradecimientos

Al **Dr. José Manuel Mascaró**, por ser a la vez mentor y amigo y por guiar mis primeros pasos en el mundo de la investigación en dermatología.

Al **Dr. Francisco Lozano**, por creer en mí y en este proyecto, y por su apoyo incondicional a la investigación en nuestra especialidad.

Al **Dr. Marc Julià**, cuya generosidad, trabajo y excelencia han hecho posible esta tesis doctoral.

A **Belén Suárez**, y al resto de miembros del grupo del IDIBAPS del Dr. Lozano, no sólo por haberme enseñado las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa, sino también por su despliegue de paciencia y comprensión infinita en los momentos menos lúcidos de mi aprendizaje.

Al **Dr. Nemesio Moreno**, por haber trabajado codo con codo en una de las partes más duras de este trabajo: la estadística.

A los miembros del **Servicio de Dermatología del Hospital Clínic**, incluyendo médicos adjuntos, residentes, enfermeras, auxiliares y administrativos. Cada uno de ellos, con su granito de arena y a su manera, ha sido esencial para la consecución de este proyecto.

A los **Servicios de Dermatología de los Hospitales Germans Trias i Pujol y del Hospital del Mar**, por su valiosa colaboración a la hora de aportar muestras biológicas.

A **Mónica Sabaté y Juan Antonio Pérez** por su ayuda en la corrección de estilo y en el procesado informático del texto, respectivamente.

Al **Hospital Clínic y al Instituto de Salud Carlos III**, que han apoyado este trabajo mediante becas de investigación.

Finalmente, a mis dos hermanas y mis padres, por haber sabido transmitirme, entre otros, valores como el perfeccionismo, el espíritu crítico y la capacidad de esfuerzo, que han sido esenciales para la realización de esta tesis doctoral.

Índice

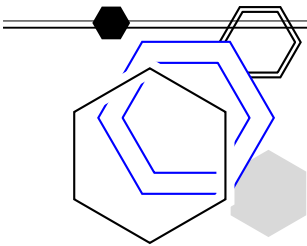
Agradecimientos	V
I Introducción	1
1 Receptores Fc–Gamma (FcγR)	3
1.1 Introducción	3
1.2 Familia de los Fc γ R	4
1.2.1 Estructura molecular de Fc γ R	5
1.2.2 Distribución de los Fc γ R en las células del sistema inmune .	7
1.2.3 Espectro de afinidad de los Fc γ R por la IgG	7
1.2.4 Vías intracelulares desencadenadas por Fc γ R	8
1.2.4.1 Vías activadoras	9
1.2.4.2 Vías inhibitorias	9
1.2.5 Factores adicionales moduladores de la unión IgG-Fc γ R . .	10
1.2.5.1 Mediadores que regulan la expresión de Fc γ R . . .	10
1.2.5.2 Glicovariantes de IgG que modulan la unión a Fc γ R	10
1.3 Funciones inmunológicas inducidas por Fc γ R	11
1.3.1 Funciones eferentes	11
1.3.2 Funciones aferentes	12
1.3.2.1 Funciones de Fc γ R en las células dendríticas . . .	12
1.3.2.2 Funciones inhibitorias de Fc γ RIIB en las células B	12
1.4 Polimorfismos genéticos de Fc γ R	13
1.4.1 Fc γ RIIA-H131R	13
1.4.2 Fc γ RIIA-V158F	14
1.4.3 Fc γ RIIB-I187T	14
1.5 Relevancia clínica de los polimorfismos de Fc γ R	15
1.5.1 Patología autoinmunitaria	15
1.5.2 Patología infecciosa	17

1.5.3	Fc γ R como marcadores farmacogenéticos	18
2	Enfermedades cutáneas objeto de estudio de esta tesis y su relación con FcγR	21
3	Penfigoide ampolloso (PA)	23
3.1	Introducción	23
3.2	Epidemiología	24
3.3	Clínica	26
3.3.1	Formas ampollosas	26
3.3.2	Formas no ampollosas	27
3.4	Histología	27
3.5	Patogénesis	28
3.5.1	Especificidades antigénicas y autoanticuerpos	28
3.5.2	Respuesta inflamatoria dependiente de anticuerpos	30
3.5.2.1	Complemento	32
3.5.2.2	Mastocitos	32
3.5.2.3	Neutrófilos	33
3.5.2.4	Fc γ R	33
3.5.2.5	Enzimas proteolíticas	33
3.5.2.6	Eosinófilos	34
3.5.3	Génesis de los autoanticuerpos	34
3.6	Tratamiento	35
4	Psoriasis	37
4.1	Introducción	37
4.2	Epidemiología	38
4.3	Clínica	39
4.3.1	Formas clínicas	39
4.3.2	Indicadores de gravedad clínica	39
4.4	Patogénesis	41
4.4.1	Genética	41
4.4.2	Inmunidad innata	41
4.4.3	Inmunidad adaptativa	42
4.5	Tratamiento	43
4.5.1	Tratamiento tópico	43
4.5.2	Tratamiento sistémico	44

4.5.3	Agentes biológicos	45
4.5.3.1	Terapia anti-TNF- α	45
4.5.3.2	Farmacocinética de los agentes biológicos	47
4.6	Aspectos farmacoeconómicos	48
II	Hipótesis	51
III	Objetivos	55
IV	Material y métodos	59
1	Diseño de los estudios y participantes	61
1.1	Polimorfismos de Fc γ R y PA	61
1.2	Polimorfismos de Fc γ R y respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis	63
2	Análisis genético	65
2.1	Extracción del ADN	65
2.2	Cuantificación del ADN	66
2.3	PCR de amplificación ‘alelo específica’ de Fc γ RIIIA-V158F	67
2.4	Genotipación de Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIB-I187T	68
2.5	Interpretación de los resultados	69
3	Análisis estadístico	71
V	Resultados	73
1	Polimorfismos de FcγR en el PA	75
1.1	Análisis de los polimorfismos de Fc γ R en el PA vs. controles	75
1.1.1	Frecuencias genotípicas	75
1.1.2	Frecuencias genotípicas agrupadas	77
1.1.3	Frecuencias alélicas	79
1.2	Análisis de los polimorfismos de Fc γ R en función de la gravedad del PA	80
1.2.1	Análisis multivariante	81

2	Polimorfismos de FcγR y respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis	83
2.1	Estudio descriptivo	83
2.2	Relación de los genotipos de Fc γ R con la respuesta a biológicos . .	87
2.2.1	Análisis bivariante	87
2.2.2	Análisis multivariante	91
VI	Discusión	95
1	Polimorfismos de FcγR en la población española	99
2	Polimorfismos de FcγR como marcadores de PA	101
3	Polimorfismos de FcγR como modificadores de PA	103
4	Polimorfismos de FcγR como predictores de respuesta en el tratamiento biológico de la psoriasis	105
5	Implicaciones clínicas	109
5.1	En el PA	109
5.2	En la psoriasis	110
VII	Conclusiones	111
VIII	Bibliografía	115
IX	Anexos	139
A	Artículo original	143
B	Artículo tipo ‘caso clínico’	149

I Introducción



Receptores $\text{Fc}\text{-}\gamma\text{R}$ $\text{Fc}\text{-}\text{Gamma}$

1.1. Introducción

Los receptores $\text{Fc}\text{-}\gamma\text{R}$ (en inglés, $\text{Fc}\gamma\text{R}$) constituyen uno de los ejes centrales del sistema inmunitario humano. Pertenecen a la familia de receptores Fc , que incluye, por ejemplo, al receptor $\text{Fc}\text{-}\text{neonatal}$ (FcRn) o al receptor $\text{Fc}\text{-}\text{epsilon}$ ($\text{Fc}\epsilon\text{R}$). Su ligando es la porción cristalizable (Fc) de las inmunoglobulinas G (IgG). Los $\text{Fc}\gamma\text{R}$ se encuentran distribuidos en la superficie de macrófagos y otras células mieloides así como en células no mieloides, linfocitos B y células *natural killer* (NK). Los $\text{Fc}\gamma\text{R}$ permiten la interacción entre los anticuerpos IgG unidos a antígenos y las células inflamatorias, que serán las encargadas de eliminar dichos agentes exógenos.¹ Dicho de otro modo, los $\text{Fc}\gamma\text{R}$ constituyen el puente de unión entre el sistema inmune adaptativo (anticuerpos específicos producidos tras la exposición antigénica) y el sistema inmune innato (células inmunes efectoras como los macrófagos, neutrófilos, mastocitos o células NK).

Los $\text{Fc}\gamma\text{R}$ fueron identificados hace ya cuatro décadas pero, paradójicamente, su función no fue bien comprendida y extendida a los libros de texto fundamentales

de Inmunología hasta finales del siglo pasado. Durante treinta años fueron contemplados como unas moléculas curiosas sin una función biológica clara.² El panorama actual no puede ser más diferente y los Fc γ R son aceptados como las moléculas dominantes que median las diferentes acciones de las IgG. Así, la inflamación inducida por inmunocomplejos (IC) y la citotoxicidad dependiente de IgG tienen lugar gracias a un mecanismo dependiente de los Fc γ R.

Además, los Fc γ R constituyen un sistema de control de la tolerancia inmunológica y de la génesis de anticuerpos, mediante la regulación de la maduración de las células dendríticas y linfocitos B y de la supervivencia de las células plasmáticas.¹ Podríamos decir, de forma global, que los Fc γ R tienen un papel tanto en el polo eferente del sistema inmune (funciones mediadas por IgG) como en el polo aferente, es decir, la propia producción de los anticuerpos.

Debido al protagonismo de estos receptores en el sistema inmune, no es de extrañar que los Fc γ R tengan un papel patogenético central tanto en patología autoinmune como en la susceptibilidad a determinadas infecciones.³ La mayoría de los Fc γ R presentan polimorfismos genéticos con relevancia funcional que afectan al grado de afinidad del receptor por la IgG y, por tanto, a la intensidad de las funciones resultantes de dicha interacción (p. ej., producción de anticuerpos, fagocitosis, liberación de citocinas o citotoxicidad dependiente de anticuerpo (ADCC)). De hecho, determinadas variantes polimórficas de Fc γ R han sido relacionadas con el lupus eritematoso sistémico (LES),^{4,5} la artritis reumatoide,⁶ el síndrome antifosfolipídico⁷ o con la susceptibilidad a enfermedades infecciosas como la meningocemia grave⁸ o la enfermedad periodontal.⁹

Finalmente, del mismo modo que los Fc γ R afectan crucialmente a la función efectora de la IgG, estos receptores participan en el mecanismo de acción de los anticuerpos monoclonales terapéuticos, debido a que éstos presentan el fragmento Fc en su estructura. De hecho, los polimorfismos genéticos de Fc γ R también han sido relacionados con la eficacia clínica de fármacos como el rituximab,¹⁰ o los agentes anti-TNF- α .¹¹ Esta implicación clínica es la que ha provocado que, en los últimos años, los Fc γ R hayan alcanzado una relevancia aún mayor si cabe en la literatura médica.

1.2. Familia de los Fc γ R

Aunque ampliamente reproducidos en modelos humanos, los mecanismos y función biológica de los Fc γ R fueron definidos inicialmente en modelos experimentales murinos. En el ratón, se han podido reconocer hasta la fecha 4 tipos de Fc γ R, a saber: Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII y Fc γ RIV.¹ En el ser humano encontramos

proteínas ortólogas que corresponden a estos Fc γ R, pero la equivalencia no es exacta. Por ejemplo, en humanos existe una mayor complejidad con la presencia de algunas variantes de estos receptores. Así Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, Fc γ RIIC, Fc γ RIIA y Fc γ RIIB son los Fc γ R propios del ser humano. Tanto en humanos como en ratones, los genes correspondientes a los Fc γ R se encuentran agrupados en proximidad en el brazo largo del cromosoma 1.³ Debido a su localización genómica y a la similitud de su secuencia genética, se piensa que el Fc γ RIV murino corresponde al Fc γ RIIA humano y que el Fc γ RIII murino está estrechamente relacionado con el Fc γ RIIA del ser humano.¹²

Los Fc γ R se diferencian (lo cual permite su clasificación) en 2 aspectos fundamentales: a) su grado de afinidad por la IgG; y b) el tipo de vía de señalización que son capaces de desencadenar (activadora o inhibidora). De este modo, tenemos Fc γ R de ‘alta afinidad’ (Fc γ RI) y de ‘baja afinidad’ (el resto) y Fc γ R inhibidores (Fc γ RIIB) y activadores (todos los demás).³ El factor que determina la naturaleza activadora o inhibidora de un determinado Fc γ R es la presencia de motivos peptídicos de inmunoreceptor activadores o inhibidores basados en tirosina (ITAM e ITIM respectivamente) en su región citoplasmática (**Figura 1.1**).¹

1.2.1. Estructura molecular de Fc γ R

Los Fc γ R son glicoproteínas transmembrana tipo 1 (a excepción de Fc γ RIIB) pertenecientes a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Sus ectodominios (cadenas α) consisten en 2 dominios (D1 y D2, en el caso de Fc γ RII, Fc γ RIII) o 3 dominios (D1, D2 y D3 en Fc γ RI) tipo inmunoglobulina.¹ La mayor afinidad de Fc γ RI podría venir determinada por la presencia de un dominio extracelular adicional.¹³ Fc γ RIIA y Fc γ RIIB presentan una similitud del 93% en sus regiones extracelulares.¹⁴ Las cadenas α de la mayoría de Fc γ R (a excepción de Fc γ RIIB como luego se comentará) atraviesan la membrana plasmática y se introducen en el citoplasma (**Figura 1.1**).

El fragmento Fc de la IgG está formado por dos dominios CH2 y dos dominios CH3 que están unidos por una región bisagra. Cuando se produce la unión entre el fragmento Fc y Fc γ R, sólo un dominio extracelular de un único Fc γ R entra en contacto con un dominio CH2,¹⁵ estableciendo una estequiometría 1:1 para la interacción IgG-Fc γ R.¹⁶⁻¹⁹ Por tanto, para que se produzca una unión cruzada o *crosslinking* de varios Fc γ R (imprescindible para la posterior activación celular) es necesaria la presencia de múltiples Fc formando parte de IC.¹

Donde los Fc γ R presentan mayores diferencias estructurales entre sí es en lo referente a su componente intracitoplasmático. Este componente intracelular

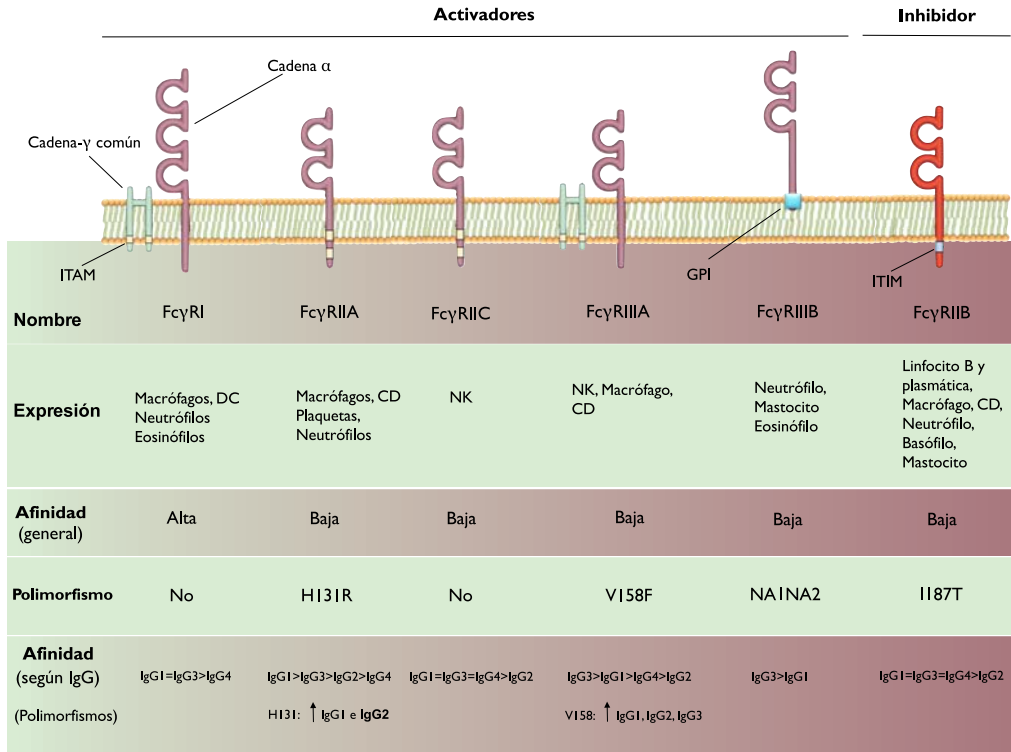


Figura 1.1: Familia de los receptores Fc-gamma. CD: célula dendrítica; NK: célula natural killer.

cumple una función esencial, ya que es el encargado de transmitir la señal del receptor para que puedan activarse (o inhibirse) las funciones inmunes celulares. Las cadenas α de FcγRIIA, FcγRIIC y FcγRIIB son capaces de transmitir señales activadoras a través de ITAM (FcγRIIA y FcγRIIC) e inhibitoras mediante ITIM (FcγRIIB).¹ Sin embargo, las señales de FcγRI y FcγRIIIA son transmitidas por un dímero transmembrana llamado cadena γ común, que se encuentra asociado a la cadena α. Este dímero de cadena γ presenta ITAMs en su componente intracelular. En el caso de las células NK, FcγRIIIA se asocia con la cadena ζ del receptor de los linfocitos T.²⁰ Finalmente, los dominios extracelulares de FcγRIIIB se encuentran anclados a la membrana plasmática mediante un enlace tipo glicosil fosfatidil inositol (GPI) sin presentar regiones transmembrana o citoplasmática, por lo que se cree que este receptor no es capaz de desencadenar de forma directa una respuesta celular.¹⁴

1.2.2. Distribución de los Fc γ R en las células del sistema inmune

Los Fc γ R se expresan fundamentalmente en células hematopoyéticas, aunque también se han detectado en células endoteliales, osteoclastos, células mesangiales, microglía, queratinocitos y células de glándulas salivales.^{1,14}

Los Fc γ R se distribuyen de manera desigual en las células inmunes humanas.²¹ La mayoría de células coexpresan receptores activadores e inhibidores a excepción de las células NK, que sólo expresan receptores activadores, fundamentalmente Fc γ RIIA, aunque también Fc γ RIIC,^{22,23} y los linfocitos B y células plasmáticas, que parecen expresar únicamente Fc γ RIIB.^{3,22} Con respecto a los receptores activadores, los neutrófilos sólo expresan Fc γ RIIA y Fc γ RIIB,²⁴ los monocitos, macrófagos y células dendríticas expresan todos los tipos a excepción de Fc γ RIIC y Fc γ RIIB, y los mastocitos y basófilos expresan fundamentalmente Fc γ RIIB (**Figura 1.1**).²²

1.2.3. Espectro de afinidad de los Fc γ R por la IgG

Clásicamente, Fc γ RI ha sido considerado como el único Fc γ R de alta afinidad ($K_a > 10^7 \text{ M}^{-1}$) siendo el único receptor capaz de ligar IgG monomérica, lo que le hace estar constantemente saturado por la elevada presencia de anticuerpos monoméricos en el torrente sanguíneo y, por tanto, con escaso acceso a IC.¹ Por el contrario, el resto de Fc γ R, al presentar una afinidad mucho más baja, no pueden unirse a IgG monomérica sérica y se unen exclusivamente a IC, los cuales son capaces de inducir una señal inflamatoria (activadora o inhibidora) tras unirse mediante *crosslinking* a Fc γ R.²⁵ Por tanto los Fc γ R de ‘baja afinidad’ y, de un modo paradójico, van a presentar una actividad biológica más relevante permitiendo a los anticuerpos modular eficientemente acciones celulares durante una respuesta inmune adaptativa.²⁶

El espectro cuantitativo de afinidad de los Fc γ R depende además de la subclase de IgG (**Figura 1.1**).²² De hecho, Fc γ RI pese a ser un receptor de alta afinidad para IgG1, IgG3 e IgG4, no es capaz de unirse a IgG2.²⁶ Por su parte, los receptores llamados de ‘baja afinidad’ presentan afinidades dispares según la subclase de IgG. Fc γ RIIA se une con especial afinidad a IgG3, mientras que Fc γ RIIA es el receptor con más afinidad por IgG2. Por su parte, Fc γ RIIB presenta la afinidad más baja de todos los Fc γ R para IgG1, IgG2 e IgG3.²⁶ En definitiva, el grado de afinidad para cada isotipo de IgG parece depender del tipo de Fc γ R, lo cual va a tener especial relevancia debido a que, el isotipo de IgG varía en función de la acción efectora inmune y por tanto, el tipo de Fc γ R que protagonice la acción será diferente (p. ej., la opsonización de microorganismos encapsulados es llevada a cabo

fundamentalmente por IgG2 y, por tanto, el Fc γ R más relevante será Fc γ RIIA). La complejidad de la interacción IgG-Fc γ R aumenta aún más si cabe, si consideramos la existencia de polimorfismos genéticos en los Fc γ R humanos de baja afinidad que modifican cuantitativamente dicha afinidad para isotipos concretos de IgG, como se desarrollará más adelante.

1.2.4. Vías intracelulares desencadenadas por Fc γ R

Los Fc γ R pueden desencadenar señales activadoras (dependientes de ITAM) o inhibitoras (dependientes de ITIM, presente únicamente en Fc γ RIIB). La existencia de una señal inhibitoria mediada por Fc γ RIIB supone un sistema de regulación negativa que impide un estado proinflamatorio excesivo. La mayoría de células del sistema inmune coexpresan Fc γ R activadores y Fc γ RIIB de modo que, al entrar en contacto con los IC, todos los Fc γ R transmitirán señales intracelulares inhibitoras y activadoras, lo cual establece un umbral de activación celular.¹² Este umbral de activación dependerá de la densidad de receptores activadores e inhibidores en la membrana plasmática, así como de la afinidad de dichos receptores por el isotipo de IgG que predomine en los IC que inducen la respuesta.¹² Esta señal inhibitoria mediada por Fc γ RIIB es particularmente relevante en los linfocitos B y células dendríticas, ya que la existencia de un exceso de IC circulantes supondrá un *feedback* negativo para el mantenimiento de respuestas inmunes adaptativas.

Los ITAM situados en la parte intracitoplasmática de los Fc γ R activadores van a suponer el primer paso de una serie de complejas cascadas intracelulares que van a tener como consecuencia la activación de funciones efectoras inmunes destinadas a la eliminación de patógenos. Por su parte, las cascadas iniciadas por ITIM de Fc γ RIIB tienen por objeto la atenuación de dichas vías activadoras, para evitar un estado de activación excesivo y deletéreo de las células del sistema inmune innato o adaptativo.

Cabe destacar que el paso previo al inicio de tanto cascadas activadoras como inhibitoras dependientes Fc γ R sería la translocación de dichos receptores a dominios insolubles con detergente enriquecidos con glicolípidos (también llamados balsas lipídicas), situados en la membrana plasmática y que actuarían como plataformas de señalización moleculares.^{24,27}

1.2.4.1. Vías activadoras

Después de la unión cruzada con IC, las vías de señalización iniciadas por los Fc γ R activadores son similares y empiezan por la fosforilación de los ITAM presentes en las cadenas γ o α (según el tipo de Fc γ R) por parte de quinasas pertenecientes a la familia SRC.^{1,28,29} Esto permite el reclutamiento de quinasas de la familia SYK,³⁰ seguido de la activación de varias dianas clave corriente abajo, como LAT, complejos de adaptador multimolecular y PI3K.^{1,31,32} PI3K genera *PtIns*(3, 4, 5) P_3 en la membrana plasmática que se une a BTK y PLC γ . La activación de PLC γ conduce, por un lado, a un aumento del calcio intracelular (procedente del retículo endoplasmático) y por otro, a la activación de más mediadores de señalización corriente abajo (por ejemplo PKC).³³ La activación celular necesita no sólo de estas vías dependientes del calcio, sino también de la participación de las vías de RAS-RAF-MAPK.¹ El resultado final de todas estas vías es poner en marcha los factores de transcripción que activan la expresión de genes relacionados con mecanismos celulares que dan lugar a las acciones inmunes efectoras.

1.2.4.2. Vías inhibitoras

Como se ha comentado, en las células que coexpresan Fc γ R activadores y Fc γ RIIB, se establece un antagonismo entre señales activadoras e inhibitoras, actuando éstas últimas a través del bloqueo de pasos críticos de las vías activadoras. Mediante este mecanismo ‘de freno’ se consigue una respuesta inmune innata adecuada y proporcionada contra la agresión exógena. La fosforilación de ITIM por Lyn conduce al reclutamiento y activación de la fosfatasa SHIP.³⁴ La función esencial de esta enzima es hidrolizar *PtIns*(3, 4, 5) P_3 evitando así el reclutamiento en la membrana de BTK y PLC γ , con lo que se impiden las señales activadoras por debajo de este nivel. La vía de RAS también es inhibida a través del reclutamiento de Shc y Dok por parte de SHIP.³

En cuanto a los linfocitos B, las vías intracelulares inhibitoras difieren ligeramente de las anteriormente mencionadas. Cuando se produce la unión cruzada de Fc γ RIIB y el receptor de célula B (BCR) se produce una cascada inhibitoria muy similar a la mencionada, con fosforilación de ITIM y posterior inhibición de RAS, BTK y PLC γ , lo que conlleva un aumento del umbral de activación de la célula B de cara a posteriores uniones de IC a BCR, evitando así un estado de hiperactivación de las células B.^{1,35} Ahora bien, cuando se produce unión cruzada por IC de receptores Fc γ RIIB sin participación de BCR, se activan vías independientes de ITIM y SHIP con participación fundamental de la familia de quinasas cABL, BTK y JNK que conducen directamente a la muerte o apoptosis celular.^{35,36}

1.2.5. Factores adicionales moduladores de la unión IgG–Fc γ R

La intensidad de la actividad biológica de IgG mediada por Fc γ R puede verse afectada críticamente por una serie de factores adicionales.

1.2.5.1. Mediadores que regulan la expresión de Fc γ R

El ambiente de citocinas puede modificar el balance entre Fc γ R activadores e inhibidores existentes en la membrana plasmática, determinando así el umbral de activación tisular tras la exposición a IC. Así, la densidad de Fc γ R activadores en la membrana aumenta en presencia de estímulos proinflamatorios (LPS),¹² citocinas tipo Th1 (IFN- γ)³⁷ y el componente del complemento C5a.³⁸ Por el contrario, un predominio de citocinas Th2³⁹ (IL-4, IL-10) o TGF- β ⁴⁰ reducen la expresión de Fc γ R activadores y aumentan el número de Fc γ RIIB disponibles. Estos efectos podrían ser dependientes del tipo celular ya que, por ejemplo, IL-4 regula al alza Fc γ RIIB en células mieloides mientras que disminuye la expresión de este receptor en los linfocitos B.⁴¹ Finalmente, el tratamiento con inmunoglobulinas intravenosas provoca un aumento en la expresión de Fc γ RIIB en las células efectoras del sistema inmune innato, lo cual explicaría su efecto antiinflamatorio en diferentes enfermedades autoinmunes.^{25,42,43}

1.2.5.2. Glicovariantes de IgG que modulan la unión a Fc γ R

Además de las interacciones aminoacídicas existentes entre el dominio CH2 del fragmento Fc y el dominio extracelular de Fc γ R, los datos provenientes de los estudios estructurales apoyan un papel importante del grupo azucarado asociado a N297 de CH2 en la interacción IgG–Fc γ R.¹ La deglicosilación de la IgG disminuye de manera importante su unión con Fc γ R.^{44,45} El grupo azucarado presenta una gran variabilidad en cuanto a sus residuos, pudiendo presentar por ejemplo fucosa, galactosa, ácido siálico y GlcNac. En individuos sanos pueden estar presentes hasta 40 glicovariaciones.⁴⁵ Cabe reseñar que estas glicovariaciones también afectan a la unión de Fc γ R con IgG y por tanto a su actividad in vivo. Por ejemplo, la ausencia de fucosa aumenta la afinidad de todas las subclases de IgG por Fc γ RIIIA.^{1,46} Por su parte, las IgG con ácido siálico presentan una menor afinidad por los Fc γ R.⁴⁷ El patrón de glicosilación de la IgG se encuentra alterado en diferentes enfermedades autoinmunes,²⁵ lo cual apoya la teoría de que estas glicovariaciones podrían modular la capacidad inflamatoria de la IgG a través de los Fc γ R.

En conclusión, pese a la similitud estructural y cercanía genómica de los Fc γ R, las funciones que estos receptores median en una determinada respuesta inmune

pueden variar en función del tipo de Fc γ R y dependerán de 3 factores: a) el grado de afinidad por una determinada subclase de IgG; b) su patrón de distribución en las diferentes células del sistema inmune; y c) el tipo de señal intracelular que desencadene (activadora o inhibidora). Finalmente, la presencia de determinados mediadores inflamatorios, así como de glicovariantes de IgG también van a modular la intensidad de la respuesta mediada por Fc γ R.

1.3. Funciones inmunológicas inducidas por Fc γ R

Los Fc γ R van a mediar diferentes funciones dependientes de IgG en los brazos eferentes y aferentes del sistema inmune que van a depender del tipo celular implicado.

1.3.1. Funciones eferentes

Fc γ R es el principal sistema utilizado por las células del sistema inmune innato para llevar a cabo las funciones dependientes de IgG encaminadas a la eliminación de patógenos. En *neutrófilos*, la fagocitosis de agentes microbianos opsonizados y de IC que presentan IgG, está mediada por señales cooperativas desencadenadas por Fc γ RIIA y Fc γ RIIB.²⁴ Asimismo, la unión de los neutrófilos a IC mediante Fc γ R conlleva la secreción de especies reactivas de oxígeno, proteasas, y mediadores inflamatorios.^{1,48}

Los Fc γ R activadores median diferentes acciones en *macrófagos* tales como fagocitosis, degranulación, ADCC y liberación de especies reactivas de oxígeno, interleucinas (TNF- α , IL-1 β e IL-6), factores de crecimiento y quimiocinas.⁴⁹

Las *células NK* presentan fundamentalmente Fc γ RIIA en superficie, el cual tras entrar en contacto con células opsonizadas con IgG, media ADCC, así como la liberación de interleucinas como IFN- γ , TNF- α e IL-12.⁵⁰

Los Fc γ R de *mastocitos* y *basófilos* tisulares actúan (junto con los receptores de complemento) como sensores frente a IC. Así, la activación de Fc γ R en estas células induce la liberación de sustancias vasoactivas y mediadores quimiotácticos que permitirán el acceso de otras células al foco inflamatorio.¹

1.3.2. Funciones aferentes

1.3.2.1. Funciones de Fc γ R en las células dendríticas

Los Fc γ R están implicados en las respuestas inmunes adaptativas celulares y humorales iniciadas por las células dendríticas en varios niveles. La endocitosis/fagocitosis de antígenos presentes en IC por parte de células dendríticas, así como su posterior presentación a los linfocitos T, depende de los Fc γ R y supone la generación de respuestas inmunes más potentes en comparación con la simple internalización de antígenos libres.^{1,51} Los Fc γ R intervienen en la interiorización de estos IC y permiten la posterior presentación de péptidos mediante moléculas de HLA tanto tipo I como tipo II, lo cual induce respuestas dependientes de linfocitos T CD8 y CD4, respectivamente.⁵¹

Las células dendríticas son unos elementos claves para el mantenimiento de la tolerancia inmunológica. Dependiendo de su estado de activación (reposo o maduración) las células dendríticas pueden inactivar células T que hayan escapado a los mecanismos centrales de tolerancia en el timo (estado de reposo) o, por el contrario, activar y expandir clones de células T potencialmente autoreactivas (estado de maduración). Existen numerosos ligandos y receptores capaces de modular el grado de maduración de las células dendríticas, siendo el sistema IC-Fc γ R de los más relevantes.⁵² Así, el balance entre Fc γ R activadores y Fc γ RIIB permite regular el estado de activación de las células dendríticas dependiente de IC y, por tanto, la magnitud de la interacción entre la célula dendrítica y la célula T, que determinará a su vez la intensidad de la respuesta inmune adaptativa. Fc γ RIIB además, tiene un papel proactivo en la prevención de la maduración espontánea de células dendríticas en condiciones no inflamatorias, evitando así la iniciación de respuestas autoinmunes.^{53,54}

1.3.2.2. Funciones inhibitorias de Fc γ RIIB en las células B

Fc γ RIIB desempeña un papel central en la regulación de las respuestas humorales tanto autoinmunes como fisiológicas. El proceso de maduración de las células B tiene por objetivo final el desarrollo de células plasmáticas que produzcan anticuerpos de alta afinidad minimizando así la secreción de anticuerpos de baja afinidad que puedan presentar reacción cruzada con autoantígenos.⁵⁵ Sin embargo, las células B potencialmente autoreactivas, pueden aparecer espontáneamente durante los procesos de reordenamiento aleatorio de los segmentos de los genes de los anticuerpos (en la médula ósea) hipermutación somática y maduración por afinidad (en el bazo o ganglios linfáticos).³ Fc γ RIIB, debido a su carácter

inhibidor, supone un sistema de control de dichas células B autoreactivas en los estadios finales de la maduración periférica de los linfocitos B, evitando la aparición de células plasmáticas productoras de autoanticuerpos.²⁵ Esta regulación negativa de Fc γ RIIB tendría lugar en la reacción de centro germinal. Las células B autoreactivas, que presenten BCR de baja afinidad, al entrar en contacto con el antígeno presente en IC situados en la superficie de las células dendríticas foliculares, recibirían únicamente una señal inhibitoria mediada por Fc γ R que conduciría a su apoptosis. Sin embargo, los linfocitos B con BCR de alta afinidad, recibirían una señal fruto de la unión cruzada de BCR y Fc γ RIIB, de modo que sólo aquellas células que presenten un umbral de activación adecuado (BCR de alta afinidad para el antígeno) se transformarían en células plasmáticas.^{1,3,25} En definitiva, Fc γ RIIB actúa como un ‘punto de control de calidad’ encargado de eliminar células B autoreactivas en la reacción del centro germinal así como de modelar el repertorio de nuevos anticuerpos.

Por otro lado, Fc γ RIIB también actúa directamente sobre la homeostasis de las células plasmáticas. Estas células no presentan BCR en superficie, por lo que cuando entran en contacto con IC, presentan *crosslinking* de Fc γ RIIB lo cual conduce a su apoptosis.¹ De este modo Fc γ RIIB, media un mecanismo directo de *feedback* negativo para la producción de anticuerpos en exceso.

1.4. Polimorfismos genéticos de Fc γ R

La existencia de polimorfismos genéticos de Fc γ R con relevancia funcional conlleva una variabilidad interindividual con respecto a las funciones inmunes previamente mencionadas. Dichos polimorfismos modifican la intensidad de las acciones dependientes de IgG-Fc γ R lo que puede suponer una protección o susceptibilidad mayor para enfermedades autoinmunes o infecciosas. Además, estos polimorfismos influyen en la interacción entre anticuerpos monoclonales terapéuticos y Fc γ R, condicionando una mayor o menor eficacia clínica de dichos agentes. De entre los polimorfismos descritos para Fc γ R, cabe resaltar por su repercusión funcional e importancia clínica los siguientes:

1.4.1. Fc γ RIIA-H131R

Una mutación puntual de G a A en el exón 4 del gen de Fc γ RIIA supone una sustitución de histidina por arginina en la posición 131 del dominio extracelular. Este polimorfismo de un único nucleótido (SNP) (rs1801274) afecta a la afinidad del receptor por la IgG, de modo que la variante Fc γ RIIA-R131 presenta una

menor afinidad que Fc γ RIIA-H131 (especialmente para IgG2²⁶). Esta menor afinidad, supone a su vez una menor activación celular. Dijkstra et al,⁵⁶ observaron que la vida media de eritrocitos opsonizados con IgG fue mayor en individuos afectados de LES con genotipo Fc γ RIIA-RR131, lo que demuestra *in vivo* la alteración de la capacidad fagocítica asociada a este polimorfismo. Asimismo, fagocitos procedentes de individuos Fc γ RIIA-HH131 presentaron mayor actividad celular al ser enfrentados a bacterias opsonizadas⁵⁷⁻⁵⁹ e IC con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).⁶⁰

1.4.2. Fc γ RIIIA-V158F

Un cambio de T a G en el nucleótido 559 del gen Fc γ RIIIA (rs396991), supone un cambio aminoacídico (valina o fenilalanina) en la posición 158 de la proteína.⁵⁷ Esta sustitución tienen lugar en el dominio extracelular D2 y modifica la afinidad de Fc γ RIIIA para todas las subclases de IgG.²⁶ Esta mayor afinidad tiene una traducción funcional ya que, en ensayos de ADCC, las células NK procedentes de donantes homocigotos VV presentaron mayor actividad que las células procedentes de donantes FF.^{61,62} Recientemente, dos grupos independientes^{63,64} han demostrado en ensayos de ADCC que las células NK que presentan el alelo V producen una mayor lisis de células tumorales inducida por cetuximab (un anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico). Finalmente, células NK VV de donantes produjeron mayor lisis de células CD20+ tras unirse con mayor afinidad a rituximab (anticuerpo monoclonal anti-CD20).⁶⁵

1.4.3. Fc γ RIIB-I187T

Este polimorfismo ha sido relacionado con una abolición de la función de Fc γ RIIB. Un SNP (rs1050501) en el exón 5 del gen de Fc γ RIIB supone una transición de T a C en el nucleótido 775 que tiene como consecuencia la sustitución de una isoleucina por una treonina en la posición 187 en el dominio transmembrana.⁴ Ese cambio aminoacídico impide la inclusión de la variante Fc γ RIIB-T187 en las balsas lipídicas de la membrana plasmática, interrumpiendo así el inicio de las vías de señalización y, por tanto, provocando una ausencia de inhibición en las funciones celulares inducidas por IgG.^{66,67} Así, los monocitos procedentes de individuos homocigotos TT presentaron mayor capacidad fagocítica al ser enfrentados a IC que contenían IgG, mientras que las células B de dichos individuos presentaron mayor activación al exponerse a diferentes estímulos.⁶⁷ Por otra parte, en un estudio *in vitro*, macrófagos procedentes de donantes TT, produjeron mayor fagocitosis de trofozoítos de *Plasmodium falciparum* opsonizados que macrófagos

sin la variante funcional alterada.⁶⁸ Finalmente, células dendríticas con la variante Fc γ RIIB-T187, procedentes de pacientes con artritis reumatoide, exhibieron una menor inhibición celular al entrar en contacto con IC.⁶⁹

1.5. Relevancia clínica de los polimorfismos de Fc γ R

1.5.1. Patología autoinmunitaria

En los últimos diez años, los polimorfismos de Fc γ R han sido relacionados con numerosas enfermedades autoinmunitarias, tanto como factores de susceptibilidad genética, como factores modificadores del fenotipo de dichas patologías. Los polimorfismos y genotipos implicados difieren según la enfermedad, estando en relación con las particularidades de la inmunopatogenia de cada proceso (p. ej., el subtipo de IgG y Fc γ R, o las células inmunes implicadas). En algunas de estas patologías, la evidencia científica acerca del papel de estos polimorfismos es muy robusta, incluso apoyada por modelos experimentales animales, mientras que en otras es aún controvertida en términos clínicos, pese a la existencia de una conexión patogenética.

Un metanálisis que incluyó 12 estudios caso-control sobre Fc γ RIIA-H131R y 2 estudios sobre Fc γ RIIIA-V158F, concluyó que en el LES, la homocigosidad para los alelos de baja afinidad de ambos polimorfismos (Fc γ RIIA-RR131 y Fc γ RIIIA-FF158) es un factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad. El efecto de Fc γ RIIA-H131R es más acusado en población afroamericana y asiática, mientras que en el caso de Fc γ RIIIA-V158F la relación es más importante en población caucásica.⁷⁰ Tres metanálisis posteriores, sugirieron de nuevo una asociación de los alelos Fc γ RIIA-R131 con el LES⁷¹ y Fc γ RIIIA-F158 con la presencia de LES y nefritis lúpica.^{5,72} Más recientemente, Fc γ RIIA-H131R formó parte de un estudio *genome-wide* realizado en 720 mujeres europeas con LES y 2337 controles. Dicho estudio relacionó este polimorfismo con el LES con un valor de $p = 6,78 \cdot 10^{-7}$.⁷³ Patogenéticamente hablando, la presencia de alelos de baja afinidad de Fc γ RIIA y Fc γ RIIIA, podría suponer una menor eliminación de IC y células apoptóticas por parte de fagocitos, lo que favorecería el desarrollo del LES.^{74,75} Con respecto a Fc γ RIIB-I187T, existen numerosos estudios que asocian el alelo que codifica el receptor funcionalmente alterado (Fc γ RIIB-T187) en homocigosis con el LES.⁷⁶ Estos datos han sido recientemente confirmados por dos metanálisis tanto en población del Sudeste Asiático como en individuos caucásicos.^{77,78} La presencia de esta variante genética podría suponer un mayor tendencia a la producción de autoanticuerpos en el LES (debido a la ausencia de señales inhibitoras sobre las células dendríticas, linfocitos B y células plasmáticas autoreactivas), así como una

respuesta inflamatoria amplificada frente a los IC depositados.^{79,80}

En la *artritis reumatoide*, el daño tisular parece estar mediado por autoanticuerpos tipo IgG, que se depositan en la articulación y que dan lugar a respuestas inflamatorias mediadas por Fc γ R presentes en diferentes células efectoras.⁷⁶ Numerosos estudios clínicos han revelado una asociación entre el alelo de alta afinidad Fc γ RIIA-V158 y la *artritis reumatoide*.⁷⁶ Por su parte el polimorfismo Fc γ RIIB-I187T podría actuar como un factor modificador de enfermedad en esta patología. Radstake et al,⁶⁹ demostraron que la presencia del alelo T se asoció con un mayor daño articular radiológico. La alteración de la señal inhibitoria mediada por Fc γ RIIB podría suponer un menor bloqueo de la inflamación articular mediada por IC a través de los Fc γ R activadores. Por otra parte, la presencia de la variante de este polimorfismo podría influir en los mecanismos y células encargadas de mantener la tolerancia inmunológica (p. ej., células dendríticas o linfocitos B).

Los polimorfismos de Fc γ R también se han relacionado con enfermedades autoinmunes hematológicas. Así, 2 estudios han asociado el alelo de alta afinidad Fc γ RIIA-V158 con la *púrpura trombocitopénica idiopática*, donde los macrófagos fagocitan, a través de Fc γ R, plaquetas opsonizadas por autoanticuerpos.^{81,82} En el *síndrome antifosfolipídico*, un metanálisis demostró que el genotipo Fc γ RIIA-HH131 se asocia al desarrollo de esta enfermedad trombótica.⁷ Este resultado tendría base patogénica, ya que en el síndrome antifosfolipídico existe una respuesta autoinmune predominantemente IgG2 y las células efectoras son fundamentalmente plaquetas y células endoteliales que únicamente expresan Fc γ RIIA.

Los polimorfismos de Fc γ R también han sido relacionados con patología autoinmune neurológica. En la *mistenia gravis*, la presencia de autoanticuerpos (fundamentalmente de tipo IgG2) dirigidos contra el receptor de la acetilcolina (AChR) postsináptico induce degradación del receptor y por tanto un fallo en la transmisión neuromuscular que produce debilidad muscular. En un estudio con 107 pacientes afectados de miastenia gravis, van der Pol et al,⁸³ observaron que el genotipo Fc γ RIIA-RR131 era más frecuente entre los casos en comparación con el grupo control. Estos resultados fueron confirmados posteriormente por un estudio que incluyó a 47 pacientes.⁸⁴ Este genotipo podría favorecer una menor degradación de IC que contuviesen anticuerpos anti-AChR, los cuales inducirían una estimulación prolongada de células T autoreactivas dando lugar al fenotipo clínico. Otras patologías neurológicas en las que se han implicado a los polimorfismos de Fc γ R son la *esclerosis múltiple*,⁸⁵ el *síndrome de Guillain-Barré*^{86–88} y la *polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica*.⁴²

Finalmente, un estudio reciente que incluyó 6 570 pacientes caucásicos demostró un componente protector del genotipo Fc γ RIIA-RR131 en la *enfermedad inflamatoria*

intestinal (colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn).⁸⁹ Los resultados de este trabajo referidos a colitis ulcerosa coinciden con los de otros 2 estudios *genome-wide* realizados en población japonesa⁹⁰ y caucásica, respectivamente.⁹¹ Otras patologías digestivas autoinmunes en las que se ha observado una asociación positiva con los polimorfismos de Fc γ R son la *celiaquía* y la *diabetes mellitus* tipo 1.⁹²

1.5.2. Patología infecciosa

La principal defensa frente a *bacterias encapsuladas* es la opsonización mediante IgG2 de dichos microorganismos y posterior fagocitosis vía Fc γ R. Teniendo en cuenta que el Fc γ R con mayor afinidad por IgG2 es Fc γ RIIA, no es de extrañar que varios estudios clínicos hayan relacionado al polimorfismo Fc γ RIIA-H131R con la susceptibilidad a infecciones por organismos encapsulados como *S. pneumoniae* o *N. meningitidis*. Así, los individuos con genotipo homocigoto de baja afinidad RR parecen presentar un mayor riesgo de infección neumocócica invasiva.⁹³⁻⁹⁵ Con respecto a *N. Meningitidis*, estudios en niños⁹⁶ y en población geriátrica,^{8,97,98} encontraron una asociación del genotipo RR con la enfermedad meningocócica grave.

En la *periodontitis*, se produce una respuesta inflamatoria predominantemente IgG2 frente a bacterias gram negativas que infectan las encías. El papel de los polimorfismos de Fc γ R en la periodontitis ha sido investigado en numerosos estudios caso-control en poblaciones asiáticas, afroamericanas y caucásicas con resultados dispares según la etnia a estudio, lo cual puede ser debido a diferencias en el tipo de bacterias presentes en la flora oral.⁷⁶ Más recientemente, un metanálisis que incluyó 17 estudios con 1685 casos, detectó que el alelo R de Fc γ R-H131R se asoció débilmente a enfermedad periodontal en pacientes asiáticos con una OR = 1.579, IC 95 % = [1.025-2.432].⁹

La respuesta inmune adaptativa frente a la *malaria* consiste en la producción de anticuerpos fundamentalmente de tipo IgG1 e IgG3 que opsonizan los merozoítos y los eritrocitos infectados para su posterior fagocitosis por parte de macrófagos y neutrófilos.⁷⁶ A pesar de existir una abundante cantidad de estudios sobre papel de los polimorfismos de Fc γ R en la malaria, sus resultados son en cierta medida contradictorios, fruto probablemente de la gran variabilidad étnica de las poblaciones a estudio y de las diferentes formas clínicas de malaria analizadas.⁷⁶ No obstante, algunos estudios con cohortes más extensas arrojan resultados plausibles. Así, en un estudio que incluyó 2504 niños con malaria severa⁹⁹ (incluyendo pacientes con anemia severa, malaria cerebral y otras complicaciones) y después de estratificar por formas clínicas, los autores encontraron una asociación positiva

de Fc γ RIIA-RR131 con la presencia de anemia severa. Por otra parte, Willcocks et al,¹⁰⁰ demostraron un papel protector frente a la malaria grave del genotipo Fc γ RIIB-TT187 en un estudio que incluyó 684 niños con malaria procedentes de Kenia. Estos resultados podrían explicarse por el desarrollo de una respuesta inmune más potente frente al parásito a través de una mayor capacidad fagocítica, una mayor liberación de interleucinas como TNF- α , y una mayor producción de anticuerpos anti-*Plasmodium*. Todas estas funciones amplificadas serían el resultado de una ausencia de inhibición funcional debido a la presencia de la variante alterada de Fc γ RIIB.⁸⁰

En la infección VIH, el huésped responde frente a la infección mediante la producción de IgG, lo cual impediría la unión del virus con el CD4 de los linfocitos T y la posterior infección y lisis de estas células. Estos IC serían entonces internalizados por otras células que expresan Fc γ R. Estudios clínicos apuntan hacia un papel de los polimorfismos Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIA-V158F en la infección VIH. Pese a existir una relación clínica, los resultados son en ocasiones discrepantes y las hipótesis encaminadas a explicar dichos resultados carecen de demostración experimental definitiva en muchos casos. En un estudio de 2010 con 172 pacientes VIH, Poonia et al,¹⁰¹ observaron que el genotipo Fc γ RIIA-VV158 se asoció a progresión de la infección. Asimismo, los pacientes con genotipo VV presentaron más riesgo de sarcoma de Kaposi y, por tanto, de progresión a SIDA en 2 estudios.^{60,102} Es posible que una mayor afinidad de Fc γ R permita una mayor penetración del virus opsonizado en células inmunes (por ejemplo monocitos) en las que pueda replicarse.⁷⁶ Los resultados de Fc γ RIIA-H131R en VIH son más dispares. En un estudio, el genotipo RR se relacionó con una mayor caída del recuento de linfocitos CD4,⁶⁰ mientras que en otro, la transmisión vertical del VIH fue favorecida por el genotipo HH.¹⁰³ Pese a estas discrepancias, la asociación clínica de estos polimorfismos abre vías de investigación básica encaminadas a explicar como los Fc γ R afectan al balance entre el control de la infección VIH y la activación inmune del huésped. Otras infecciones víricas en las que se ha encontrado una asociación con polimorfismos de Fc γ R son el *dengue*,¹⁰⁴ y la *poliomielitis*.¹⁰⁵

1.5.3. Fc γ R como marcadores farmacogenéticos

La principal aplicación asistencial del estudio de los polimorfismos de Fc γ R es su papel predictor de la respuesta clínica de anticuerpos monoclonales terapéuticos. Estos agentes han revolucionado el tratamiento de numerosas patologías autoinmunes y oncológicas y en la actualidad existen cientos de estos tratamientos en fase de experimentación y desarrollo clínico. Estos agentes biológicos pueden diferir en su estructura (anticuerpos quiméricos, humanizados

o proteínas de fusión) pero, en todos los casos, contienen el fragmento Fc, por lo que de un modo u otro van a interactuar con células inmunes que expresen Fc γ R en su membrana plasmática.

Los mecanismos de acción de estos fármacos son variados siendo los más frecuentes la lisis de células diana (p. ej., células tumorales) a través de ADCC (previa señalización por parte del anticuerpo monoclonal) y bloqueo de citocinas relevantes en la patogenia de enfermedades autoinmunitarias (p. ej., TNF- α).⁷⁶ Estudios en modelos murinos han demostrado que el efecto citotóxico antitumoral de estas terapias reside fundamentalmente en el sistema Fc γ R.⁷⁶

La primera evidencia de la influencia de los polimorfismos de Fc γ R en el tratamiento con agentes monoclonales fue reportada en 2002, cuando Cartron et al,¹⁰⁶ demostraron que pacientes afectados de linfoma folicular poseedores del alotipo Fc γ RIIIA-V158 presentaron una mejor respuesta a rituximab probablemente debido a una mayor unión a rituximab de células NK y, en consecuencia, una ADCC aumentada de linfocitos neoplásicos CD20+.¹⁰⁷ Estos resultados han sido mayoritariamente replicados en estudios posteriores en pacientes tratados con rituximab por linfoma folicular^{10,108} y otros procesos linfoproliferativos.^{109,110} Weng et al,¹⁰ demostraron además un papel del polimorfismo Fc γ RIIA-H131R, con el genotipo HH presentando mejor respuesta a linfoma folicular y ausencia de progresión. Sin embargo el papel de Fc γ RIIA-H131R podría no ser relevante, ya que recientemente se ha demostrado que este polimorfismo presentaría *linkage disequilibrium* con Fc γ RIIIA-V158F en población caucásica.¹¹¹

Siguiendo con patología tumoral, los polimorfismos de Fc γ R también han sido relacionados con la respuesta a otros agentes monoclonales encaminados a producir la eliminación de las células neoplásicas. Bibeau et al,¹¹² observaron que los pacientes tratados cetuximab por cáncer colorrectal metastático, presentaron una mayor tiempo libre de progresión si presentaban genotipos de alta afinidad para Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIIA-V158F. Este estudio confirmó los resultados previos de un estudio piloto realizado en 39 pacientes.¹¹³ Sin embargo, un estudio de 2010 con 104 pacientes, no halló asociación entre los polimorfismos de Fc γ R y la respuesta clínica a cetuximab en este tipo de cáncer.¹¹⁴ Finalmente, el trastuzumab (anti-HER2/neu) también podría presentar una respuesta predecible en función de los polimorfismos de Fc γ R en el tratamiento del cáncer de mama metastático.¹¹⁵

Los anticuerpos monoclonales también han sido diseñados para el tratamiento de la patología autoinmunitaria. Actuarían, vía ADCC mediada por Fc γ R, eliminando células inmunes hiperactivadas (p. ej., rituximab eliminando células B), o bloqueando selectivamente moléculas solubles implicadas en la patogenia de dichas enfermedades (p. ej., infliximab, un anti-TNF- α). Estos últimos agentes también son capaces de eliminar células que expresen en su membrana TNF- α , lo

cual también podría explicar su efecto terapéutico. Finalmente, los anticuerpos monoclonales, al formar IC con las moléculas que neutralizan podrían seguir una vía de eliminación mediada por los Fc γ R de fagocitos. Por todo esto, los polimorfismos de Fc γ R son considerados genes candidatos desde un punto de vista farmacogenético en el tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias con agentes biológicos.

La primera evidencia de asociación de los polimorfismos de Fc γ R y la eficacia clínica de los agentes anti-TNF- α se remonta a 2004, año en el que Louis et al,¹¹⁶ observaron una mejor respuesta en pacientes con enfermedad de Crohn poseedores del genotipo Fc γ RIIIA-VV158 tratados con infliximab. Probablemente, la mejor respuesta clínica de este genotipo en la enfermedad de Crohn esté relacionada con una mayor eliminación vía ADCC de células mononucleares activadas que expresan TNF- α en la membrana plasmática. Un estudio posterior en 344 pacientes con Crohn, detectó una mayor disminución de los niveles de proteína C reactiva entre los individuos VV.¹¹⁷ Finalmente, un estudio reciente que incluyó 41 pacientes no encontró relación entre la eficacia de infliximab en el Crohn y Fc γ RIIA-H131R o Fc γ RIIIA-V158F, pero sí un mayor porcentaje de respondedores entre pacientes portadores de un polimorfismo en Fc γ RIIIB.¹¹⁸ Con respecto a patologías reumatológicas, diversos estudios también han relacionado a los polimorfismos de Fc γ R con el grado de respuesta a terapia anti-TNF- α .^{11,119,120}

Enfermedades cutáneas objeto de estudio de esta tesis y su relación con $Fc\gamma R$

Las enfermedades cutáneas inmunomediadas son un grupo amplio de entidades en las que la desregulación del sistema inmune ocupa un papel central en su patogenia.

El grupo de las dermatosis inmunomediadas incluye a: a) los procesos autoinmunes organoespecíficos cutáneos (p. ej., pénfigo vulgar); b) enfermedades cutáneas de base alérgica (p. ej., dermatitis atópica); y c) aquellas enfermedades autoinmunes sistémicas con afectación cutánea, como el LES.

Dentro de las patologías autoinmunitarias organoespecíficas cutáneas, probablemente las mejor definidas desde el punto de vista inmunológico sean las enfermedades ampollas autoinmunes. Estas enfermedades son causadas por la acción de autoanticuerpos (generalmente tipo IgG) frente a antígenos de proteínas implicadas en la cohesión del tejido cutáneo. Los mecanismos patogénicos desencadenados por estos anticuerpos son variados, pero en muchas ocasiones existe una participación de los $Fc\gamma R$. El caso más representativo sería el del pénfigoide ampolloso (PA) en donde estudios *in vitro* y en modelos animales atribuyen un papel central al $Fc\gamma R$ en los mecanismos inflamatorios patogénicos desencadenados por los autoanticuerpos.

La psoriasis es una enfermedad inmune mediada por células en la que, en principio, no habría participación de autoanticuerpos tipo IgG ni de Fc γ R en su patogenia. No obstante, existe un interés creciente en la farmacogenética del tratamiento con agentes terapéuticos basados en la IgG de esta enfermedad. Como se ha mencionado previamente, los Fc γ R tienen un papel potencial en los mecanismos farmacodinámicos y farmacocinéticos de los agentes biológicos basados en el fragmento Fc, y sus polimorfismos han sido relacionados con la respuesta a dichos agentes en numerosas patologías autoinmunitarias.

Por tanto, y dado el interés por parte del doctorando y de los directores de esta tesis doctoral por la inmunogenética de los Fc γ R, así como por la relevancia clínica de sus polimorfismos, se han escogido para estudio (dentro del grupo de las enfermedades cutáneas inmunomediadas) 2 escenarios en los que los polimorfismos de Fc γ R pudieran tener a priori una implicación clínica. Por un lado, se ha estudiado el papel de los polimorfismos de Fc γ R en la patogenia del PA y, por otro, se ha analizado la influencia de dichos polimorfismos en la respuesta clínica a agentes biológicos en la psoriasis.

Penfigoide ampoloso

3.1. Introducción

El PA es una enfermedad ampollosa autoinmunitaria caracterizada por el depósito de autoanticuerpos en la membrana basal situada en la unión dermoepidérmica. Como consecuencia de la unión de estos anticuerpos a moléculas de anclaje de los queratinocitos (BPAG180, también llamado BPAG2 y BP230, también llamado BPAG1) se produce una reacción inflamatoria que produce la separación de dermis y epidermis, lo que a nivel clínico se manifiesta con ampollas tensas en la piel.

Desde un punto de vista histórico, lo que actualmente conocemos por PA estaba incluido junto con otras entidades ampollosas de fenotipo similar (p. ej., dermatitis herpetiforme, dermatosis IgA linear) bajo el nombre de ‘penfigoides’, en contraposición con el pénfigo. A principios del siglo XX, todas estas enfermedades eran consideradas formas clínicas diferentes del mismo proceso nosológico, que podía ser desencadenado por estímulos tan variopintos como desarreglos menstruales, retención de sodio, vacunaciones o tóxicos como el arsénico. La frecuente eosinofilia periférica era atribuida a la existencia de una ‘toxicidad medular’ y el suero de las ampollas supuestamente presentaba ‘acciones líticas’ sobre la epidermis.¹²¹

El reconocimiento del PA como una entidad separada es debido al trabajo de Walter Lever quien, en 1953, describió con detalle las características clínicas e histológicas diferenciales de la enfermedad.¹²² Las hipótesis de Lever fueron confirmadas en los años 60 gracias a los trabajos de Jordon et al,¹²³ quienes mediante el uso de la inmunofluorescencia directa (IFD) pudieron detectar el depósito de anticuerpos en la membrana basal característico del PA, incluyendo por tanto a esta enfermedad dentro del grupo de enfermedades autoinmunitarias de la piel.

El diagnóstico de PA se realiza en la mayoría de los casos por la combinación de hallazgos clínicos, histológicos y de la inmunofluorescencia. La histología generalmente muestra una ampolla subepidérmica con presencia de un infiltrado superficial de eosinófilos. La IFD muestra de forma constante depósitos de complemento a menudo acompañados de IgG, ambos en un patrón lineal siguiendo la membrana basal de la piel perilesional. Además, la mayoría de pacientes presentan positividad en la inmunofluorescencia indirecta (IFI) al enfrentar su suero a una muestra de piel sana. Cuando se utiliza piel humana separada por la membrana basal con cloruro sódico (a nivel de la lámina lúcida), la IFI muestra positividad en el lado epidérmico de la separación.¹²⁴

El tratamiento del PA incluye en la mayoría de los casos el uso de glucocorticoides y, en ocasiones, de inmunosupresores.¹²⁵ Debido a las comorbilidades que suelen presentar los pacientes con PA, que suelen ser de edad avanzada, estas terapias se asocian a efectos secundarios que incrementan la morbilidad y probablemente la mortalidad de esta enfermedad. Los continuos avances en el conocimiento de los mecanismos patogénéticos que subyacen a la formación de las lesiones cutáneas del PA, proporcionarán a buen seguro las bases de nuevas terapias más eficaces y con un perfil de seguridad más adecuado para estos pacientes.

3.2. Epidemiología

El PA es la enfermedad ampollosa autoinmune más frecuente, con una incidencia de 4.3 casos por 100 000 habitantes (IC 95 % = [4.0–4.6]) según un estudio reciente realizado en Reino Unido.¹²⁶ Se han descrito variaciones geográficas con cifras que van desde 2.6 casos por millón en Kuwait,¹²⁷ hasta 7 casos por millón en algunas regiones de Francia,¹²⁸ o 14 casos por millón en el norte de Escocia.¹²⁹ La incidencia del PA aumenta drásticamente entre la población geriátrica, con una edad media de debut de 80 años (rango=23–102 años).¹³⁰ Aunque algunos estudios han sugerido una mayor incidencia en mujeres, parece que el pico máximo de incidencia se situaría entre el grupo de varones de más de 85 años con una incidencia de 472 casos por millón.¹²⁹ La incidencia del PA ha ido aumentando

en los últimos años, afectando a todos los segmentos de edad. La causa de este aumento, por tanto, no sería únicamente el envejecimiento de la población, sino algún factor causal, de probable origen ambiental aún por determinar.¹²⁶

Los factores de riesgo para el desarrollo de PA en la edad geriátrica están poco definidos. Sin embargo, se ha observado una mayor frecuencia de enfermedades neurológicas en pacientes con PA, incluyendo accidentes cerebrovasculares, enfermedad de Parkinson, demencia y trastorno bipolar.¹³¹ Un estudio encontró que un tercio de los pacientes con PA presentaba enfermedades neurológicas discapacitantes.¹³² Además, existen numerosos reportes de casos de pacientes con lesiones de PA localizadas en el hemicuerpo afecto por hemiplejía, lo que sugiere que la inmovilización, la debilidad muscular o la dependencia podrían tener algún papel en el desarrollo de PA. Un estudio caso-control reciente de carácter poblacional mostró un aumento del riesgo de presentar PA en pacientes previamente afectados de enfermedades neurológicas. La probabilidad de desarrollar PA (en comparación con los controles) fue de 11 veces más para la esclerosis múltiple, 3 veces más para la enfermedad de Parkinson y 2 veces más para el accidente cerebrovascular y la epilepsia.¹³³ Los antígenos relevantes del PA también se encuentran representados en el sistema nervioso central (p. ej., BPAG1 neuronal). Es posible que estas enfermedades neurológicas dañen estructuras nerviosas que en condiciones normales ocultan a estos antígenos del sistema inmune. De este modo, se podrían exponer dichos antígenos generándose autoanticuerpos no sólo dirigidos contra tejidos nerviosos, sino también contra las proteínas homólogas presentes en la membrana basal dermoepidérmica.

Por otra parte, se ha descrito la asociación del PA con determinados fármacos como la espirinolactona (OR = 1.9), agentes dopaminérgicos (OR = 2.28) y antipsicóticos como la clorpromazina (OR = 3.29). Por el contrario, el uso crónico de analgésicos parece tener un papel protector (OR = 0.49).¹³¹

El PA es considerado una enfermedad grave, no sólo por su importante morbilidad, sino también por su elevada mortalidad. La mortalidad en el primer año tras el diagnóstico oscila entre un 25 % y un 40 % dependiendo de las series. Esta mortalidad es significativamente mayor en comparación con controles de la misma edad.¹³⁴ En un estudio retrospectivo realizado en Francia, Roujeau et al,¹³⁵ detectaron que la edad avanzada, un estado general deteriorado y el género femenino eran predictores independientes de muerte. Otros 2 estudios, también retrospectivos, identificaron que la edad avanzada (>80 años), las dosis elevadas de corticoides en el momento del alta, una velocidad de sedimentación globular elevada, y niveles bajos de albúmina sérica serían factores independientes asociados a muerte.^{136,137} Un estudio prospectivo más reciente realizado en Europa mostró un riesgo relativo de muerte de 3.1 en los pacientes más ancianos. La supervivencia a un año fue del 61 % para pacientes mayores de 83 años y del 85 % para pacientes

menores de 83 años. Una serie estadounidense, sin embargo, reportó una tasa de mortalidad al año mucho más reducida (11 %).¹³⁸ Por otro lado, un estudio de cohortes retrospectivo realizado en EE.UU. no observó diferencias en la mortalidad esperada a 1, 2 y 5 años en comparación con una cohorte control ajustada por edad.¹³⁹ A día de hoy, estas incongruencias geográficas con respecto a la mortalidad en el PA siguen sin tener una explicación convincente.

3.3. Clínica

El PA cursa en la mayoría de los casos con la presencia de ampollas tensas evidentes en la piel. Sin embargo, una minoría de casos no desarrollan dichas ampollas y cursan como cuadros de prurito crónico del anciano con lesiones inespecíficas, lo cual supone un auténtico reto diagnóstico para el dermatólogo.

3.3.1. Formas ampollosas

La mayoría de casos de PA debutan con la aparición de ampollas grandes y tensas sobre placas eritematosas urticariales o sobre piel sana. Las ampollas pueden presentar un contenido seroso o hemorrágico. La mayoría de pacientes presentan prurito importante. Existe una predilección de estas ampollas por la cara interna de los muslos, las ingles, las axilas, el abdomen, el cuello y las flexuras de brazos y piernas. La causa de este patrón de afectación parece ser una mayor densidad de antígenos diana en estas localizaciones, a diferencia de áreas generalmente respetadas como la cara y el cuero cabelludo.¹⁴⁰ Las formas vesiculares y dishidrosiformes pueden ser consideradas como variantes de la forma ampollosa clásica.¹⁴¹ El penfigoide de la infancia es raro (alrededor de 50 casos publicados) y destaca por su elevada afectación mucosa (70 % de los casos).¹⁴² De hecho, las niñas afectas de PA pueden presentar una forma clínica localizada en la región vulvar que puede ser confundida con una infección herpética o con otro proceso no autoinmune.¹⁴³

En las formas clásicas de PA, la afectación de las mucosas no es infrecuente alcanzando hasta un 24 % de los casos. Las lesiones suelen ser usualmente erosiones poco sintomáticas y transitorias, y son más frecuentes en aquellos pacientes con afectación cutánea extensa. La mucosa oral es la localización más habitual.¹⁴⁴

Finalmente, el liquen plano penfigoide consiste en el desarrollo de lesiones típicas de liquen plano seguidas por la aparición de ampollas tensas sobre dichas lesiones pero también sobre la piel sana. Los pacientes presentan anticuerpos dirigidos

contra BP180, pero contra el epítipo MCW4, que no es diana de la forma clásica de PA.¹⁴⁵

3.3.2. Formas no ampollosas

En algunas ocasiones, los pacientes afectados de PA presentan lesiones eritematosas, ecematosas o urticariales durante un tiempo variable hasta que desarrollan las ampollas clásicas del PA (lesiones pre-ampollosas). En otros casos, los pacientes no desarrollan nunca la erupción ampollosa y presentan de forma crónica prurito y lesiones inespecíficas de rascado.¹⁴⁶ Como consecuencia de este rascado persistente, algunos de estos pacientes pueden llegar a desarrollar lesiones exofíticas similares a las del prurigo nodular, de ahí el diagnóstico de ‘penfigoide nodular’.¹⁴⁷ Otra variante no ampollosa es el ‘penfigoide vegetante’, en el que se observan grandes áreas costrosas exuberantes en zonas intertriginosas.¹⁴⁸ El diagnóstico en todos estos casos de ausencia de ampollas requiere de un alto índice de sospecha y se lleva a cabo por la positividad de la IFD.

3.4. Histología

El estudio histológico de las muestras procedentes de pacientes con formas ampollosas o pre-ampollosas de PA es el primer paso hacia la comprensión de los fenómenos patogenéticos que tienen lugar en esta enfermedad.

En la fase precoz urticarial, la microscopía óptica revela la presencia de un infiltrado perivascular e intersticial de linfocitos. Los eosinófilos tienden a situarse en la dermis reticular superficial, incluso formando pequeños focos en las papilas y alineándose a lo largo de la membrana basal. En lesiones algo más maduras de PA, el infiltrado linfocitario es más marcado y existen numerosos eosinófilos, pudiéndose observar fenómenos de espongiosis eosinofílica en los laterales de ampollas en formación. En las secciones que presentan ampollas totalmente desarrolladas, se observa edema dérmico, y la presencia de un infiltrado más variado en el que se pueden observar además de eosinófilos y linfocitos, neutrófilos, monocitos/macrófagos y mastocitos.¹⁴⁹

3.5. Patogénesis

Desde el descubrimiento del origen autoinmunitario del PA, se han venido realizando numerosos esfuerzos para caracterizar los anticuerpos implicados en esta enfermedad, así como los antígenos y epítomos contra los que van dirigidos en la membrana basal. Por otro lado, el papel de las células observadas a nivel histológico, así como el modo en que responden a la presencia de los autoanticuerpos y mediadores inflamatorios, ha sido estudiado extensamente en los últimos 20 años mediante modelos animales cada vez más sofisticados en los que se ha intentado reproducir las diferentes etapas patogenéticas del PA.

3.5.1. Especificidades antigénicas y autoanticuerpos

Los antígenos relevantes en el PA se encuentran en la placa hemidesmosómica de los queratinocitos basales. El BP230 es un miembro intracelular de la familia de las plaquitas que conecta los filamentos de queratina del citoesqueleto con la proteína transmembrana BP180, la cual desciende a través de la lámina lúcida de la membrana basal hasta llegar a la lámina densa, donde BP180 interacciona con la laminina 332 (antes llamada laminina V) y el colágeno IV.¹⁵⁰ (**Figura 3.1**). Los pacientes con PA, por motivos aún no dilucidados, generan una respuesta autoinmune contra BP180 y BP230.¹⁵¹ Ambas proteínas han podido ser clonadas, lo que demuestra que estas moléculas son los productos de 2 genes no relacionados.^{151,152} Estudios de mapeo cromosómico han localizado el gen de BP230 en el brazo corto del cromosoma 6 (6p11–12)¹⁵³ mientras que BP180 se encuentra en el brazo largo del cromosoma 10 (10q24.3).¹⁵⁴

BP230 fue el primer antígeno identificado en el PA, sin embargo, hoy en día, se considera que esta proteína se convierte en diana de autoanticuerpos secundariamente por un fenómeno de *epitope spreading* debido a la inflamación generada por autoanticuerpos dirigidos contra BP180.¹⁵⁵ Así, la respuesta autoinmune primaria sería la iniciada por los anticuerpos contra la proteína con componente extracelular BP180. Los anticuerpos contra BP230 son detectados en un 60–80% de los casos, pero, probablemente debido a su escaso papel patogenético, sus niveles séricos no se correlacionan con la actividad de la enfermedad.¹⁵⁶ La mayoría de pacientes presentan anticuerpos tipo IgG contra BP180. Esta proteína homotrimérica presenta un dominio extracelular que consiste en 15 dominios colagenosos separados por 16 dominios no colagenosos. La región amino-terminal de BP180 se localiza en la placa hemidesmosómica intracelular, mientras que el extremo carboxilo-terminal se proyecta hacia los componentes extracelulares de la membrana basal.¹⁵² La situación de estos 2 autoantígenos

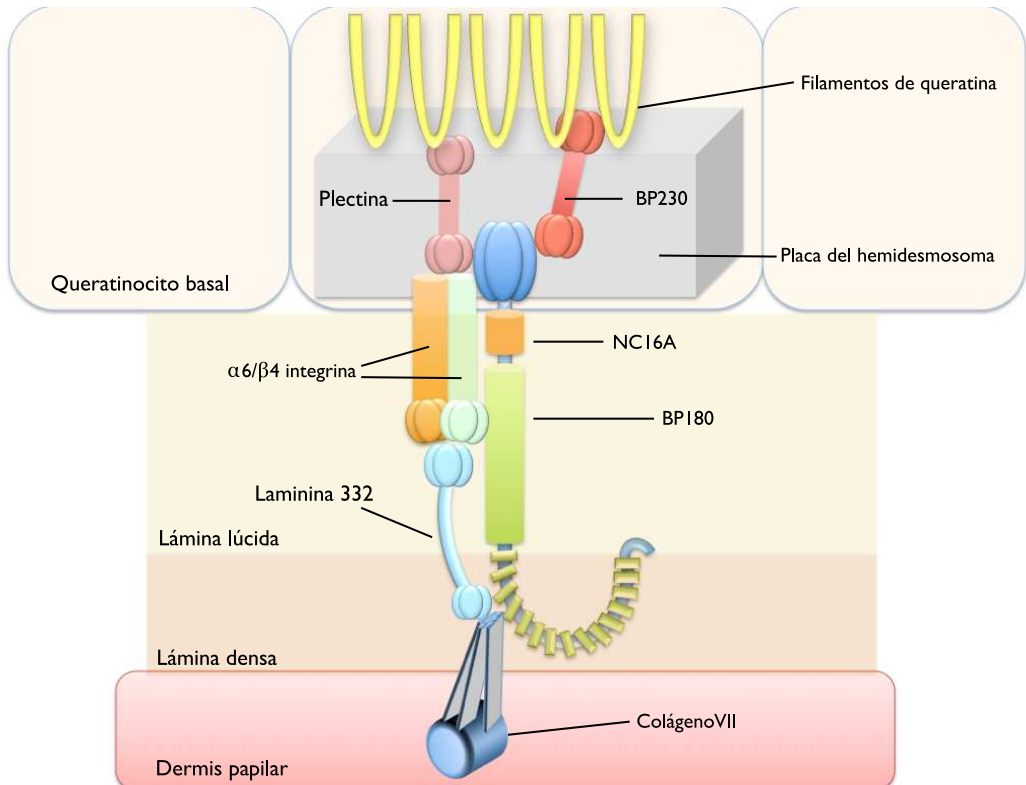


Figura 3.1: Esquema representativo de la membrana basal dermoepidérmica que muestra las proteínas más relevantes que forman parte de su estructura.

en la membrana basal, explica que al realizar una IFI con suero de PA en piel separada por la lámina lúcida con cloruro sódico, la inmunotinción se localice en el lado epidérmico de la separación.

Alrededor del 90% de los pacientes con PA presentan anticuerpos tipo IgG contra el dominio no colagenoso 16 (NC16A) de BP180, que está situado por debajo del dominio transmembrana de la membrana plasmática del queratinocito basal.^{156,157} Dentro de este dominio, los autoanticuerpos se unen a 4 epítomos bien definidos de 45 aminoácidos (MCW0A a MCW3).¹⁵⁸ A diferencia de los anticuerpos anti-BP230, los niveles séricos de anticuerpos IgG anti-BP180 NC16A, medidos por ELISA, se correlacionan con el grado de actividad de la enfermedad, lo que refuerza su papel patogénico.^{156,159}

Además de la respuesta tipo IgG, los pacientes afectados de PA también presentan muy frecuentemente autoanticuerpos de tipo IgE contra BP180 NC16A,^{160,161}

así como contra BP230 y la porción intracelular de BP180.¹⁶² Sin embargo, el depósito de IgE en la membrana basal es un hallazgo raro en la IFD. No obstante, se piensa que estos anticuerpos anti-BP180 de tipo IgE se encontrarían situados en la superficie de basófilos y probablemente también mastocitos, y que favorecerían la degranulación de estas células en las fases iniciales del PA en presencia de BP180 soluble.¹⁶³ Por tanto, en el PA se produciría una respuesta autoinmune dual IgG e IgE fundamentalmente contra el dominio NC16A (**Figura 3.2**). Las observaciones en modelos murinos indican que cada uno de estos anticuerpos participaría de un modo secuencial en fases evolutivas de la enfermedad. Así, la inyección de anticuerpos IgE procedentes de pacientes con PA en injertos de piel humana sobre ratones sin timo, pudo replicar las lesiones urticariales pre-ampollosas del PA. A nivel histológico se observó además degranulación mastocitaria e infiltración por parte de eosinófilos.¹⁶⁴ Sin embargo, la mayoría de modelos murinos basados en IgG anti-BP180 NC16A, no presentan lesiones urticariformes ni infiltración por eosinófilos, sino que desarrollan ampollas y presentan activación de complemento e infiltración neutrofílica.

La patogenicidad de los anticuerpos IgG anti-BP180 NC16A ha sido demostrada, de un modo cada vez más elegante, en numerosos modelos animales. Inicialmente y debido a diferencias estructurales entre el NC16A humano y murino (NC14A), la transferencia pasiva de IgG procedente directamente de pacientes con PA, no reproducía la enfermedad. En 1993, Liu et al,¹⁶⁵ salvaron este obstáculo mediante un modelo consistente en la generación de anticuerpos policlonales de conejo anti-NC14 murino que eran transferidos pasivamente a ratones, los cuales desarrollaban las características clínicas e inmunopatológicas del PA. Desde entonces, numerosos estudios basados en este modelo pudieron clarificar el papel de los diferentes factores inmunológicos que participan en la patogenia del PA.¹⁴⁹ Recientemente, todos los hallazgos inmunopatogénicos observados en este modelo animal pudieron ser recapitulados en un modelo murino ‘humanizado’ en el cual se pudo insertar el gen humano del BP180.¹⁶⁶ En este sofisticado modelo, la transferencia pasiva de anticuerpos anti-NC16A BP180 procedentes de pacientes con PA sí que pudo reproducir la enfermedad humana.

3.5.2. Respuesta inflamatoria dependiente de anticuerpos

En los modelos animales de PA, el depósito de los anticuerpos IgG anti-BP180 en la membrana basal activa una cascada inflamatoria en la que participaría inicialmente el complemento, así como una serie de células inmunitarias (fundamentalmente mastocitos y neutrófilos) y moléculas proteolíticas que ejercerían diferentes papeles en la secuencia patogénica del PA (**Figura 3.2**).

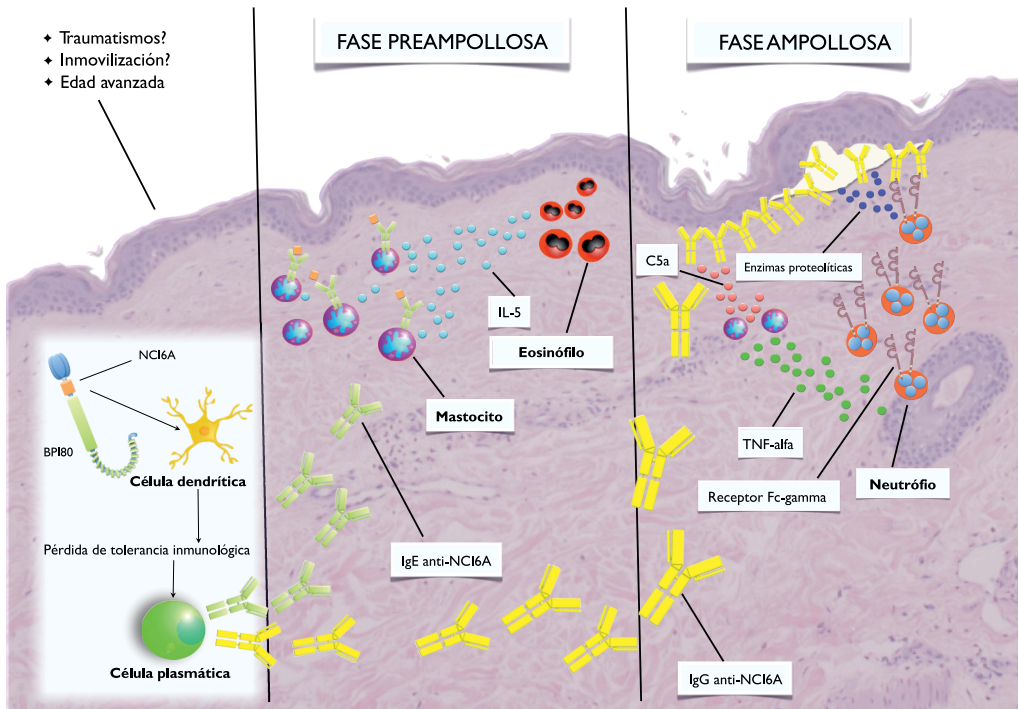


Figura 3.2: Modelo de patogénesis del PA.

De izquierda a derecha: debido a un mecanismo aún por dilucidar, los pacientes con PA pierden la tolerancia inmunológica fundamentalmente contra la porción extracelular de la proteína BP180 del hemidesmosoma. Inicialmente se produce una respuesta de tipo IgE. Los autoanticuerpos IgE anti-BP180 NC16A se unen a la superficie de basófilos y mastocitos mediante el receptor $Fc\epsilon R$. La exposición de estas células al antígeno BP180 supone su degranulación con producción de mediadores (interleucina-5) que inducen la infiltración eosinofílica. Los eosinófilos contribuyen al fenotipo urticarial del PA mediante la producción de mediadores inflamatorios, aunque también es posible que participen en la producción de ampollas liberando enzimas proteolíticas. En una segunda fase, se produce la génesis de anticuerpos anti-BP180 NC16 de tipo IgG. Estos anticuerpos se unen a su antígeno en la membrana basal y activan la vía clásica del complemento con la formación de C5a que, a su vez, induce la degranulación de los mastocitos. Los mastocitos producen mediadores quimiotácticos como el TNF- α que favorece la infiltración tisular de los neutrófilos. Los neutrófilos se activan tras la unión del $Fc\gamma R$ con el Fc de la IgG anti-BP180 NC16A y producen enzimas proteolíticas que degradan la membrana basal produciendo el fenotipo ampolloso.

3.5.2.1. Complemento

La presencia de depósitos de complemento en la IFD del PA es un hallazgo prácticamente constante. Los modelos animales de PA previamente mencionados son absolutamente dependientes de la presencia de complemento. Los ratones deficientes de C5 y ratones con la actividad del complemento suprimida mediante veneno de cobra, son resistentes a la enfermedad experimental, mientras que la reconstitución con C5a vuelve a inducir la susceptibilidad al PA.¹⁶⁷ Los fragmentos F(ab')₂ de los anticuerpos anti-BP180 no produjeron la enfermedad en ratones no deficientes de C5. Finalmente, los ratones deficientes de C4 (específico de la vías del complementos clásica y de la lectina) son resistentes al PA experimental, mientras que los ratones deficientes de factor B (vía alternativa del complemento) presentaron la enfermedad. Por otro lado, ratones *wild type* que fueron deplecionados de C1q (vía clásica) no presentaron PA al ser inyectados con anticuerpos patogenéticos.¹⁶⁸ Todos estos hallazgos confirman que la vía clásica del complemento (dependiente del fragmento Fc de la IgG) juega un papel fundamental en el desarrollo de las lesiones del PA a través de la generación de C5a que posteriormente activa a los mastocitos.

3.5.2.2. Mastocitos

De un modo similar a la enfermedad humana, la inyección de anticuerpos patogenéticos tipo IgG produce degranulación extensa de mastocitos en los modelos experimentales. Los ratones deficientes en mastocitos no presentan PA, pero la reconstitución mastocitaria, reintroduce la susceptibilidad a la enfermedad.¹⁶⁹ La degranulación mastocitaria es inducida por la activación previa del complemento, ya que ratones que no presentan el receptor de C5a (C5aR -/-) no experimentaron degranulación mastocitaria al ser expuestos a los anticuerpos patogenéticos anti-BP180.¹⁷⁰ El fenómeno de degranulación mastocitaria es más precoz que la infiltración neutrofílica en los modelos experimentales de PA, ya que la ausencia de mastocitos o la inhibición de su degranulación previene la infiltración neutrofílica y la formación de ampollas. Sin embargo, ratones deficientes en mastocitos reconstituidos localmente con neutrófilos o inyectados localmente con interleucinas quimiotácticas (IL-8 o TNF- α) sí que presentaron ampollas tras la exposición a los anticuerpos patogenéticos. Estos hallazgos sugieren que el papel de los mastocitos, aun siendo fundamental, se basaría esencialmente en la producción de mediadores quimiotácticos que favorecerían la presencia de neutrófilos en la zona de la lesión cutánea.¹⁶⁸ Finalmente, y como se mencionará más adelante, los mastocitos son capaces de secretar enzimas proteolíticas necesarias en el PA experimental.¹⁷¹

3.5.2.3. Neutrófilos

Pese a que existen pacientes en los que no se observa una infiltración masiva de neutrófilos en las biopsias de PA, los resultados de diferentes modelos animales parecen apuntar que el neutrófilo es la célula que provoca la formación de ampollas. De hecho, en estos modelos existe una correlación entre el daño tisular y el número de neutrófilos que infiltran el tejido afecto.¹⁷² La depleción neutrofílica o el bloqueo de las fases previas a la infiltración neutrofílica (activación del complemento o degranulación mastocitaria) previenen la formación de ampollas tras la exposición a IgG anti-BP180. Por tanto, pese a que el complemento y los mastocitos son elementos importantes en la patogenia del PA, únicamente actuarían en cadena favoreciendo la infiltración de neutrófilos, los cuales, tras interactuar con la región Fc de los anticuerpos anti-BP180 previamente depositados, desencadenarían el daño tisular a través de la secreción de enzimas proteolíticas.

3.5.2.4. Fc γ R

La interacción de los neutrófilos con los anticuerpos patogénéticos se realiza a través del sistema Fc γ R. Ratones deficientes tanto en Fc γ RIII y Fc γ RI como sólo en Fc γ RIII fueron resistentes a la enfermedad experimental, mientras que ratones con déficit de Fc γ RII, continuaron presentando ampollas.¹⁷³ En esta serie de experimentos, la inyección de anticuerpos patogénéticos produjo activación de neutrófilos en el tejido lesional con producción de enzimas proteolíticas en ratones *wild type*, mientras que en los ratones con déficit de Fc γ RIII no se observó dicha activación neutrofílica. Finalmente, los ratones *wild type* expuestos a anticuerpos patogénéticos previamente tratados con un bloqueante de Fc γ R no presentaron el fenotipo del PA. Estos datos, globalmente, apuntan hacia un papel predominante de Fc γ RIII (que correspondería al Fc γ RIIA humano) en el proceso de activación y secreción de enzimas proteolíticas por parte de los neutrófilos en respuesta a su unión con el fragmento Fc de IgG anti-BP180.

3.5.2.5. Enzimas proteolíticas

Tras su activación vía Fc γ R, los neutrófilos secretan mediadores que tienen como misión degradar la membrana basal produciendo las ampollas subepidérmicas propias del PA. Las principales enzimas son la elastasa del neutrófilo y la gelatinasa B (también llamada MMP9). Un déficit de cualquiera de estas 2 enzimas previene la aparición de la enfermedad experimental.^{174,175} Sin embargo, in vivo, es la elastasa la que ejerce la función de degradar el BP180 y otras proteínas de la

membrana basal, mientras que MMP9 actuaría a modo de inductor de la actividad de la elastasa vía inhibición proteolítica de la α -1 anti-tripsina, que es el inhibidor fisiológico de la elastasa.¹⁴⁹ De este modo, se produce un acción no reprimida de la elastasa que produciría el daño en la matriz extracelular de la membrana basal con la posterior formación de separación dermoepidérmica. Recientemente, Lin et al,¹⁷¹ han demostrado un papel fundamental en el PA de la proteasa-4 de los mastocitos de ratón (mMCP-4) que es una proteasa homóloga a la quimasa humana. Los ratones mMCP-4 (-/-) fueron resistentes al PA experimental, a pesar de presentar activación de complemento, degranulación mastocitaria e infiltración neutrofílica. Los ratones mMCP-4 (-/-) presentaron inactivación de MMP9 que sólo pudo ser reconstituida tras la inyección de mastocitos prodecentes de ratones mMCP-4 (+/+). Esta reconstitución también produjo la aparición del fenotipo de PA. Además, los investigadores pudieron demostrar una acción directa proteolítica de mMCP-4 sobre BP180.

3.5.2.6. Eosinófilos

Si bien se trata de la célula predominante en la sangre periférica y en las secciones histológicas de PA, los modelos animales de transferencia pasiva de anticuerpos patogenéticos tipo IgG realizados hasta la fecha no han conseguido reproducir de manera consistente la infiltración eosinofílica característica de la enfermedad humana. Es por ello que el papel que desempeñan los eosinófilos en el PA es actualmente poco conocido. Los modelos mencionados que emplean injertos de piel humana y transferencia de IgE parecen provocar la activación de los eosinófilos, lo cual sugiere un papel de estas células en la fase pre-ampollosa de la enfermedad.¹⁶⁴ El líquido de las ampollas del PA muestra elevación de IL-5, un conocido promotor eosinofílico, y eotaxina, una molécula que regula la migración tisular de los eosinófilos. Además, es posible que los eosinófilos también puedan colaborar con los neutrófilos en el daño tisular mediante la liberación de enzimas proteolíticas como gelatinasa,¹⁷⁶ la proteína catiónica eosinofílica o la proteína mayor básica de los eosinófilos.¹⁷⁷

3.5.3. Génesis de los autoanticuerpos

Existe muy poca evidencia experimental acerca de la causa y el modo de generación de los autoanticuerpos en el PA. Por mecanismos aún no dilucidados, se produce una pérdida de tolerancia inmunológica frente al dominio extracelular del BP180 de la membrana basal. La respuesta a este ectodominio parece estar restringida a ciertos HLA como por ejemplo HLA-DQ β 1*0301.¹⁷⁸ Estudios experimentales, han demostrado que la mayoría de pacientes con PA presentan linfocitos B y T

autoreactivos que reconocen la región NC16A del BP180. Las células T expresan marcadores de superficie de célula CD4 de memoria, mientras que las células B autoreactivas maduran hacia células plasmáticas de vida corta.^{178,179} El estudio de clones de linfocitos T BP180 específicos, revela que estas células secretan citocinas como IL-4, IL-5 e IL-13 que inducen la producción de IgE y IgG4 por parte de los linfocitos B. Estos hallazgos sugieren que el PA es una enfermedad autoinmune dependiente de células T, mediada por linfocitos T autoreactivos CD4+ que presentan un perfil predominantemente Th2.¹⁸⁰

3.6. Tratamiento

El tratamiento del PA incluye terapias como los corticoides tópicos y orales, inmunosupresores como el micofenolato de mofetilo, la azatioprina, el metotrexato, la ciclosporina y la ciclofosfamida, y fármacos inmunomoduladores como la dapsona y las tetraciclinas. Otras opciones terapéuticas serían el recambio plasmático y los fármacos ‘biológicos’ como el rituximab y las inmunoglobulinas intravenosas.

La gravedad de la enfermedad dicta la terapia a emplear, de modo que formas de PA con extensión anatómica limitada tienden a responder a los corticoides tópicos de potencia alta, mientras que las formas más agresivas requerirán el uso de inmunosupresores. En 2002, se demostró la eficacia de una pauta tópica consistente en la aplicación de 40 mg diarios de propionato de clobetasol en toda la superficie corporal para formas moderadas y graves de PA. Esta pauta mostró un control de la enfermedad más rápido y un descenso de la mortalidad en comparación con el uso de corticoides orales en pacientes con enfermedad grave y extensa.¹⁸¹ El principal inconveniente de este esquema terapéutico es que el paciente debe ser hospitalizado para poder realizar el tratamiento. Este aspecto hace que, hoy en día, los corticoides orales sigan siendo el tratamiento más prescrito en el PA. La mayoría de pacientes responden en pocas semanas a dosis de 1 mg/kg, con posterior descenso de los corticoides a lo largo de pocos meses con buena evolución clínica.

Los pacientes con enfermedad más extensa y severa, refractaria o que presentan recidivas al descender la dosis de corticoides (actividad mantenida), suelen recibir tratamiento adyuvante con inmunosupresores orales. En este sentido, la azatioprina podría reducir la dosis acumulativa de corticoides necesaria para conseguir el control de la enfermedad.¹⁸² Por su parte, un estudio randomizado reciente mostró que el micofenolato de mofetilo podría presentar la misma eficacia que la azatioprina.¹⁸³

Las tetraciclinas, a dosis inferiores a las dosis antimicrobianas, son capaces de

inhibir la expresión y activación de las metaloproteinasas, incluyendo MMP9.¹⁸⁴ Las tetraciclinas, en asociación a la niacinamida, fueron igual de efectivas que los corticoides orales como primera línea de tratamiento en el PA en un estudio que únicamente incluyó 18 pacientes.¹⁸⁵

Las inmunoglobulinas intravenosas podrían ser una alternativa en pacientes con enfermedad grave. Una revisión de casos mostró una respuesta del 70 % para esta terapia, permitiendo el ahorro de corticoides y remisiones sostenidas en algunos casos.¹⁸⁶ Finalmente, series de pacientes sugieren también eficacia clínica del metotrexato a dosis bajas,¹⁸⁷ la dapsona¹⁸⁸ y la ciclosporina.¹⁸⁹

Psoriasis

4.1. Introducción

La psoriasis es una enfermedad cutánea inmunomediada que afecta aproximadamente a 500 000 individuos en el estado español.¹⁹⁰ En 2002–2003, antes de la introducción de los fármacos biológicos, los costes directos e indirectos de esta patología para el Sistema Nacional de Salud alcanzaban de media los 1 079 euros anuales por paciente.¹⁹¹ Dado el elevado precio de dichos agentes biológicos (aproximadamente 15 000 euros anuales) el coste puede haber sido muy superior en los últimos años. Por tanto, la psoriasis además de impactar negativamente sobre la calidad de vida del paciente, es un problema de salud pública de primera magnitud.

Los pacientes con psoriasis sufren en su mayoría la presencia pertinaz de placas inflamadas y descamativas en la piel. Esta presentación es la que se conoce como psoriasis vulgar. Pese a que estas lesiones cutáneas rara vez suponen una amenaza para la vida de los pacientes con psoriasis, éstos pueden presentar comorbilidades importantes como la artritis psoriásica y la enfermedad cardiovascular.¹⁹² Además, los pacientes psoriásicos no sólo presentan menor puntuación en las escalas de calidad de vida,¹⁹³ sino que tienen una menor cantidad de ingresos económicos y

mayor grado de desempleo.¹⁹⁴

4.2. Epidemiología

La psoriasis afecta aproximadamente al 2% de la población mundial, con prevalencias que oscilan entre el 0.3% en China y el 4.8% en Noruega.¹⁹⁵ La psoriasis afecta por igual a ambos sexos sin diferencias en cuanto a formas clínicas. Aproximadamente un 14% de pacientes con psoriasis vulgar presentarán algún grado de artritis psoriásica.¹⁹⁶

En cuanto a la edad de aparición, existen 2 picos de incidencia con características clínicas diferenciadas. En un estudio en población española, Ferrándiz et al,¹⁹⁷ encontraron que los pacientes con psoriasis de inicio antes de los 30 años presentaban más frecuentemente una historia familiar de psoriasis, un curso clínico recidivante, así como una afectación cutánea más grave y extensa en comparación con los pacientes con psoriasis de inicio más tardío, que presentaron una menor gravedad clínica, así como una evolución más estable.

Múltiples factores ambientales han sido relacionados con la patogenia de la psoriasis. De entre ellos, el más conocido es la infección estreptocócica faringoamigdal, que es capaz no sólo de desencadenar la enfermedad en forma de una psoriasis 'en gotas' sino de empeorar una psoriasis vulgar estable.¹⁹⁵ Por otro lado, la infección por el VIH, es considerada actualmente un factor modificador de enfermedad en la psoriasis, favoreciendo una evolución más tórpida.¹⁹⁵ El estrés psicológico también es un conocido factor ambiental que ha sido relacionado en diferentes estudios con el desarrollo de brotes de psoriasis.^{198,199} El estilo de vida y la dieta parecen tener una influencia importante en el curso clínico de esta enfermedad. De este modo, los pacientes obesos parecen experimentar una enfermedad más grave, así como aquéllos en los que existe una ingesta excesiva de ácidos grasos poliinsaturados, gluten y alcohol²⁰⁰ o un hábito tabáquico intenso.²⁰¹ Finalmente, fármacos como los β -bloqueantes, el litio, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, el gemfibrozilo y los interferones α y γ pueden exacerbar la psoriasis.¹⁹⁵

En los últimos 5 años numerosos estudios han venido clarificando la relación entre la psoriasis y mortalidad por enfermedad cardiovascular.^{192,202} Existe en la actualidad suficiente evidencia para hablar de un fenómeno de inflamación sistémica con repercusión endotelial similar al que existe en la artritis reumatoide.²⁰³ Dos estudios poblacionales de 2011, refuerzan este concepto mostrando un riesgo aumentado de episodios cardiovasculares mayores en pacientes con psoriasis severa²⁰⁴ y de infarto cerebral y fibrilación auricular en pacientes con

cualquier forma de psoriasis ya sea grave o leve.²⁰⁵ Estos resultados, junto con los de otros estudios anteriores, suponen un cambio en la concepción de la psoriasis como únicamente un problema cutáneo, y probablemente, en pocos años, conlleven un cambio en la manera en cómo los dermatólogos tratan esta enfermedad, con abordajes aún más proactivos sobre la inflamación cutánea en aras de prevenir la enfermedad cardiovascular.

4.3. Clínica

4.3.1. Formas clínicas

La mayoría de pacientes afectados de *psoriasis vulgar* presentan placas eritematosas infiltradas, ovaladas y bien delimitadas, con descamación blanquecina gruesa afectando preferentemente a los codos, rodillas, el sacro y el cuero cabelludo, existiendo casos de afectación generalizada. Las uñas presentan frecuentemente alteraciones en forma de distrofia ungueal e hiperqueratosis subungueal. Histológicamente se observa acantosis epidérmica con elongación de los procesos interpapilares, hipogranulosis y paraqueratosis. El infiltrado inflamatorio es mixto con presencia variable de neutrófilos, linfocitos y células dendríticas.¹⁹²

Clásicamente, en la *psoriasis guttata*, un paciente joven, en muchas ocasiones sin antecedentes previos de psoriasis, presenta una erupción generalizada de pequeñas placas inflamatorias, con poca descamación, típicamente tras un proceso faringoamigdalár. La histología muestra cambios menos marcados que en la psoriasis vulgar con predominio de neutrófilos.²⁰⁶

Otras formas menos frecuentes son la *eritrodermia psoriásica*, en la que el paciente presenta enrojecimiento de toda la superficie corporal, la *psoriasis pustulosa generalizada*, con presencia de pústulas que forman 'lagos de pus' y abundante infiltración neutrofílica en la histología, la *psoriasis palmoplantar*, en la que la enfermedad produce una inflamación y engrosamiento crónico con fisuras exclusivamente en palmas y plantas y la *psoriasis pustulosa palmoplantar*, con aparición de pústulas dolorosas que experimentan un curso crónico.²⁰⁶

4.3.2. Indicadores de gravedad clínica

Los indicadores de gravedad validados que más se utilizan en la actualidad para clasificar la psoriasis vulgar son:

- BSA (*Body Surface Area*): Consiste en una estimación porcentual por parte del médico de la superficie corporal afectada por la psoriasis.²⁰⁷ Presenta una variabilidad intraobservador excelente, pero favorece la superestimación de la psoriasis leve.²⁰⁸
- PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*): Es el indicador de gravedad de la psoriasis de referencia.²⁰⁹ Es el parámetro más utilizado para evaluar respuestas terapéuticas en pacientes con psoriasis moderada a grave. El porcentaje de pacientes que alcanzan una mejoría del PASI de al menos un 75% con respecto al valor basal (PASI75) es la variable que más frecuentemente se emplea para comparar la eficacia de diferentes tratamientos. Incluye la valoración no sólo de la extensión de la psoriasis, sino también de parámetros como el eritema, la infiltración o la descamación.²⁰⁷ Se obtiene un valor de entre 0 y 72 puntos.
- PGA (*Psoriasis/Physician's Global Assessment*): El PGA es una escala subjetiva de valoración por parte del médico que clasifica la psoriasis dentro de 5, 6 ó 7 categorías desde 'ausente' a 'muy grave'. Presenta buena correlación con el PASI.²⁰⁷

Estos indicadores permiten la clasificación de la psoriasis en:²¹⁰

1. *Psoriasis leve*: BSA < 10% o PASI < 10, con buen control de la enfermedad con tratamientos tópicos.
2. *Psoriasis moderada*: BSA > 10% con buen control de la enfermedad con tratamiento tópico.
3. *Psoriasis moderada a severa*: BSA > 10% con mal control de la enfermedad con el tratamiento tópico o BSA < 10% pero existe afectación de localizaciones difíciles de tratar como la cara, las manos o los pies o con efectos invalidantes.
4. *Psoriasis severa*: BSA > 20% o PASI > 20 con necesidad justificada de tratamiento sistémico o BSA 10–20% con lesiones en áreas difíciles de tratar o psoriasis inestable (de extensión rápida).

4.4. Patogénesis

4.4.1. Genética

Estudios poblacionales han demostrado consistentemente el componente genético de la psoriasis, de modo que esta enfermedad es más frecuente entre familiares de primer y segundo grado.¹⁹² La psoriasis es una enfermedad poligénica con un modo de transmisión complejo. Los estudios de asociación *genome-wide* han detectado al menos 9 loci cromosómicos, denominados loci de susceptibilidad del 1 al 9 (PSOR1 a PSOR9). PSOR1 constituye hasta el 50 % del componente hereditario de la psoriasis y se corresponde con el alelo HLA-Cw6 en el cromosoma 6p.²¹¹ Además, los pacientes con psoriasis presentan más frecuentemente variantes en el gen del receptor de la IL-23, la IL-12B.²¹² Otros genes implicados son el gen de la proteína 313 tipo *zinc-finger* (que se expresa abundantemente en la piel) y genes relacionados con el TNF- α (TNFAIP3 y TNFAIP3).¹⁹²

Estudios basados en el análisis de la expresión de la totalidad del genoma (transcriptoma) en lesiones psoriásicas, han confirmado que el sistema inmune desempeña un papel fundamental en la patogenia de la psoriasis, con un papel patogénico predominante de las células dendríticas, los linfocitos T y de citocinas como los interferones tipo I, el interferón γ y el TNF- α .²¹³ Por tanto, la psoriasis tiene lugar como consecuencia de la interrelación de factores genéticos asociados a una respuesta inmune anómala y factores ambientales que inducirían dicha respuesta.

4.4.2. Inmunidad innata

Existen evidencias sólidas que apoyan la existencia de una disregulación de la inmunidad innata en la psoriasis. La citocina innata interferon- α , así como su célula productora principal (la célula dendrítica plasmacitoide), se encuentran sobreexpresadas en las placas de psoriasis.¹⁹² Las células dendríticas plasmacitoides son activadas por complejos formados por péptidos antimicrobianos y ADN a través de los receptores tipo *toll-like*. Por tanto, es posible que los responsables de los primeros pasos de la patogenia de la psoriasis sean la presencia de productos bacterianos o la formación de ADN extracelular del huésped.²¹⁴

Los queratinocitos funcionan como células del sistema inmune innato, ya que son la fuente de los péptidos antimicrobianos y son capaces de secretar citocinas inflamatorias que favorecen la activación de las células dendríticas dérmicas. Además, los queratinocitos responden a las citocinas producidas por células como

los linfocitos T en la fase eferente de la enfermedad.¹⁹²

La activación en primera instancia de la inmunidad innata supone la producción de citocinas (interferón- α , IL-1 β , IL-6, TNF- α) que van a activar y modelar a células dendríticas dérmicas que migrarán a los ganglios linfáticos regionales donde se establecerá una presentación antigénica, conformando el primer eslabón de la respuesta adaptativa que tiene lugar en la psoriasis.

4.4.3. Inmunidad adaptativa

Una respuesta adaptativa disregulada es la responsable del mantenimiento de la psoriasis en el tiempo. La célula dendrítica dérmica interactúa con la célula T en el ganglio linfático favoreciendo la expansión de linfocitos T autoreactivos tipo Th1 y Th17, a través de la producción de IL-12 e IL-23 respectivamente, que van a volver a la piel gracias a la expresión de moléculas de adhesión y receptores de quimiocinas como CCR6, CCR4 o CXCR3.¹⁹²

Una vez en el foco inflamatorio, y como respuesta a la interacción con algún autoantígeno aún por definir, los linfocitos Th1 van a producir citocinas como el interferón- γ y el TNF- α , mientras que los linfocitos Th17, secretarán IL17A, IL17F e IL-22. Todas estas citocinas tienen un impacto sobre la epidermis produciendo la activación y proliferación de los queratinocitos, que a su vez ‘contestarán’ produciendo más péptidos antimicrobianos, interleucinas y quimiocinas (que atraen a otros tipos celulares como los neutrófilos) favoreciendo el mantenimiento de la respuesta inflamatoria.¹⁹²

Por tanto, en la patogenia de la psoriasis se establece la activación exagerada de una ‘red de citocinas’ producidas por diferentes células (p. ej., linfocitos, células dendríticas, queratinocitos) que por una lado causan el fenotipo de la psoriasis (acantosis histológica y placas infiltradas inflamatorias con descamación gruesa) y por otro, y gracias a un mecanismo de *feedback*, favorecen el mantenimiento de la inflamación. El papel fundamental de las citocinas viene refrendado por el éxito de las terapias biológicas anti-citocinas (p. ej., anti-TNF- α) en la psoriasis.

4.5. Tratamiento

4.5.1. Tratamiento tópico

La opción terapéutica más empleada para la psoriasis es el tratamiento tópico, debido a que la mayoría de pacientes con psoriasis van a presentar una enfermedad leve (alrededor del 70 %).¹⁹¹

El tratamiento más utilizado en pacientes con enfermedad limitada son los *corticoides tópicos*. Sus mecanismos de acción son variados siendo antiinflamatorios, antiproliferativos, inmunosupresores y vasoconstrictores.²¹⁵ Estos efectos tienen lugar como consecuencia de su unión a los receptores intracelulares de corticoides que regulan la transcripción de genes implicados en la inflamación, especialmente genes de citocinas. Los corticoides tópicos, especialmente los potentes, son muy eficaces a corto plazo en el control de la psoriasis, pero el desarrollo de efectos secundarios locales (atrofia) y sistémicos (síndrome de Cushing), taquifilaxia y la pérdida de adherencia al tratamiento, suponen obstáculos para el control a medio y largo plazo de la psoriasis con esta modalidad terapéutica.

Los *análogos de la vitamina D* (calcipotriol, calcitriol y tacalcitol) son eficaces en la psoriasis en virtud de su unión a los receptores de la vitamina D cutáneos, lo que produce la inhibición de la proliferación de los queratinocitos, así como un aumento en su diferenciación.²¹⁵ La eficacia clínica del calcipotriol en la psoriasis leve estaría en torno al 70 %.²¹⁵ En la actualidad existe un preparado que combina un corticoide potente con calcipotriol que permite su utilización a largo plazo y a demanda con un perfil de seguridad mejorado comparado con los corticoides tópicos.²¹⁶

El *tazaroteno* es un retinoide tópico que actúa en la psoriasis normalizando la diferenciación de los queratinocitos, disminuyendo su hiperproliferación e inhibiendo la expresión de mediadores inflamatorios. El tazaroteno ha demostrado una tasa de éxito terapéutico de alrededor del 50 % en 3 ensayos clínicos randomizados.²¹⁵

Otros tratamientos tópicos para la psoriasis son los *inhibidores de la calcineurina* tópicos (tacrolimus y pimecrolimus), el *ditranol*, la *brea de hulla* y el *ácido salicílico*.

En la práctica clínica, el tratamiento tópico, en diversas combinaciones y regímenes, permite un control aceptable de la psoriasis en la mayoría de pacientes con enfermedad estable y limitada a las zonas anatómicas típicas (p. ej., codos, rodillas y área pretibial).

4.5.2. Tratamiento sistémico

Generalmente, el tratamiento sistémico se reserva para aquellos pacientes con al menos un BSA/PASI > 10 % en ausencia de control de la enfermedad con tratamiento tópico (20–30 % del total de pacientes con psoriasis). Sin embargo, algunos pacientes con psoriasis limitada a zonas especialmente problemáticas como el cuero cabelludo o las palmas y plantas, también son tributarios de tratamiento sistémico pese a presentar un BSA/PASI < 10 %.²¹⁷

El *metotrexato* es el fármaco inmunosupresor mundialmente más utilizado en la psoriasis. Actúa inhibiendo la enzima dihidrofolato reductasa, disminuyendo de este modo la síntesis de cofactores fólicos necesarios para producir ácidos nucleicos, inhibiendo así al sistema inmunitario.²¹⁸ Presenta una eficacia clínica en torno al 60 % a las 16 semanas.²¹⁹ Sus principales efectos adversos son la intolerancia digestiva, y menos frecuentemente, hepatotoxicidad, mielosupresión y fibrosis pulmonar.

La *ciclosporina* es un agente altamente efectivo que proporciona una mejoría muy rápida de la psoriasis. Induce inmunosupresión al inhibir la primera fase de la activación de los linfocitos T, ya que inhibe la calcineurina que es fundamental en la transcripción de genes como el de la IL-2 y el interferón- γ , cruciales para la activación plena de la célula T. A dosis de 3 mg/kg tiene una eficacia del 50–70 %.²²⁰ El uso crónico de la ciclosporina está limitado por el desarrollo frecuente de nefrotoxicidad, que es irreversible.²¹⁷ Otros efectos secundarios son hipertensión arterial, cáncer de piel no melanoma (especialmente si el paciente ha realizado previamente fototerapia) hipertriosis y cefalea.

El *acitretino* es un retinoide oral que modula la proliferación y diferenciación epidérmica, presentando además propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias. Su eficacia es menor que la de los otros tratamientos sistémicos comentados (PASI75 = 23 %).²²¹ Sin embargo, ciertas formas clínicas como la psoriasis pustulosa o eritrodérmica, pueden presentar respuestas espectaculares con acitretino.²¹⁷ La sequedad mucocutánea y la dislipemia son los efectos secundarios más habituales. Al ser un fármaco altamente teratogénico, su uso se ve limitado en mujeres en edad fértil.

Otros tratamientos inmunosupresores de segunda línea (sin indicación para psoriasis) serían la azatioprina, los esteres del ácido fumárico (no disponibles en España), la hidroxiaurea, el micofenolato de mofetilo, la leflunomida, el tacrolimus y la sulfasalazina.²¹⁷

La *fototerapia*, si bien no es un tratamiento inmunosupresor oral clásico, muchas veces es clasificada dentro del ‘tratamiento sistémico’ de la psoriasis. Básicamente

existen 2 modalidades: por una lado, la administración de UVB de banda estrecha (nUVB) y por otro, la exposición por parte del paciente a UVA, previa administración tópica u oral de psoralenos, que son fotosensibilizantes (PUVA). La irradiación de la piel con psoriasis con radiación ultravioleta permite disminuir la inflamación fundamentalmente gracias a su efecto inmunosupresor sobre las células de Langerhans. Además, la fototerapia influye sobre los linfocitos T y las citocinas implicadas en la psoriasis favoreciendo un cambio en el perfil inmunológico hacia una respuesta Th2, así como induciendo apoptosis de linfocitos T activados.²²² Esta modalidad de tratamiento puede ser muy eficaz, incluso en casos graves, con un porcentaje de eficacia global en torno al 70 %.²²² El principal inconveniente de este tratamiento es la necesidad de acudir varias veces por semana a una unidad de fototerapia especializada, así como el riesgo de desarrollo de cáncer de piel no melanoma en pacientes que hayan recibido múltiples sesiones, especialmente de PUVA.²²³

4.5.3. Agentes biológicos

En los últimos años la terapia biológica ha adquirido un gran protagonismo en el tratamiento de la psoriasis debido, en parte, a que ha superado muchas de las limitaciones, en términos de eficacia y seguridad, de los tratamientos ‘clásicos’ anteriormente descritos. Típicamente, los pacientes que reciben terapia biológica, son aquellos con un PASI/BSA > 10 % que no han respondido al tratamiento sistémico o que presentan contraindicación al mismo. Los biológicos son agentes farmacológicos diseñados para bloquear moléculas relevantes en la patogenia de la psoriasis. Actualmente existen 2 tipos de biológicos ‘anti-citocinas’ aprobados para su uso en España: los anti-TNF- α (infliximab, etanercept y adalimumab) y un anti-IL12/IL23 (ustekinumab).

4.5.3.1. Terapia anti-TNF- α

Todos los tratamientos anti-TNF- α actúan uniéndose al TNF- α soluble bloqueando de este modo las acciones inmunológicas dependientes de esta citocina. Los anti-TNF- α también son capaces de unirse al TNF- α situado en la membrana de diferentes células inmunes patogénicas, lo que favorecería su apoptosis por ADCC vía receptores Fc γ R, ya que todos los anti-TNF- α contienen el fragmento Fc (**Figura 4.1**).²²⁴ Como se comentará más adelante, existen diferencias en cuanto a la eficacia entre los diferentes anti-TNF- α . Las causas de estas diferencias aún no son bien comprendidas pero estarían en relación con aspectos farmacocinéticos, de inmunogenicidad y con mecanismos de acción inmunes dependientes de la estructura molecular de cada agente.²²⁵

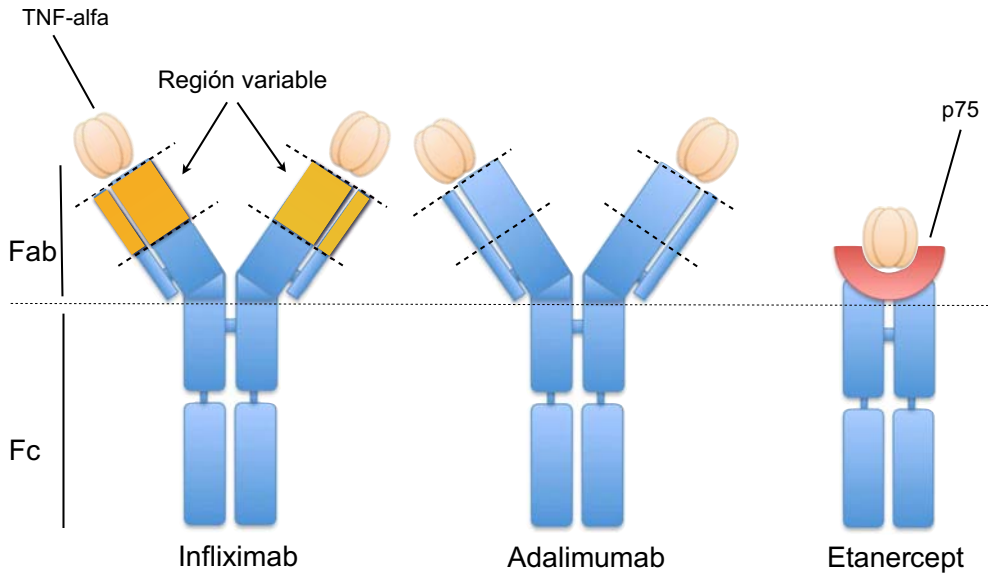


Figura 4.1: Estructura molecular de los agentes anti-TNF- α . El color naranja denota fracciones moleculares de origen murino.

El *infliximab* es un anticuerpo quimérico tipo IgG1 humano y murino (región variable) altamente efectivo en el tratamiento de la psoriasis en placas grave. Se administra de modo intravenoso a dosis de 5 mg/kg a las semanas 0, 2 y 6, obteniéndose una rápida respuesta en la mayoría de pacientes (PASI75 = 79 %).²²⁵ El régimen de mantenimiento supone infusiones cada 8 semanas. El infliximab pierde eficacia con el tiempo (especialmente si se administra de manera intermitente) probablemente como consecuencia de la aparición de anticuerpos anti-infliximab.²²⁶

El *adalimumab* es un anticuerpo monoclonal IgG1 anti-TNF- α totalmente humano. Su vía de administración es subcutánea y tras una dosis de carga de 80 mg, se administra quincenalmente a dosis de 40 mg. La eficacia se sitúa en un 70–80 % en la semana 16 de tratamiento.^{225,226}

El *etanercept* es una proteína de fusión humana consistente en la porción Fc de la IgG1 unida al receptor del TNF- α humano (p75). Se administra subcutáneamente 2 veces por semana hasta la semana 12, y a partir de entonces, semanalmente. A las 12 semanas, la administración de 50 mg 2 veces por semana obtuvo un PASI75 del 49 %.²²⁶ La respuesta parece mejorar con el tiempo, ya que a la semana 24, el PASI-75 % subió hasta el 59 % en aquellos pacientes que realizaron el régimen de 50 mg 2 veces por semana.²²⁷ Hasta un 75 % de pacientes mantendrán la respuesta

al final del primer año de tratamiento.²²⁸

En cuanto a los efectos adversos de los agentes anti-TNF- α , existe un riesgo aumentado de infecciones de piel y tejidos blandos, herpes zoster, y de reactivación de tuberculosis latente (especialmente por infliximab y adalimumab). Con mucha menos frecuencia estos agentes pueden producir o empeorar una insuficiencia cardíaca, esclerosis múltiple o un LES.²²⁵

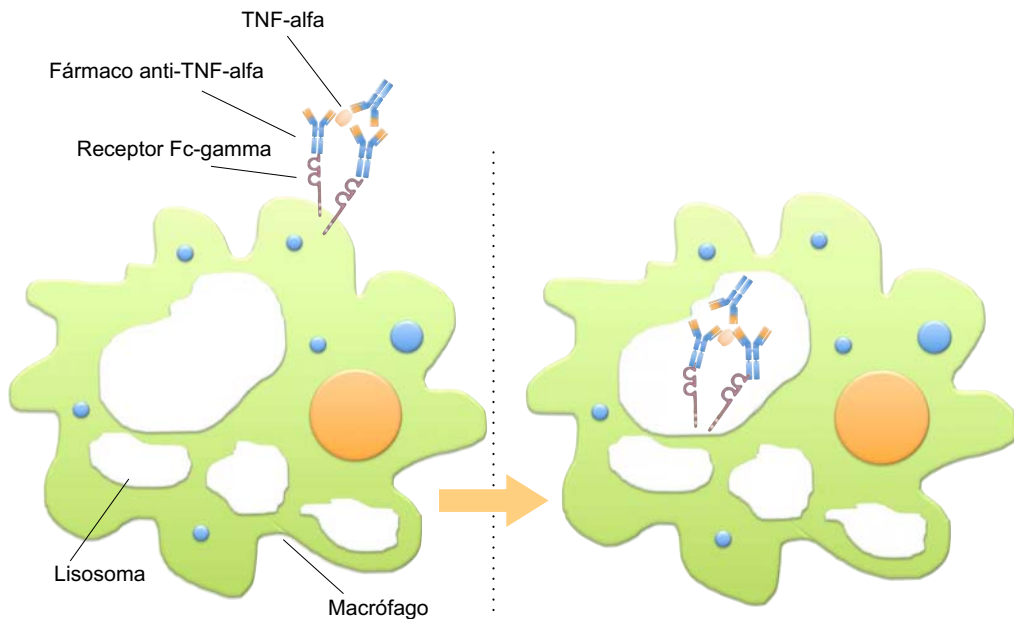
4.5.3.2. Farmacocinética de los agentes biológicos

Los fármacos biológicos van a ser eliminados del organismo fundamentalmente a través de rutas catabólicas, ya que la eliminación renal y biliar es mínima debido al gran tamaño de estas moléculas.²²⁹

La porción del fármaco más relacionada con su propio catabolismo es el fragmento Fc. De este modo, los receptores Fc van a suponer el principal sistema encargado de la eliminación de los anticuerpos monoclonales terapéuticos a través de dos sistemas independientes: el del receptor Fc neonatal (FcRn) y el de los Fc γ R.²³⁰

El FcRn es un receptor endosómico ubicado principalmente en las células endoteliales y que constituye un importante sistema de regulación de la homeostasis de la IgG. En condiciones fisiológicas, la IgG es captada por las células endoteliales por pinocitosis pasando a formar parte de los endosomas. Es aquí donde la IgG se une a FcRn siendo ‘protegida’ frente a la degradación lisosómica intracelular. Después de esta unión, el complejo IgG-FcRn es devuelto a la superficie celular donde se producirá el ‘reciclaje’ de la IgG al torrente sanguíneo. Del mismo modo, los agentes biológicos, utilizan este sistema para evitar su rápida degradación, aumentando así su vida media.²²⁹

Las células del sistema reticuloendotelial (SRE) también participan en el catabolismo de la IgG. Los Fc γ R presentes en monocitos y otras células fagocíticas inducen la internalización de IC formados por IgG, que posteriormente serán degradados en los lisosomas.²³¹ Del mismo modo, IC formados por agentes monoclonales unidos a sus antígenos podrían interaccionar con los Fc γ R presentes en el SRE, para posteriormente ser degradados siguiendo esta ruta de eliminación.^{229,231,232} (**Figura 4.2**).



a. Los receptores $Fc\gamma R$ activadores situados en la superficie de las células del sistema retículoendotelial se unen a los IC formados por el fármaco anti-TNF- α y el TNF- α

b. Los $Fc\gamma R$ activados inducen la fagocitosis del IC que pasará a los lisosomas donde se producirá la proteólisis del fármaco.

Figura 4.2: Mecanismo propuesto de eliminación de agentes anti-TNF- α mediado por $Fc\gamma R$.

4.6. Aspectos farmacoeconómicos

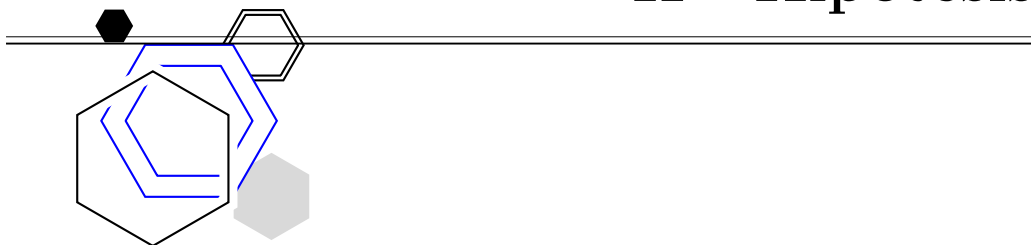
Como se ha comentado previamente, el coste de los fármacos biológicos es muy elevado en comparación con los tratamientos clásicos. Pese a que los biológicos presentan buenos índices de respuesta, la existencia de fracasos terapéuticos hace que la ratio coste/eficacia pueda ser en muchos casos poco favorable.

Recientemente, Blasco et al,²³³ han analizado la eficiencia de los fármacos biológicos basándose en los resultados de los ensayos randomizados y metanálisis publicados para cada fármaco. Los autores observaron que para adalimumab, la relación coste/eficacia (el dinero que le cuesta al financiador que un paciente obtenga una respuesta PASI75 en 12 semanas) fue de alrededor de 8000 euros. Por su parte, el etanercept tiene un cociente coste/eficacia, para la dosis de 50 mg

2 veces por semana, de unos 13 000 a las 12 semanas, debido a que presenta mayor número de fracasos terapéuticos que adalimumab.

Por tanto, en un escenario ideal y en aras de poder aumentar los parámetros de coste/eficacia, deberían ser tratados con agentes biológicos aquellos pacientes que tuvieran una alta probabilidad de presentar una respuesta clínica significativa. Lamentablemente, hoy en día no se dispone de ningún marcador farmacogenético que pueda predecir la buena o mala respuesta de un paciente a los agentes anti-TNF- α . Por tanto, el estudio de la farmacogenética de los agentes biológicos puede tener un impacto potencial no sólo en términos de eficacia y calidad de vida de los pacientes con psoriasis, sino también una relevancia desde el punto de vista farmacoeconómico.

II Hipótesis





Hipótesis

1. *Papel de los polimorfismos de Fc γ R en la patogenia del PA:*

Los estudios experimentales realizados hasta la fecha utilizando diferentes modelos (murino, in vitro) sugieren que en el PA, los autoanticuerpos anti-BP180 ejercen su papel patogénico a través de los Fc γ R activadores de los neutrófilos. Por tanto, los pacientes afectados de PA podrían presentar una mayor prevalencia de genotipos de alta afinidad de los polimorfismos de Fc γ R activadores que la población general.

Por otro lado, dado que el PA es una enfermedad autoinmune mediada por anticuerpos, es posible que la presencia de la variante funcional del receptor inhibitorio Fc γ RIIB pudiera favorecer el desarrollo de esta patología, ya que esta variante está relacionada con una mayor capacidad de producción de autoanticuerpos.

Finalmente, los pacientes afectados de PA con evolución clínica más grave (p. ej., mayor extensión de las lesiones o necesidad de añadir tratamiento inmunosupresor) podrían corresponder también con aquéllos que presenten genotipos de alta afinidad de Fc γ R activadores o con los presenten la variante funcional de Fc γ RIIB.

2. *Papel de los polimorfismos de Fc γ R en la respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis:*

Teniendo en cuenta el papel de los Fc γ R en las rutas catabólicas y el

mecanismo de acción de los tratamientos biológicos basados en el fragmento Fc, así como los resultados observados en artritis reumatoide y psoriática, espondilitis anquilosante y enfermedad de Crohn con respecto a la influencia de los polimorfismos de Fc γ R en la respuesta a terapias anti-TNF- α , pensamos que las diferentes variantes genotípicas de los Fc γ R activadores podrían condicionar la eficacia de estos tratamientos también en la psoriasis.

Esta influencia podría darse a dos niveles: a) a nivel *farmacocinético*, la presencia de las variantes de baja afinidad, se podría acompañar de un menor grado de eliminación del agente biológico por parte del SRE, y por tanto, de un menor catabolismo y mayor eficacia; y b) a nivel *farmacodinámico*, ya que la existencia de, por ejemplo, alelos de alta afinidad podría asociarse a una mayor ADCC de células patogénicas que expresasen TNF- α en su membrana plasmática y, por tanto, a una mayor eficacia clínica.

Por todo esto pensamos que los polimorfismos de Fc γ R, en alguna de sus formas genotípicas, podrían constituir un marcador farmacogenético de respuesta a fármacos anti-TNF- α en la psoriasis, con implicaciones clínicas y farmacoeconómicas. Quisiéramos resaltar a este respecto, que hasta la fecha no se ha publicado ningún estudio que haya testado la utilidad de posibles marcadores farmacogenéticos en el tratamiento de la psoriasis con fármacos anti-TNF- α .

III Objetivos





Objetivos

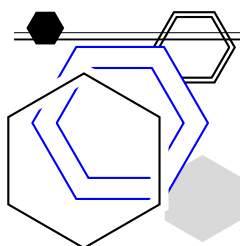
1. Detectar los genotipos de alta, intermedia y baja afinidad de los polimorfismos de los receptores Fc γ RIIA, IIIA y IIB en nuestro medio.
2. Comparar la prevalencia de los distintos genotipos de los polimorfismos de los receptores Fc γ RIIA, IIIA y IIB entre pacientes con PA y un grupo control.
3. Comparar la prevalencia de los distintos genotipos de los polimorfismos de los receptores Fc γ RIIA, IIIA y IIB entre distintos subgrupos de pacientes con PA, definidos según la gravedad de la enfermedad.
4. Estudiar la frecuencia de los polimorfismos de los receptores Fc-gamma Fc γ RIIA y IIIA en una muestra autóctona de pacientes con psoriasis vulgar tratados con terapia biológica.
5. Estudiar epidemiológicamente un grupo de pacientes con psoriasis vulgar tratados con terapia biológica.
6. Clasificar a los pacientes con psoriasis vulgar tratados con terapia biológica según su respuesta clínica mediante indicadores clínicos validados.
7. Tratar de establecer asociaciones entre determinados genotipos (o sus combinaciones) de los polimorfismos de Fc γ R y el grado de respuesta al tratamiento de la psoriasis con agentes biológicos (infliximab, etanercept y adalimumab) con el objetivo de definir marcadores farmacogenéticos que

puedan predecir el éxito o fracaso del tratamiento con biológicos de forma individualizada.

8. Evaluar el posible efecto en el grado de respuesta terapéutica de una serie de variables relacionadas con las características clínicas de los participantes que pudieran actuar como factores de confusión (p. ej., edad, sexo o tipo de agente biológico utilizado).

IV

Material y métodos



Diseño de los estudios y participantes

1.1. Polimorfismos de Fc γ R y penfigoide ampolloso

En esta parte del proyecto se analizaron los genotipos de los polimorfismos Fc γ RIIA-H131R, Fc γ RIIA-V158F y Fc γ RIIB-I187T de 41 pacientes afectados de PA controlados en los Servicios de Dermatología del Hospital Clinic y del Hospital del Mar de Barcelona en el periodo 2006–2010, y 115 controles sanos procedentes del Banco de Sangre del Hospital Clínic de Barcelona.

Los pacientes con PA fueron diagnosticados mediante la combinación de datos clínicos e histológicos compatibles, así como la positividad de la IFD y en la mayoría de los casos también de la IFI realizada sobre piel separada mediante cloruro sódico. En algunos pacientes se determinó la presencia de anticuerpos anti-BP180 mediante técnicas de ELISA y/o *western blotting*.

Se realizó una revisión retrospectiva de las historias clínicas de los pacientes afectados de PA, con recogida de variables epidemiológicas y clínicas, incluyendo parámetros de gravedad y respuesta a tratamiento.

Se correlacionaron los genotipos, las frecuencias alélicas y los genotipos combinados de los polimorfismos de Fc γ R con la presencia de PA (marcadores de enfermedad) o con formas graves de PA (modificadores de enfermedad). Con respecto a esto último, utilizamos en nuestro análisis dos formas de evaluar la gravedad del PA: a) un índice de gravedad clínica del pénfigo vulgar adaptado para PA aplicado en el momento de mayor severidad en el seguimiento²³⁴ (**Tabla 1.1**); y b) la necesidad de haber añadido tratamiento inmunosupresor en algún momento del seguimiento como parámetro definitorio de gravedad clínica, frente a aquellos pacientes que únicamente recibieron tratamiento con corticoides tópicos u orales.

Tabla 1.1: Índice clínico para pénfigo vulgar propuesto por Herbst y Bystryñ.²³⁴

Extensión de la enfermedad [†]	Intensidad del tratamiento	Puntuación
Sin lesiones	0	0
Lesiones transitorias [‡]	Tópico	1/2
1	≤ 15 mg PDN/día	1
2-3	16-49 mg PDN/día	2
4-5	50-89 mg PDN/día	3
≥6	≥ 90 mg PDN/día	4
		<i>Añadir a intensidad de tratamiento</i>
	≤100 mg de azatioprina/ciclofosfamida, sales de oro, dapsona o ciclosporina a cualquier dosis	1
	>100 mg/día de azatioprina/ciclofosfamida o recambio plasmático	2

El índice va de 0 a 10 puntos y es el resultado de la suma de la puntuación asignada a la ‘extensión de la enfermedad’ y la ‘intensidad del tratamiento’. Nosotros utilizamos este índice en la valoración de nuestros pacientes con PA.

[†] Número de áreas afectas: cuero cabelludo, cara/cuello, pecho, abdomen, brazos, piernas, mucosa oral, genitales; [‡] Lesiones que curan en menos de 48 horas; PDN: prednisona.

1.2. Polimorfismos de Fc γ R y respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis

Se analizaron los genotipos de los polimorfismos Fc γ RIIA-H131R, Fc γ RIIIA-V158F de 70 pacientes con psoriasis moderada a grave, que habían recibido tratamiento biológico anti-TNF- α (infliximab, etanercept o adalimumab) en el Hospital Clínic de Barcelona y en el Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona en el periodo 2007–2010. De estos pacientes, se obtuvieron de forma retrospectiva datos epidemiológicos, clínicos y de respuesta a tratamiento mediante revisión de historias clínicas. En un intento de excluir posibles influencias relacionadas con la inmunogenicidad inducida por tratamientos biológicos previos, se analizó únicamente el primer ciclo de tratamiento biológico que el paciente recibió durante el seguimiento clínico.

Se determinó el grado de respuesta al tratamiento mediante las siguientes variables:

1. Porcentaje de mejoría del PASI a las 12 semanas de tratamiento.
2. Obtención de PASI75 a las 12 semanas de tratamiento.
3. Fracaso del tratamiento (no obtención de PASI50 a las 12 semanas).
4. PASI basal, intermedio (6–8 semanas) y a las 12 semanas de tratamiento.
5. Porcentaje de mejoría del BSA a las 12 semanas.
6. BSA basal, intermedio y a las 12 semanas de tratamiento.
7. Mejoría de un índice de satisfacción del paciente (PtGA).

Se correlacionaron los polimorfismos de Fc γ R con el grado de respuesta al tratamiento biológico según las variables descritas. Además, se realizó un análisis multivariante incluyendo el tipo de fármaco biológico utilizado, así como otras variables clínicas y epidemiológicas que pudieran actuar como factores de confusión.

Análisis genético

2.1. Extracción del ADN

El análisis de las secuencias de los polimorfismos de $Fc\gamma R$ de los participantes se realizó a partir de la extracción del ADN procedente de los leucocitos de la sangre periférica. Para tal fin se realizó la venopunción y extracción de 5 ml de sangre periférica a cada participante, previo firma de consentimiento informado y entrega de hoja informativa del proyecto. La sangre periférica se sometió a los siguientes procedimientos de laboratorio:

- Microfugación de 1 ml de sangre (4000 revoluciones por minuto (r.p.m.) 4'). Se retiró el sobrenadante (800 μ l), de modo que quedaban 200 μ l de suspensión rica en células en el fondo.
- Se añadió proteinasa K y *buffer* AL.
- Se incubó la mezcla en un baño a 56°C durante 10'.

(De este modo se conseguía la rotura de las membranas celulares y la consecuente liberación del material nuclear)

- Se añadió etanol.
- Se introdujo la mezcla en una columna que contenía un filtro que retenía el ADN.
- Microfugación (9 000 r.p.m., 1').
- Se realizó un primer lavado con el *buffer* AW1.
- Microfugación (9 000 r.p.m., 1').
- Segundo lavado con *buffer* AW2.
- Microfugación (14 000 r.p.m., 3').
- Se introdujo la columna en un tubo Eppendorf y se diluyó con agua bidestilada.
- Ambos tubos eran microfugados (8 000 r.p.m., 2').
- Como resultado se obtenía agua bidestilada que únicamente contenía ADN.

2.2. Cuantificación del ADN

Una vez se extraía el ADN, se debía proceder a su cuantificación para confirmar la calidad de la muestra, así como para tener un valor de referencia a la hora de calcular los volúmenes necesarios en las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) posteriores:

- Se preparaban 100 μl de agua bidestilada que contenían el ADN extraído a una dilución 1/10.
- Se introducían en un espectrofotómetro de lectura automática.
- A 260 nm se obtenía la concentración de ADN en $\text{ng}/\mu\text{l}$.
- Por otra parte, el espectrofotómetro nos proporcionaba el ratio 260/280 que nos indicaba el grado de calidad del ADN extraído.

2.3. PCR de amplificación ‘alelo específica’ de Fc γ R111A-V158F

Para detectar el genotipo del polimorfismo de este gen era necesario realizar una amplificación del mismo mediante PCR “alelo específica” siguiendo una técnica previamente descrita.²³⁵ Se emplearon *primers reverse* (3'→ 5') específicos para cada posible alelo del polimorfismo (valina o fenilalanina), de modo que se podía visualizar en un gel de agarosa si se amplificaba una única versión del gen (sujeto homocigoto) o ambas (heterocigoto). Se trata de una PCR compleja que se puede resumir en los siguientes pasos:

■ Preparación del *mix* de la PCR

Esta mezcla contiene una serie de factores imprescindibles para que se produzca la amplificación “alelo específica” de la región del gen de Fc γ R111A que contiene el polimorfismo V158F. Se añadió el *primers reverse* (3'→ 5') correspondiente a cada alelo de Fc γ R111A-V158F, los *primers forward* y *reverse* del gen de la hormona de crecimiento (que actuaba como control interno de la técnica), nucleótidos (dNTP), cloruro de magnesio, agua bidestilada, la enzima Taq polimerasa (ECOTAQ) y su *buffer* específico junto con ADN del sujeto. Además, se añadió ADN de un control positivo VV y de otro FF lo que permitía la posterior lectura del gel por comparación. El *mix* se distribuía en 2 tubos de PCR, en uno se añadía *primer reverse* valina y al otro *primer reverse* fenilalanina. Todo este proceso se realizaba en una campana de flujo laminar para asegurar la pureza del ADN que era añadido.

■ Termociclador

Los tubos de PCR eran introducidos en el termociclador. Este aparato generaba de forma automática un patrón de temperaturas (que cambiaban en función del tiempo) necesario para que se produjese la amplificación del gen a estudio.

■ Sembrado en gel de agarosa

La electroforesis en gel de agarosa permitía visualizar el ADN que se había amplificado por PCR e identificarlo según su tamaño en pares de bases. Para preparar el gel se calentaba al microondas una dilución al 1% de agarosa en *buffer* TBE. Esta mezcla era vertida en una cubeta de metacrilato con unos peines adecuados que permitían generar unos pocillos para sembrar los ADN amplificados. Transcurridos 30', la agarosa adoptaba la consistencia de gel, y podía efectuarse el sembrado de las muestras a estudio mezclándolas con el colorante *Blue Juice* e introduciéndolas en los pocillos correspondientes. La

electroforesis se llevaba a cabo en una cubeta adecuada conteniendo *buffer* TBE durante 15' a 200 voltios. A ambos lados de la tira se depositaba un marcador de pares de bases (Ladder Plus) que permitía confirmar que el ADN amplificado correspondía, por su tamaño, con el gen a estudio. La corriente eléctrica desplazaba el ADN según su número de bases. El gel era fotografiado mediante un dispositivo Polaroid con filtro ultravioleta. La imagen permitía visualizar si se había amplificado el alelo V, el F o ambos.

2.4. Genotipación de Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIB-I187T

La genotipación de los polimorfismos bialélicos Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIB-I187T fue realizada mediante una PCR de secuenciación (PCR *sequence-based typing*; SBT):

■ PCR de amplificación

En primer lugar se realizó la amplificación mediante PCR de las regiones polimórficas de los genes a estudio. Para ello se preparó (en la campana de flujo laminar) un *mix* que contenía los *primers forward* y *reverse* de Fc γ RIIA o IIB, dNTP, la enzima Taq polimerasa (Taq 20kb) y su *buffer* específico. Al *mix* se le añadió ADN de cada paciente, un control positivo (el gen ya amplificado) y uno negativo (agua bidestilada). Los tubos eran introducidos en el termociclador con un programa específico y posteriormente se realizaba la siembra en un gel de agarosa, donde se verificaba la amplificación del gen a estudio mediante la observación de bandas a la misma altura que el control positivo.

■ EXO-SAP

Mediante la adición de esta enzima se conseguía purificar el ADN amplificado eliminando, por ejemplo, restos de *primers*. De nuevo, se introducían los tubos de PCR en el termociclador donde se ejecutaba un programa específico para la acción de la EXO-SAP.

■ PCR de secuencia

Antes de pasar al secuenciador automático, el gen amplificado debía ser marcado para hacer legible su secuencia. Se preparaba un nuevo *mix* que contenía *primer forward* Fc γ RIIA o IIB, agua bidestilada, terminador Big Dye y un *buffer* específico. Se añadía al *mix* las muestras de ADN amplificadas (previamente tratadas con la enzima EXO-SAP) y se

introducían los tubos en el termociclador donde se ejecutaba un programa específico.

■ **Elución en columnas**

El último paso antes de la secuenciación implicaba la elución del ADN marcado mediante columnas que contenían Sefadex (al 6% en agua bidestilada) El Sefadex es una sustancia porosa que sólo permite el paso de ADN. La columna se preparó con un tubo de 15ml de polipropileno en el que se introdujo una jeringa de insulina que contenía una bola de algodón en la punta. La jeringa era rellena con Sefadex. Después y, tras colocar un Eppendorf debajo de la jeringa, se introducía el ADN secuenciado en su parte superior. La solución, que se recogía, tras una centrifugación, pasaba al secuenciador automático.

■ **Secuenciador**

Este equipo permitía la lectura de las bases que componen la región amplificada de los genes $Fc\gamma RIIA$ o IIB según un código de colores. En el caso de $Fc\gamma RIIA$, el polimorfismo a estudio se encuentra entre la posición 120 y 130. Si la base que aparecía era adenina, el genotipo era HH, si en cambio se leía una guanina, el genotipo era RR. Para el $Fc\gamma RIIB$, el polimorfismo se encuentra entre la posición 220 y 230. Si se detectaba una citosina, el genotipo correspondía a II, si por el contrario se observaba una timina, el sujeto era TT. La presencia de dos picos en la posición del polimorfismo indicaba que el sujeto era heterocigoto.

2.5. Interpretación de los resultados

La **Figura 2.1** muestra el resultado de la secuenciación de los polimorfismos $Fc\gamma RIIA-H131R$ (a), $Fc\gamma RIIB-I187T$ (b) y la PCR 'alelo específica' de $Fc\gamma RIIB-V158F$ (c).

- (a) La flecha muestra la posición polimórfica a estudio en la que se observa un doble pico, lo que corresponde con un genotipo heterocigoto $Fc\gamma RIIA-HR131$.
- (b) La flecha indica la posición polimórfica a estudio en la que se observa un único pico de citosina (en azul), lo cual corresponde a un genotipo homocigoto $Fc\gamma RIIB-TT187$.
- (c) Gel de agarosa, fotografiado tras la electroforesis, que muestra la amplificación 'alelo específica' de $Fc\gamma RIIB-V158F$. El gel presenta 6 muestras, con 2 carriles por muestra. En la parte inferior del carril se observan las bandas correspondientes a las amplificaciones de $Fc\gamma RIIB-V158F$. La muestra número 1 presenta 2 bandas en cada carril, lo que significa que ese paciente

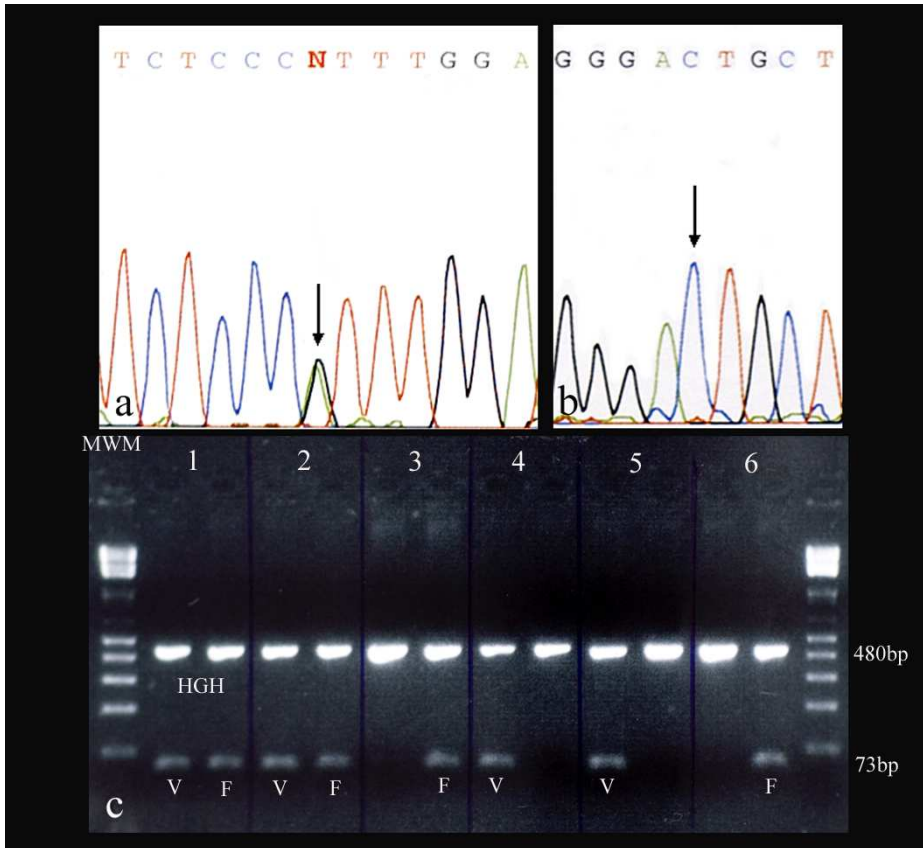


Figura 2.1: Detección de los polimorfismos de $Fc\gamma R$ a estudio.

presenta amplificación en las 2 PCR alelo-específicas, lo que corresponde a un sujeto heterocigoto. La muestra número 3 sólo presenta amplificación en la PCR correspondiente al alelo F, por lo que el paciente es homocigoto $Fc\gamma RIII A$ -FF158. Finalmente, la muestra número 5 presenta una banda en el carril correspondiente a la amplificación del alelo V, lo que corresponde con un sujeto homocigoto $Fc\gamma RIII A$ -VV158. Obsérvese la presencia de unas bandas en una región superior que corresponden a la amplificación del gen de la hormona de crecimiento, que actuaba como control de la técnica.

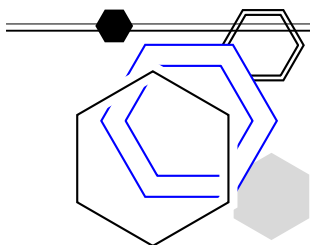
Análisis estadístico

Las variables cualitativas categóricas (p. ej., sexo del paciente, presencia de un determinado genotipo de los polimorfismos de Fc γ R, etc.) fueron definidas como 0 = ausente, 1 = presente.

Se emplearon los tests de ANOVA y de χ^2 para comparar la distribución de los genotipos del receptor Fc γ R entre los pacientes con PA y la población general. La relación entre los genotipos de Fc γ R y la gravedad del PA fue analizada mediante modelos de regresión (lineal o logística) que incluían variables explicativas epidemiológicas y clínicas.

En cuanto al estudio de polimorfismos de Fc γ R y tratamiento biológico en la psoriasis, las diferencias entre las frecuencias de los distintos genotipos y sus combinaciones en los grupos de respuesta, fueron analizadas mediante el test de la t de Student, la χ^2 o la correlación de Pearson, según las condiciones de aplicación. La posible influencia de variables clínicas en la respuesta terapéutica fue evaluada mediante modelos de regresión. Para la realización de todos los cálculos estadísticos de esta tesis se empleó el programa informático SPSS versión 17 (SPSS Inc, Chicago, EE.UU.) y se consideró *p* significativa aquella menor a 0.05.

V Resultados



Polimorfismos de Fc γ R en el PA

(Véase ANEXO A: artículo original aceptado para publicación científica²³⁶)

1.1. Análisis de los polimorfismos de Fc γ R en el PA vs. controles

En primer lugar, comparamos las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos de los distintos Fc γ R entre pacientes y controles para comprobar si alguno de estos polimorfismos actuaba como factor de susceptibilidad genético para el desarrollo del PA.

1.1.1. Frecuencias genotípicas

Las **Tablas 1.1, 1.2 y 1.3** muestran las frecuencias genotípicas de los polimorfismos de Fc γ RIIA, IIIA y IIB en pacientes con PA y en controles sanos. La comparación de las frecuencias se realizó con el test estadístico ANOVA. Las frecuencias genotípicas observadas en el grupo control estuvieron de acuerdo con el equilibrio de Hardy-Weinberg en todos los casos. El equilibrio de Hardy-Weinberg debe mantenerse en el grupo control ya que expresa su representatividad genética con respecto a la población de referencia.

Tabla 1.1: Comparación de las frecuencias genotípicas del polimorfismo Fc γ RIIA-H131R entre pacientes y controles. Equilibrio de Hardy-Weinberg: $\chi^2 = 0.0671$; $p = 0.9$

	PA ($n = 41$)	Controles ($n = 115$)	Valor de p
Genotipo	n(%)	n(%)	
HH	8 (19.5)	14 (12.2)	0.29
HR	18 (43.9)	52 (45.2)	
RR	15 (36.6)	49 (42.6)	

Tabla 1.2: Comparación de las frecuencias genotípicas del polimorfismo Fc γ RIIA-V158F entre pacientes y controles. Equilibrio de Hardy-Weinberg: $\chi^2 = 0.211$; $p = 2.7$

	PA ($n = 41$)	Controles ($n = 115$)	Valor de p
Genotipo	n(%)	n(%)	
VV	11 (26.8)	28 (24.3)	0.92
VF	17 (41.5)	55 (47.8)	
FF	13 (31.7)	32 (27.8)	

Tabla 1.3: Comparación de las frecuencias genotípicas del polimorfismo Fc γ RIIB-I187T entre pacientes y controles. Equilibrio de Hardy-Weinberg: $\chi^2 = 0.122$; $p = 0.802$

	PA ($n = 41$)	Controles ($n = 115$)	Valor de p
Genotipo	n(%)	n(%)	
II	33 (80.5)	93 (81,6)	

Continúa en la siguiente página. . .

Continúa...

IT	7 (17.1)	17 (14.9)	0.998
TT	1 (2.4)	5 (4.5)	

Como se puede observar, no se pudieron demostrar diferencias significativas entre pacientes con PA y controles en la frecuencia de los genotipos de los polimorfismos a estudio. Con respecto a Fc γ RIIB-I187T, la frecuencia del genotipo TT fue muy baja tanto en el grupo de PA (1 individuo) como en el grupo control (5 individuos). Esta baja frecuencia dificultó en gran medida los análisis estadísticos realizados, debido a la ausencia de potencia estadística para realizar las comparaciones. No obstante, nos llamó la atención que el único paciente con genotipo TT detectado presentaba un fenotipo muy grave y una evolución tórpida (véase **ANEXO B, artículo tipo ‘CASO CLÍNICO’ aceptado para publicación**). Se trataba de una mujer de 65 años que en el año 2000 acudió a nuestro hospital con un cuadro ampollosa generalizado. Desde hacía 2 años había venido presentando ampollas localizadas que desaparecían al aumentar la dosis de corticoides que recibía por un asma bronquial. La biopsia, la IFD y la IFI fueron compatibles con el diagnóstico de PA. Inicialmente, recibió corticoides orales a dosis de 1 mg/kg, pero, al reducir la dosis de los mismos, presentó un nuevo brote. En ese momento se detectaron niveles muy altos de anticuerpos anti-BP180 por ELISA (118 *index value*). La paciente continuaba presentando nuevas lesiones pese a la administración de prednisona (50 mg/24h) azatioprina (150 mg/24h) y doxiciclina (50 mg/24h). En 2001 recibió 2 infusiones de ciclofosfamida intravenosa (1 g/m²) combinada con ciclofosfamida oral (50 mg/24h) y 3 ciclos de recambio plasmático, lo cual permitió el control de la enfermedad. En ese momento, la ciclofosfamida fue sustituida por dapsona debido al desarrollo de toxicidad medular. Durante los siguientes 18 meses, la dosis de corticoides pudo ser reducida y finalmente los corticoides pudieron ser suspendidos. En ese momento, los niveles de anticuerpos anti-BP180 eran indetectables. En 2004 volvió a presentar una erupción ampollosa grave que fue controlada, en este caso, únicamente con prednisona oral. Desde 2006 la paciente está en remisión y no ha requerido tratamiento.

1.1.2. Frecuencias genotípicas agrupadas

En un intento de mejorar nuestra potencia estadística (más individuos por grupo que se compara) realizamos un análisis agrupando genotipos en función de su afinidad. Las **Tablas 1.4, 1.5 y 1.6** muestran los resultados de la comparación de la frecuencia de genotipos agrupados entre pacientes y controles para los 3 polimorfismos a estudio. La comparación se realizó en este caso con el test de χ^2 .

Tabla 1.4: Comparación de los genotipos agrupados entre pacientes y controles para el polimorfismo Fc γ R_{IIA}-H131R.

	PA (n = 41)	Controles (n = 115)	Valor de p	OR [†]	IC [‡]
Genotipos agrupados	n(%)	n(%)			
HH	8 (19.5)	14 (12.2)	0.25	1.75	[0.67-4.54]
HR+RR	33 (80.5)	101 (87.8)			
RR	15 (36.6)	49 (42.6)	0.50	0.78	[0.37-1.62]
HH+HR	26 (63.4)	66 (57.4)			

[†] OR: odds ratio; [‡] IC: intervalo de confianza.

Tabla 1.5: Comparación de genotipos agrupados entre pacientes y controles para el polimorfismo Fc γ R_{IIIA}-V158F.

	PA (n = 41)	Controles (n = 115)	Valor de p	OR [†]	IC [‡]
Genotipos agrupados	n(%)	n(%)			
VV	11 (26.8)	28 (24.3)	0.75	1.14	[0.51-2.56]
VF + FF	30 (73.2)	87 (75.7)			
FF	13 (31.7)	32 (27.8)	0.64	1.20	[0.56-2.61]
VV + VF	28 (68.3)	83 (72.2)			

[†] OR: odds ratio; [‡] IC: intervalo de confianza.

Tabla 1.6: Comparación de genotipos agrupados entre pacientes y controles para el polimorfismo Fc γ RIIB-I187T.

	PA (<i>n</i> = 41)	Controles (<i>n</i> = 115)	Valor de p	OR [†]	IC [‡]
Genotipos agrupados	n(%)	n(%)			
II	33 (80.5)	93 (81.6)	0.96	0.98	[0.4-2.4]
IT + TT	8 (19.5)	22 (19.1)			
TT	1 (2.4)	4 (3.5)	0.50	0.83	[0.5-1.39]
II + IT	40 (97.6)	111 (96.5)			

[†] OR: odds ratio; [‡] IC: intervalo de confianza.

No se observaron diferencias en las comparaciones entre genotipos agrupados entre pacientes y controles en ninguno de los polimorfismos estudiados.

1.1.3. Frecuencias alélicas

La **Tabla 1.7** muestra la comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos de Fc γ R entre pacientes y controles (test de χ^2).

Como se observa, no se pudieron detectar diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de pacientes y controles en ninguno de los polimorfismos a estudio.

Tabla 1.7: Comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos de Fc γ R entre pacientes y controles.

	PA (<i>n</i> = 82)	Controles (<i>n</i> = 230)	Valor de p	OR [†]	IC [‡]
Alelos	n(%)	n(%)			
H131R					
H	34 (41.5)	80 (34.8)	0.28	1.23	[0.85-1.79]
R	48 (58.5)	150 (65.2)			
V158F					
V	39 (47.6)	111 (48.3)	0.91	0.98	[0.68-1.42]
F	43 (53.4)	119 (52.7)			
I187T					
I	70 (85.4)	203 (88.3)	0.50	0.83	[0.5-1.39]
T	12 (14.6)	27 (11.7)			

[†] OR: odds ratio; [‡] IC: intervalo de confianza.

1.2. Análisis de los polimorfismos de Fc γ R en función de la gravedad del PA

En un intento de demostrar si alguna de las variantes genotípicas (aisladas o agrupadas) pudiera actuar como un factor modificador de enfermedad en el PA, analizamos la frecuencia de dichas variantes en función de la gravedad del PA. Se realizaron 2 modelos multivariantes: a) un modelo de regresión lineal utilizando como variante dependiente un índice de gravedad clínica adaptado del pénfigo vulgar aplicado en el momento de mayor severidad en el seguimiento; y b) un modelo de regresión logística definiendo gravedad como la necesidad de añadir tratamiento inmunosupresor frente al tratamiento con corticoides tópicos u orales de forma aislada.

1.2.1. Análisis multivariante

La **Tabla 1.8** muestra el modelo multivariante de regresión lineal realizado en el que como variantes explicativas (además de los polimorfismos de Fc γ R) se incluyeron factores clínicos que pudieran influir de modo independiente en la gravedad clínica.

Tabla 1.8: Modelo multivariante de regresión lineal diseñado para encontrar asociaciones entre los genotipos agrupados de Fc γ R y la gravedad del PA expresado como el ‘índice de gravedad clínica de Herbst-Bystryn’ adaptado para PA.

Variable explicativa	“Índice Herbst-Bystryn”	
	Coefficiente β	Valor de p
Fc γ RIIA (HR+RR vs. HH)	0.06	0.73
Fc γ IIIA (VF+FF vs. VV)	-0.21	0.22
Fc γ IIB FCGR2B (IT+TT vs. II)	0.09	0.56
Sexo	0.18	0.26
Edad de debut	-0.33	0.04
Seguimiento	-0.05	0.74

El modelo multivariante de regresión lineal no mostró asociación estadísticamente significativa entre los genotipos agrupados de Fc γ R y el índice de gravedad utilizado. Sin embargo, sí que se observó una correlación inversa significativa ($p=0.04$) entre la edad del paciente y una mayor puntuación en el índice de gravedad.

La **Tabla 1.9** muestra un modelo de regresión logística en el que la variable dependiente de gravedad era la necesidad de añadir tratamiento con inmunosupresores en algún momento de la evolución.

Tabla 1.9: Análisis multivariante de regresión logística diseñado para encontrar asociaciones independientes entre los polimorfismos de Fc γ R y la gravedad del PA, definida en función de la intensidad de la terapia utilizada (inmunosupresores adyuvantes vs. corticoides orales o tópicos aislados).

Variable explicativa	<i>Inmunosupresores vs. corticoides (aislados)</i>	
	OR [†] [IC [‡] 95 %]	Valor de p
Fc γ RIIA (HR+RR vs. HH)	0.5 [0.06-4.49]	0.54
Fc γ RIIA (VF+FF vs. VV)	7.41 [0.89-61.77]	0.058
Fc γ IIB FCGR2B (IT+TT vs. II)	0.51 [0.07-3.6]	0.5
Sexo	0.37 [0.08-1.64]	0.19
Edad de debut	0.97 [0.91-1.05]	0.46
Seguimiento	0.98 [0.95-1.01]	0.22

[†] OR: odds ratio; [‡] IC: intervalo de confianza

Este modelo multivariante de regresión logística mostró una asociación independiente (OR = 7.41) en el límite de la significación estadística (p = 0.058) del alelo de baja afinidad F (VF + FF) de Fc γ RIIA-V158F con el desarrollo de un PA grave definido como la necesidad de haber añadido tratamiento inmunosupresor en algún momento del seguimiento clínico.

Polimorfismos de $Fc\gamma R$ y respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis

2.1. Estudio descriptivo

La **Tabla 2.1** muestra las características de los pacientes a estudio.

La mayoría de pacientes con psoriasis que recibieron tratamiento con biológicos fueron varones (74.3 %) con una edad media de 45.8 años. Se trataba de un grupo de pacientes con un tiempo de evolución de la psoriasis largo (17.4 años de media). El fármaco anti-TNF- α más utilizado fue el etanercept (54.4 %), reflejando la tendencia general en el uso de biológicos del periodo a estudio (2007–2010). La mayoría de pacientes presentaron una buena respuesta clínica, con un 71.4 % alcanzando el PASI75 a las 12 semanas de tratamiento. El fármaco más eficaz fue el infliximab con un PASI75 del 93 %, mientras que etanercept presentó una eficacia menor (PASI75 = 67 %). Sólo un 7.6 % presentaron fracaso del tratamiento (PASI < 50).

Tabla 2.1: Características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con psoriasis vulgar moderada a grave a estudio.

	%	Media	Rango	Desviación estándar
Sexo				
Varón	74.3			
Mujer	25.7			
Edad		45.8	(22-80)	12.7
Edad de debut		26.2	(7-62)	13.7
Tiempo de evolución (años)		17.4	(3-37)	8.3
Tratamiento biológico				
Infliximab	20.6			
Etanercept	54.4			
Adalimumab	25			
Nº de ingresos		1.5	(0-6)	1.8
GENOTIPOS				
FcγRIIA				
HH	23.5			
HR	50			
RR	26.5			
FcγRIIIA				
VV	12.9			
VF	60			
FF	27.1			
PASI 75[†](global)	71.4			
Infliximab	93			

Continúa en la siguiente página...

Continúa...

Etanercept	67
Adalimumab	76
PASI<50[‡](global)	7.6
Infliximab	0
Etanercept	11
Adalimumab	12

[†] Porcentaje de pacientes que presentaron una mejoría de su PASI de al menos un 75% a las 12 semanas de tratamiento; [‡] porcentaje de pacientes que no presentaron una mejoría de su PASI de al menos un 50% a las 12 semanas de tratamiento.

Las **Figuras 2.1, 2.2 y 2.3**, muestran mediante diagrama de cajas la evolución del valor de PASI, BSA y PtGA en las 12 semanas de tratamiento con agentes biológicos.

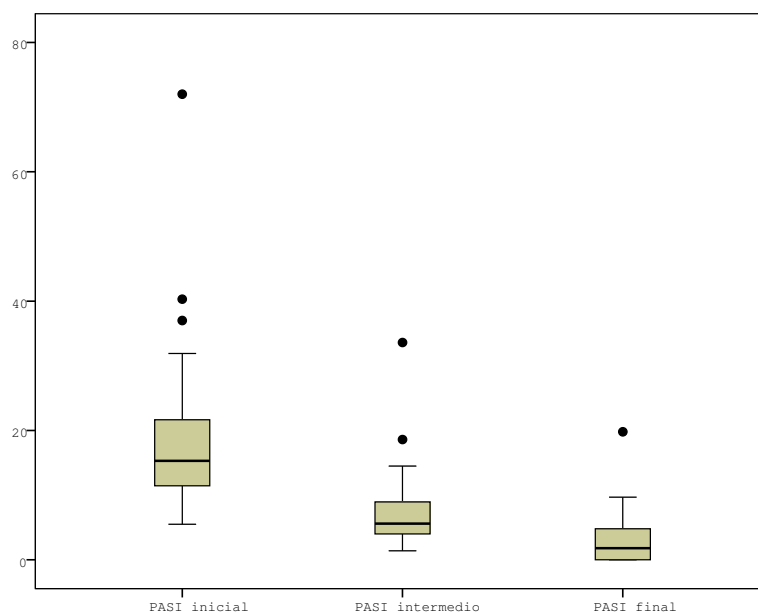


Figura 2.1: Evolución del PASI con el tratamiento biológico.

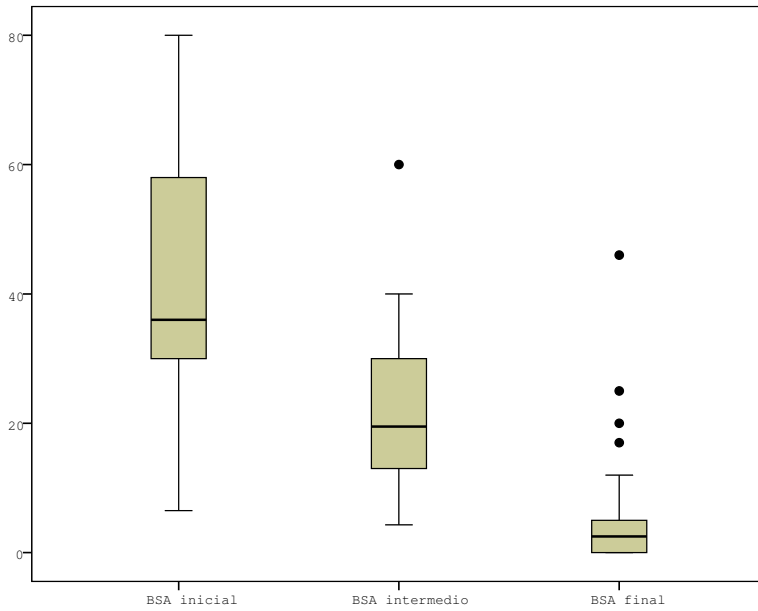


Figura 2.2: Evolución del BSA con el tratamiento biológico.

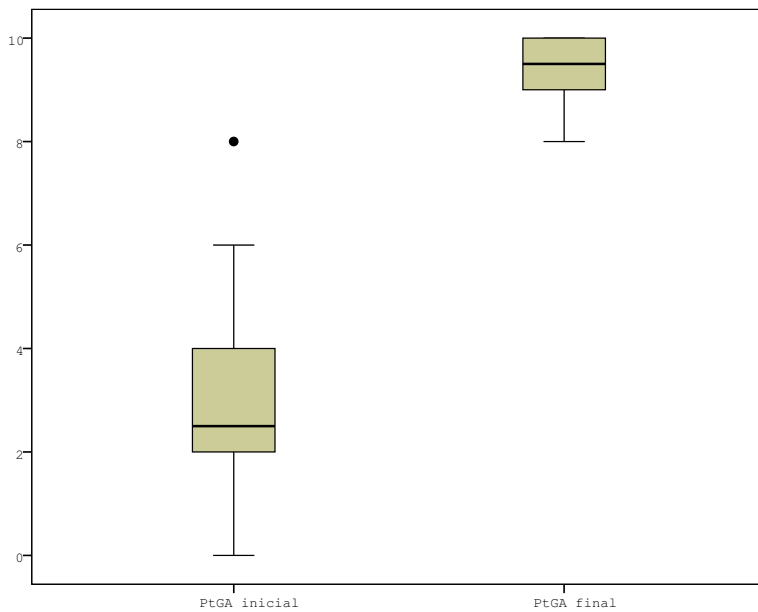


Figura 2.3: Evolución del PtGA con el tratamiento biológico.

Como se puede apreciar en estas figuras, la mayoría de pacientes experimentó una reducción sustancial del PASI y BSA con el tratamiento biológico. Además, como se observa en la **Figura 2.3**, la valoración subjetiva del tratamiento por parte del paciente fue muy buena en todos los casos.

2.2. Relación de los genotipos de Fc γ R con la respuesta a biológicos

2.2.1. Análisis bivalente

La **Tabla 2.2** muestra la distribución de los genotipos agrupados de Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIIA-V158F en función de diferentes variables que expresan grado de respuesta al tratamiento a las 12 semanas.

Tabla 2.2: Análisis bivalente en el que se compara la frecuencia de los genotipos agrupados de los polimorfismos de Fc γ RIIA y Fc γ RIIIA en función del grado de respuesta a un ciclo de 12 semanas de terapia anti-TNF- α .

	Fc γ RIIA-H131R		Valor de p	Fc γ RIIIA-V158F		Valor de p
	HH+HR	RR		VV+VF	FF	
PASI75 (%)	70.8	82.4	0.523	69.4	88.9	0.126
% mejoría del PASI	78.5	86.3	0.194	79.2	86.0	0.250
<PASI50 (%)	13 %	0 %	0.178	12.5 %	0 %	0.327
% mejoría del BSA	76.5	78.7	0.796	73.8	82.6	0.296
PtGA inicial	3	2.57	0.668	3.09	2.6	0.602
PtGA final	9.23	9.57	0.343	9.2	9.5	0.382

El análisis bivalente a las 12 semanas de tratamiento mostró, en general, una mejor respuesta en aquellos pacientes con genotipo de baja afinidad para los 2 polimorfismos a estudio. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros analizados.

Las **Figuras 2.4** y **2.5** muestran la evolución de los valores medios de PASI y BSA, respectivamente, en función de los genotipos agrupados de $Fc\gamma RIIA-H131R$.

Como se puede observar en la **Figura 2.4**, no se detectaron diferencias significativas en el valor medio de PASI entre los genotipos agrupados de $Fc\gamma RII-H131R$ en ninguno de los puntos temporales de estudio.



Figura 2.4: Evolución temporal del PASI según los genotipos agrupados de $Fc\gamma RIIA-H131R$.

La **Figura 2.5** muestra una diferencia estadísticamente significativa en el valor medio del BSA ($RR = 29.9$ vs. $HH + HR = 17.4$; $p = 0.006$) en el punto intermedio del tratamiento (6–8 semanas). Sin embargo, esta diferencia fue compensada al final del tratamiento por el grupo RR, no observándose diferencias a la semana 12 de tratamiento.

Las **Figuras 2.6** y **2.7** muestran la evolución de los valores medios de PASI y BSA, respectivamente, en función de los genotipos agrupados de $Fc\gamma RIIIA-V158F$.

No hubo diferencias significativas en el valor medio de PASI en ninguno de los momentos evolutivos del tratamiento entre los genotipos agrupados de $Fc\gamma RIIIA-V158F$.

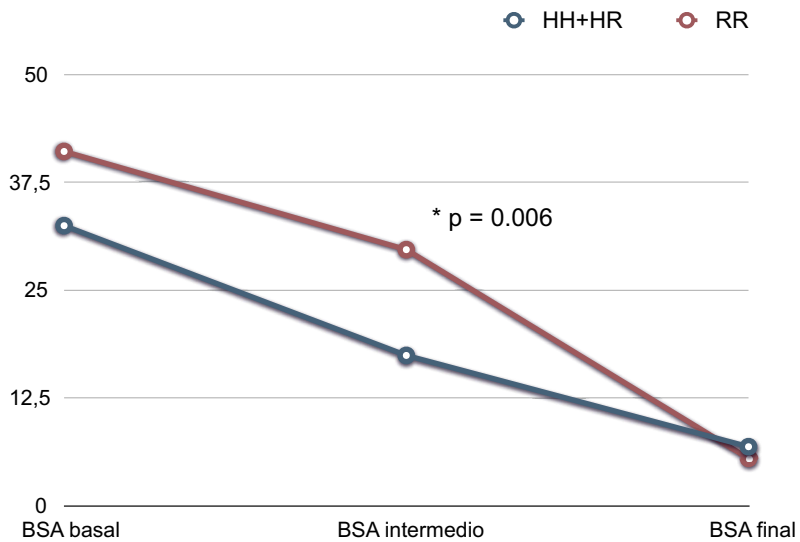


Figura 2.5: Evolución temporal del BSA según los genotipos agrupados de Fc γ RIIA-H131R.

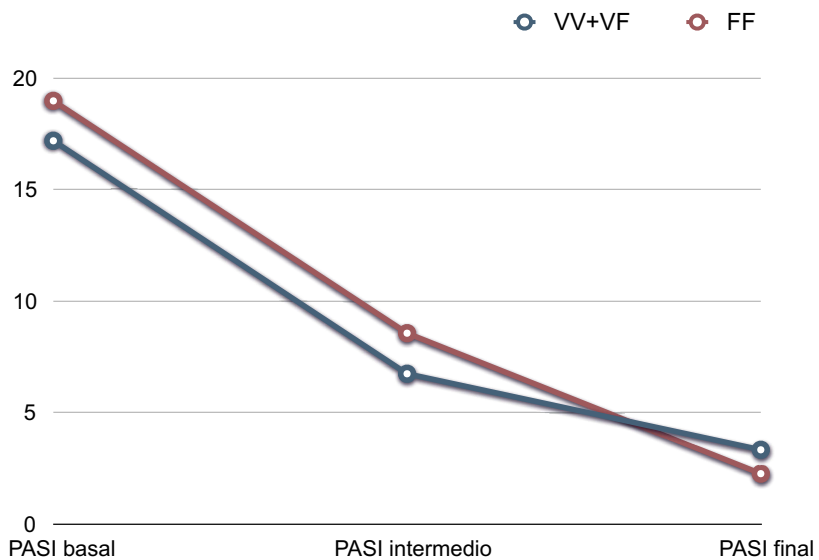


Figura 2.6: Evolución temporal del PASI según los genotipos agrupados de Fc γ RIIIA-V158F.

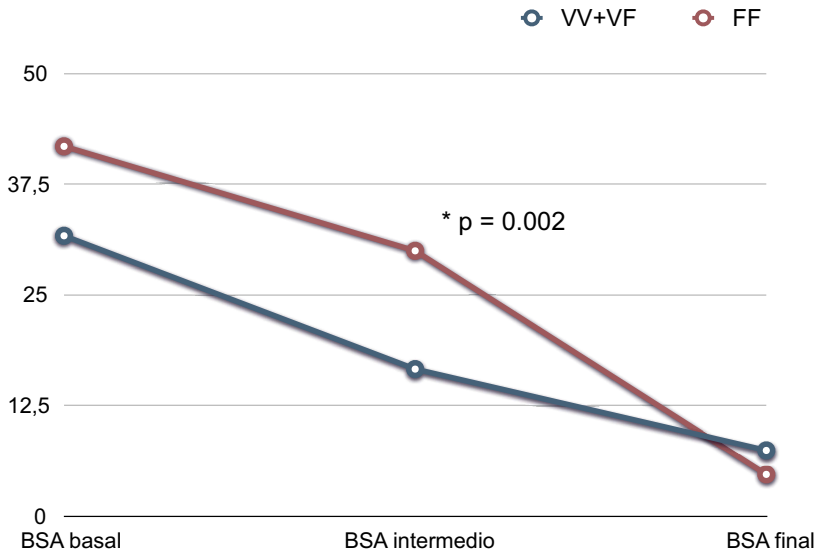


Figura 2.7: Evolución temporal del BSA según los genotipos agrupados de $Fc\gamma RIII A-V158F$.

La **Figura 2.7** muestra una diferencia estadísticamente significativa entre $VV + VF$ y FF en el valor medio del BSA intermedio ($VV + VF = 16.6$ vs. $FF = 30$; $p = 0.002$). Al igual que en el caso de $Fc\gamma RII A-H131R$, el genotipo de baja afinidad (FF) recupera la diferencia e incluso mejora el valor de BSA del otro grupo ($VV + VF$) al final del tratamiento.

En ambos polimorfismos, observamos un patrón de respuesta similar para la evolución del BSA. Inicialmente, hay una respuesta más rápida en los genotipos de alta afinidad. Sin embargo, desde el punto intermedio, se observa una mayor mejoría de los genotipos de baja afinidad, para llegar al final del tratamiento sin diferencias significativas entre genotipos.

La **Figura 2.8** muestra las diferencias en cuanto a porcentaje de mejoría del BSA desde el punto intermedio hasta el final de tratamiento para los genotipos agrupados de los polimorfismos de $Fc\gamma R$.

Los genotipos de baja afinidad de ambos polimorfismos presentaron un mayor porcentaje de mejoría en el valor de BSA en la segunda parte del tratamiento. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas desde el punto de vista estadístico.

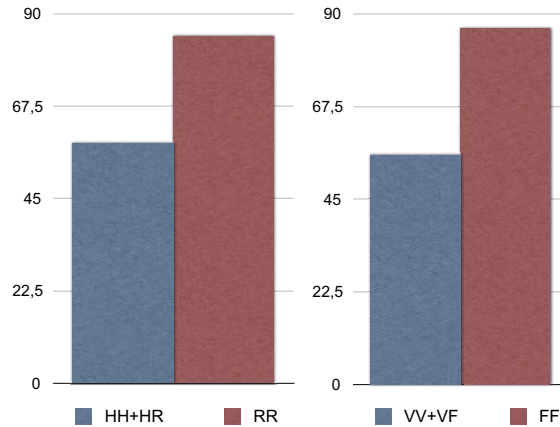


Figura 2.8: Gráfico de barras que muestra el porcentaje de mejoría del BSA de cada genotipo correspondiente al periodo comprendido entre las semanas 6–8 y 12 de tratamiento.

En conclusión, el análisis bivariante de la respuesta a tratamiento biológico en función de los genotipos agrupados de los polimorfismos de Fc γ R muestra una mejor respuesta a la semana 12 de tratamiento (PASI75) para los genotipos de baja afinidad RR y FF. Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Por otra parte, el análisis cronológico de la respuesta a tratamiento muestra que los genotipos de alta afinidad de ambos polimorfismos presentaron una respuesta más rápida en términos de BSA. Sin embargo, al final del tratamiento, no se observaron diferencias en el PASI o BSA en los polimorfismos a estudio.

2.2.2. Análisis multivariante

El análisis bivariante mostró significación estadística en el valor intermedio del BSA para los 2 polimorfismos a estudio. El objetivo del análisis multivariante fue explorar si la asociación entre los genotipos de alta afinidad y la respuesta más rápida a tratamiento biológico era independiente o si, por el contrario, era dependiente de otros factores que pudieran influir sobre la eficacia del tratamiento (p. ej., tipo de tratamiento biológico, edad, sexo...). Además, los modelos multivariantes realizados incluyeron como variable explicativa el BSA inicial para excluir que un mayor valor de BSA inicial en alguno de los grupos pudiera explicar la diferencia observada en el BSA intermedio independientemente del efecto de los polimorfismos.

Las **Tablas 2.3, 2.4 y 2.5** muestran los modelos multivariantes de regresión lineal realizados.

La **Tabla 2.3** muestra una asociación estadísticamente significativa entre el grupo de alta afinidad HH+HR y un mejor valor de BSA intermedio, independientemente del tipo de tratamiento biológico utilizado y el valor de BSA inicial.

Tabla 2.3: Modelo multivariante de regresión lineal que incluye como variable explicativa a Fc γ R1IA-H131R.

<i>BSA intermedio</i>		
<u>Variable explicativa</u>	<u>Coefficiente β</u>	<u>Valor de p</u>
Edad	-0.05	0.67
Sexo	-0.17	0.20
Tratamiento biológico [†]	0.41	0.01
BSA inicial	0.45	0.003
Fc γ R1IA (HR+RR vs. HH)	0.52	0.002

[†] Tratamiento biológico expresado en función de la eficacia (1 = infliximab, 2 = adalimumab, 3 = etanercept)

Tabla 2.4: Modelo multivariante de regresión lineal que incluye como variable explicativa a Fc γ R1IIA-V158F.

<i>BSA intermedio</i>		
<u>Variable explicativa</u>	<u>Coefficiente β</u>	<u>Valor de p</u>
Edad	-0.10	0.47
Sexo	-0.13	0.35
Tratamiento biológico [†]	0.30	0.048
BSA inicial	0.42	0.010
Fc γ R1IIA (VV+VF vs. FF)	0.46	0.007

[†] Tratamiento biológico expresado en función de la eficacia (1 = infliximab, 2 = adalimumab, 3 = etanercept)

Como se puede apreciar en la **Tabla 2.4**, el grupo de alta afinidad VV + VF también mantuvo la significación estadística en el análisis multivariante.

En los 2 modelos se observa un efecto independiente de los genotipos de alta afinidad sobre el BSA intermedio. En un intento de evaluar conjuntamente ambos polimorfismos, creamos una nueva variable que expresara la afinidad global del haplotipo Fc γ RIIA-H131R/Fc γ RIIIA-V158F, de modo que se estableció un índice de afinidad en función del número de alelos de alta afinidad del haplotipo. La **Tabla 2.5** muestra el modelo multivariante incluyendo este índice de afinidad de haplotipo.

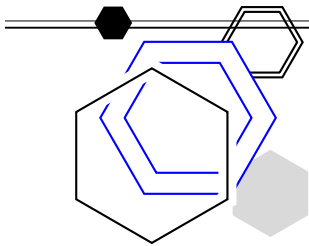
Tabla 2.5: Modelo multivariante de regresión lineal que incluye como variable explicativa un índice de afinidad de haplotipo que corresponde al sumatorio de los alelos de alta afinidad de Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIIA-V158F

Variable explicativa	<i>BSA intermedio</i>	
	Coefficiente β	Valor de p
Edad	-0.05	0.7
Sexo	-0.15	0.29
Tratamiento biológico [†]	0.31	0.047
BSA inicial	0.40	0.014
Índice de afinidad de haplotipo	-0.43	0.011

[†] Tratamiento biológico expresado en función de la eficacia (1 = infliximab, 2 = adalimumab, 3 = etanercept)

Se observó que existía una asociación inversa entre el índice de afinidad del haplotipo y el valor de BSA intermedio, lo que quiere decir que a mayor presencia de alelos de alta afinidad en el haplotipo, menor valor de BSA intermedio. Este resultado apunta hacia la posibilidad de que ambos polimorfismos actúen de un modo conjunto desde un punto de vista farmacodinámico o farmacocinético en el punto intermedio del tratamiento.

VI Discusión



El principal objetivo de los estudios que conforman esta tesis doctoral fue determinar la relevancia clínica de los polimorfismos de $Fc\gamma R$ en dos escenarios plausibles desde el punto de vista inmunológico, como son la patogenia del PA y la respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis. A continuación se discuten los resultados más relevantes de los estudios realizados.

Polimorfismos de $Fc\gamma R$ en la población española

Gracias a la existencia de un grupo control en el estudio de PA, procedente de donantes de sangre sanos, se pudo realizar la determinación de las frecuencias de los genotipos de $Fc\gamma RIIA-H131R$, $Fc\gamma RIIIA-V158F$ y $Fc\gamma RIIB-I187T$ en la población española del área geográfica a estudio (Barcelona).

Las prevalencias de los genotipos de $Fc\gamma RIIA-H131R$, $Fc\gamma RIIIA-V158F$ en la población española han sido comunicadas en estudios previos y, en líneas generales, son concordantes con nuestros resultados.^{8,237-240} Sin embargo, nuestro estudio es el primero en reportar los datos de frecuencia genotípica de $Fc\gamma RIIB-I187T$ en España.

Hemos detectado una baja frecuencia para los genotipos heterocigotos ($IT = 14.9\%$) y homocigoto ($TT = 4.5\%$) para la variante funcional de $Fc\gamma RIIB-I187T$ en nuestro medio. La frecuencia alélica de T también fue baja ($T = 11.7\%$).

La **Tabla 1.1** muestra las frecuencias genotípicas reportadas para diferentes poblaciones caucásicas europeas.

Tabla 1.1: Frecuencias genotípicas de Fc γ RIIB-I187T en la población caucásica europea.

Genotipo	País			
	España (Presente estudio)	Reino Unido ⁶⁷	Suecia ²⁴¹	Holanda ²⁴²
II	81.6 %	81 %	75 %	79.7 %
IT	14.9 %	18 %	23 %	19.6 %
TT	4.5 %	1 %	2 %	0.7 %

No obstante, la frecuencia observada del genotipo TT fue algo mayor en nuestro medio si la comparamos con la de otros países europeos. La frecuencia observada en nuestra muestra estaría más próxima a las reportadas en zonas geográficas donde la malaria es endémica como África o el Sudeste Asiático (TT = 5–11 %).⁸⁰

Estudios *in vitro*¹⁰⁰ e *in vivo*⁶⁸ han demostrado que el genotipo TT es protector frente a la malaria. La elevada presencia del genotipo TT en áreas endémicas de malaria sugiere que la variante funcional de Fc γ RIIB podría ser un factor inmunogenético que proporcionaría ventaja en la supervivencia frente a esta enfermedad.⁸⁰ Es posible que la distribución de genotipos observada en nuestra muestra refleje, de algún modo, la endemidad de malaria que hubo en España hasta mediados del siglo XX,²⁴³ o incluso la exposición actual de nuestro medio a corrientes migratorias procedentes de África.

Polimorfismos de Fc γ R como marcadores de penfigoide ampolloso

Teniendo en cuenta el papel central de los Fc γ R en la patogenia del PA, hemos comparado la distribución de polimorfismos con relevancia funcional de diferentes tipos de Fc γ R entre pacientes con PA y un grupo control.

No hemos encontrado diferencias significativas entre pacientes y controles ni en la distribución de las frecuencias genotípica, los genotipos agrupados o frecuencias alélicas en ninguno de los polimorfismos a estudio.

No obstante, Weisenseel et al,²⁴⁴ observaron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con PA y controles en relación a Fc γ R111A-V158F. Los autores estudiaron 67 pacientes con PA y 87 controles, todos ellos caucásicos, y observaron una mayor frecuencia del genotipo FF en pacientes vs. controles (58.2% vs. 28.4%; $p = 0.001$, OR = 3.51), sin que se detectaran diferencias en el resto de genotipos. Nosotros no hemos podido reproducir estos resultados, que apuntan hacia un papel del genotipo de baja afinidad de Fc γ R111A-V158F como marcador de susceptibilidad de PA. La técnica de detección genética fue similar a la de nuestro estudio, ya que también se realizó una PCR alelo-específica. Es posible que las diferencias en los resultados de ambos estudios sean consecuencia

de una menor potencia estadística en nuestro estudio (41 pacientes con PA).

En cuanto a Fc γ RIIB-I187T, no hemos podido detectar diferencias entre grupos debido en parte a la baja incidencia del alelo T. No obstante, en el grupo de PA encontramos que el único individuo portador del genotipo TT había presentado una evolución inusualmente grave. Dada la rareza del genotipo TT, el papel fundamental de Fc γ RIIB en la iniciación y mantenimiento de respuestas autoinmunitarias y la evolución atípicamente grave y crónica de esta paciente, hipotetizamos que, en este caso concreto, el fenotipo grave y atípico de la paciente podría haber estado influido por el genotipo homocigoto de la variante funcional TT, que habría favorecido la producción sostenida de autoanticuerpos en ausencia de un mecanismo supresor.

Polimorfismos de Fc γ R como modificadores de penfigoide ampolloso

En una segunda fase del estudio de PA, intentamos demostrar un papel modificador de los polimorfismos de Fc γ R en el fenotipo del PA. Para ello comparamos mediante modelos multivariantes la distribución de genotipos agrupados en función de la gravedad del PA utilizando para ello distintas definiciones de gravedad.

En un modelo de regresión logística que utilizaba como variable dependiente la necesidad de haber añadido tratamiento inmunosupresor en algún momento de la evolución (vs. administración únicamente de corticoides tópicos u orales), encontramos una asociación en el límite de la significación estadística ($p = 0.058$) entre la presencia del alelo F (VF + FF) y el desarrollo de un PA grave. Desde el punto de vista estadístico, si bien no se puede hablar de significación estadística, este modelo multivariante muestra una tendencia clara e independiente que, probablemente con la inclusión de más pacientes, podría haber alcanzado el grado de significancia establecido por consenso ($p < 0.05$).

Desde el punto de vista inmunopatológico, nuestro resultado está en la línea de los previamente comentados de Weisenseel et al, donde era el genotipo de baja afinidad FF el asociado a PA. Los resultados observados nos llevaron a

replantearnos nuestra hipótesis inicial, en la que presuponíamos un papel para los genotipos y alelos de alta afinidad de los Fc γ R activadores en las células efectoras involucradas en la formación de ampollas. Es posible que en estas células efectoras (principalmente neutrófilos) la presencia de polimorfismos de alta afinidad en los Fc γ R no sea determinante, sino que el factor más importante sea la densidad de Fc γ R activadores en la membrana plasmática.

Es posible que los genotipos de baja afinidad de Fc γ R actúen a otro nivel en la patogenia del PA. La presencia de alelos de baja afinidad de Fc γ R en el SRE podría favorecer una menor eliminación de autoanticuerpos del torrente sanguíneo que podrían estar disponibles para depositarse en la membrana basal para activar más complemento. El complemento es uno de los principales sistemas reguladores de la expresión de Fc γ R, de modo que C5a aumenta la expresión de Fc γ R activadores.³⁸ Nosotros hipotetizamos, por tanto, que el alelo de baja afinidad de Fc γ RIIIA-V158F podría desempeñar un papel modificador del fenotipo del PA a través de un mecanismo indirecto, favoreciendo una mayor expresión de Fc γ R en la membrana de las células efectoras que entran en contacto con la región Fc de los anticuerpos anti-BP180 en el foco inflamatorio, lo cual intensificaría las acciones inmunológicas derivadas de dicha interacción (p.ej., liberación de enzimas proteolíticas) produciendo un fenotipo más grave.

Polimorfismos de $Fc\gamma R$ como predictores de respuesta en el tratamiento biológico de la psoriasis

Dado que los tratamientos biológicos utilizados en la psoriasis consisten en anticuerpos monoclonales o proteínas de fusión que contienen el fragmento Fc, y por tanto existirá una interacción con el sistema de $Fc\gamma R$ a diferentes niveles in vivo, hemos explorado si los polimorfismos de $Fc\gamma R$ predicen de algún modo el grado respuesta a dichos tratamientos biológicos. Cabe destacar que no existe ningún estudio publicado previo en el que se haya estudiado el papel farmacogenético de estos polimorfismos en el tratamiento biológico de la psoriasis.

Hemos analizado una cohorte de 70 pacientes caucásicos con psoriasis moderada a grave sometidos por primera vez a tratamiento anti-TNF- α y hemos evaluado su respuesta terapéutica mediante diferentes índices validados en distintos puntos temporales.

Al correlacionar la respuesta terapéutica con el principal índice de eficacia (PASI75), así como otros secundarios (porcentaje de mejoría de PASI y BSA,

así como PASI<50) hemos detectado que los pacientes con genotipos de baja afinidad RR y FF presentaron una mayor probabilidad de éxito terapéutico a la semana 12. Sin embargo, estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas. No obstante, este resultado está en consonancia con los de la mayoría de estudios que han evaluado el papel de los polimorfismos de Fc γ R en la respuesta a terapia anti-TNF- α en patología reumatológica. Tutuncu et al,¹¹⁹ observaron en 2005 una mejor respuesta a infliximab, etanercept o adalimumab en artritis reumatoide o artritis psoriática en aquellos pacientes portadores del genotipo de baja afinidad Fc γ R_{IIIA}-FF158. Los autores hipotetizaron que una menor eliminación del fármaco a través de fagocitos con Fc γ R de baja afinidad podría aumentar la vida media del agente biológico y por tanto su eficacia. Más recientemente, Cañete et al,¹¹ detectaron de nuevo una asociación entre los genotipos de baja afinidad de Fc γ R_{IIA}-H131R y Fc γ R_{IIIA}-V158F y una mejor respuesta en pacientes con artritis reumatoide tratados con infliximab. Dicha respuesta fue evaluada con parámetros objetivos de afectación articular como los de la ACR y EULAR. Así, los individuos FF presentaron una mejor respuesta tras 6 semanas de tratamiento, mientras que los pacientes RR experimentaron mejor evolución en la semana 20. Los resultados de este estudio también sugieren que aquellos individuos con genotipos de baja afinidad eliminarían menos eficazmente el infliximab de la circulación y, por tanto, presentarían una mejor respuesta. Finalmente, Morales-Lara et al,¹²⁰ estudiaron la influencia de Fc γ R_{IIIA}-V158F en la respuesta a infliximab en pacientes con artritis reumatoide, artritis psoriática y espondilitis anquilosante. Los autores confirmaron los resultados de Cañete et al,¹¹ en lo que respecta a artritis reumatoide (mejor respuesta entre pacientes FF) y además detectaron que la presencia del alelo V se relacionaba con una mejor respuesta a infliximab en pacientes con espondilitis anquilosante. Teniendo en cuenta todos estos resultados, es posible que la influencia de los polimorfismos de Fc γ R en la respuesta a fármacos anti-TNF- α dependa de factores diversos como diferencias moleculares en el tipo de patología y el momento en el esquema de tratamiento.

Basándonos en resultados de estudios previos, en los que se había observado un comportamiento dinámico en el tiempo de los polimorfismos de Fc γ R con respecto a la respuesta terapéutica a fármacos anti-TNF- α ,¹¹ intentamos analizar el efecto de los polimorfismos de Fc γ R en diferentes momentos del tratamiento. Observamos que la presencia de alelos de alta afinidad de ambos polimorfismos se asociaba de un modo estadísticamente significativo, con un menor BSA en el punto intermedio del tratamiento. Esta asociación se mantuvo en el estudio multivariante donde los alelos de alta afinidad de cada polimorfismo se asociaron a un menor BSA independientemente del tratamiento biológico utilizado o el BSA inicial, entre otros factores. Dado que los alelos de alta afinidad de Fc γ R_{IIA}-H131R y Fc γ R_{IIIA}-V158F parecían actuar del mismo modo y en el mismo punto

temporal, decidimos analizarlos de manera conjunta. Debido a que contábamos con una muestra insuficiente para realizar un análisis por haplotipos, establecimos un índice de afinidad por haplotipo que fuera el resultado de la suma de alelos de alta afinidad del haplotipo. Este índice también se asoció de forma significativa a un menor BSA en el punto intermedio en el análisis multivariante.

Desde un punto de vista inmunológico, estos resultados en el punto intermedio podrían explicarse por una mayor eliminación, vía ADCC, de células patogénicas que expresasen TNF- α en su membrana, favorecida por la presencia de Fc γ RIIA y Fc γ RIIIA de alta afinidad en diferentes tipos celulares como células NK, neutrófilos o macrófagos. Nuestros resultados apuntan, por tanto, hacia un efecto farmacodinámico de los polimorfismos de Fc γ R en el momento intermedio de la terapia anti-TNF- α en la psoriasis.

Sin embargo, es muy llamativo como en el periodo comprendido desde el punto intermedio hasta la semana 12 de tratamiento, los pacientes que experimentaban mayor mejoría eran aquellos portadores de genotipos de baja afinidad RR y FF. De hecho, cuando analizamos los resultados al final del tratamiento, son estos genotipos los que ofrecían unos mejores resultados, como se ha comentado anteriormente.

No descartamos que tras una saturación del efecto farmacodinámico, se establezca un efecto farmacocinético de los polimorfismos de Fc γ R, en virtud del cual, aquellos individuos con genotipos de baja afinidad presenten una menor eliminación de anticuerpos terapéuticos que se traduzca en una mejor respuesta clínica. Es posible incluso, que los genotipos de baja afinidad de Fc γ R induzcan respuestas más favorables más allá de la semana 12 de tratamiento. Estudios futuros que incluyan más pacientes, analicen fármacos anti-TNF- α por separado o extiendan el seguimiento podrían demostrar de una manera estadísticamente significativa este efecto farmacocinético tardío de los genotipos de baja afinidad que nuestros resultados parecen apuntar.

En conclusión, hemos estudiado y demostrado por primera vez una influencia de los genotipos de alta afinidad Fc γ RIIA-H131 y Fc γ RIIIA-V158F en la respuesta a tratamiento biológico en la psoriasis. El efecto parece ser conjunto y tienen lugar en la primera mitad del tratamiento y podría responder a una mayor eliminación de células patogenéticamente relevantes.

Implicaciones clínicas

5.1. En el penfigoide ampolloso

El PA es una patología que conlleva una importante morbimortalidad en los pacientes que la padecen. Aunque muchos de los pacientes con PA presentan un buen control de su enfermedad con ciclos relativamente cortos de corticoides orales, otros presentan una evolución crónica donde es habitual que se vayan introduciendo fármacos inmunosupresores para controlar la enfermedad o para disminuir la dosis de corticoides.

Actualmente no disponemos de ningún factor pronóstico que pueda predecir que un paciente vaya a presentar una evolución tórpida con desarrollo de recurrencias y necesidad de recibir tratamiento inmunosupresor. Generalmente, y a diferencia del pénfigo, el clínico inicia tratamiento con corticoides tópicos u orales y sólo introduce los inmunosupresores en casos de refractariedad o recurrencia de la enfermedad. Hemos encontrado una marcada asociación entre la presencia del alelo de baja afinidad F del polimorfismo $Fc\gamma RIIIA-V158F$ y la necesidad de añadir tratamiento inmunosupresor en la evolución clínica. Los pacientes con estos genotipos podrían presentar un fenotipo más grave, con lo que se beneficiarían de la introducción temprana de un inmunosupresor, lo cual evitaría el uso prolongado

de dosis altas de corticoides y de la morbilidad que esto conlleva, un hecho especialmente relevante en el tipo de paciente que habitualmente padece PA.

También, y aunque a título anecdótico, hemos encontrado que el genotipo TT del polimorfismo Fc γ RIIB-I187T podría asociarse a formas inusualmente graves de PA en nuestro medio.

5.2. En la psoriasis

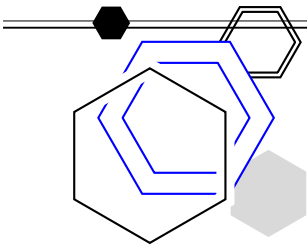
En el contexto sanitario español y por los factores farmacoeconómicos comentados previamente, el tratamiento biológico de la psoriasis es un tema de especial relevancia. La eficiencia de estas terapias se ve notablemente menoscabada por la existencia de fracasos terapéuticos. Es por tanto esencial, poder disponer de marcadores farmacogenéticos que puedan predecir el éxito de estos tratamientos para poder realizar una mejor gestión de los recursos de los sistemas de salud.

En este sentido, nosotros hemos demostrado que los portadores de las variantes de alta afinidad de los polimorfismos de Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIIA-V158F, se comportan como respondedores rápidos, presentando una mejor respuesta en el punto intermedio de tratamiento. Sin embargo, no hemos conseguido detectar ningún factor genético que influya significativamente en la respuesta final a terapia anti-TNF- α .

Nuestros resultados, no obstante, podrían ayudar al clínico en la toma de decisiones. Dado que la presencia de alelos de alta afinidad predeciría una respuesta más rápida, esto podría ser especialmente útil a la hora de decidir si se inicia o no una terapia anti-TNF- α en un paciente con una forma grave de psoriasis que necesitase una respuesta precoz.

Creemos que nuestro estudio piloto puede abrir las puertas a la realización de nuevos estudios en este campo que pudiesen definir mejor el papel de estos polimorfismos en los pacientes psoriásicos tratados con fármacos biológicos.

VII Conclusiones





Conclusiones

1. Hemos detectado una mayor prevalencia para la variante funcional en homocigosis TT del polimorfismo Fc γ RIIB-I187T en la población española en comparación con otras poblaciones caucásicas europeas. Es la primera vez que se ha estudiado este polimorfismo en nuestro medio.
2. No hemos encontrado diferencias significativas entre pacientes con PA y controles sanos con respecto a los genotipos, genotipos agrupados y frecuencias alélicas de los polimorfismos de Fc γ R. Por tanto, no hemos podido demostrar que estos polimorfismos sean factor de susceptibilidad a PA como se había sugerido previamente en la literatura.
3. Hemos detectado una asociación independiente en el límite de la significación estadística entre la presencia del alelo de baja afinidad F de Fc γ RIIA-V158F y un fenotipo de PA más grave definido como la necesidad de añadir tratamiento inmunosupresor en el seguimiento.
4. Hemos detectado un único caso de PA con genotipo homocigoto de la variante funcional TT de Fc γ RIIB-I187T que, curiosamente, presentaba un fenotipo especialmente grave con numerosas recaídas y necesidad de tratamiento inmunosupresor prolongado e incluso recambio plasmático. Es posible que el fenotipo de esta paciente haya estado influido por el genotipo TT, de modo que la existencia de una deficiencia en Fc γ RIIB haya favorecido una mayor producción de autoanticuerpos a lo largo de la evolución.

5. A nivel práctico, los pacientes con PA portadores del alelo F de Fc γ RIIIA-V158F, podrían beneficiarse de la introducción temprana de fármacos inmunosupresores en combinación con corticoides, lo cual podría favorecer un mejor control clínico y la administración de menos corticoides orales en el seguimiento.
6. Hemos explorado el posible papel de los polimorfismos de Fc γ R en la terapia anti-TNF- α en la psoriasis y hemos observado una influencia conjunta de los alelos de alta afinidad de Fc γ RIIA-H131R y Fc γ RIIIA-V158F en mitad del tratamiento. Los pacientes con haplotipos con más alelos de alta afinidad presentaron valores de BSA inferiores a las 6-8 semanas de tratamiento.
7. Estos resultados pueden ser explicados por la existencia de un efecto farmacodinámico consistente en una mayor eliminación vía ADCC de células patogénicas con TNF- α en su membrana a nivel de la placa psoriásica.
8. La presencia de alelos de alta afinidad en el haplotipo Fc γ RIIA/ Fc γ RIIIA confiere una mayor probabilidad de respuesta rápida a terapia anti-TNF- α , lo cual podría ser de utilidad a la hora de tomar decisiones clínicas.
9. Finalmente, dado que las hipótesis de los estudios que conforman esta tesis están conectadas íntimamente con la inmunopatología de las enfermedades a estudio, y de que se trata de estudios preliminares en los escenarios que se plantean, pensamos que nuevos estudios que intentaran superar las limitaciones de los nuestros (índole prospectivo, mayor número de participantes, análisis de fármacos por separado, etc.), son pertinentes, no sólo para aumentar la comprensión de la patogenia de estas enfermedades, sino también para conseguir marcadores genéticos que ayuden al clínico a mejorar el modo en que trata a los pacientes que sufren estos procesos.

VIII Bibliografía





Bibliografía

- 1 Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fcgamma receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol* 2008; **8**: 34–47.
- 2 Ravetch J. In vivo veritas: the surprising roles of Fc receptors in immunity. *Nat Immunol* 2010; **11**: 183–5.
- 3 Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc-receptors as regulators of immunity. *Adv Immunol* 2007; **96**: 179–204.
- 4 Chen JY, Wang CM, Ma CC, Luo SF, Edberg JC, Kimberly RP, *et al.* Association of a transmembrane polymorphism of Fcgamma receptor IIb (FCGR2B) with systemic lupus erythematosus in Taiwanese patients. *Arthritis Rheum* 2006; **54**: 3908–17.
- 5 Karassa FB, Trikalinos TA, Ioannidis JP. The Fc gamma RIIIA-F158 allele is a risk factor for the development of lupus nephritis: a meta-analysis. *Kidney Int* 2003; **63**: 1475–82.
- 6 Lee YH, Ji JD, Song GG. Associations between FCGR3A polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2008; **35**: 2129–35.
- 7 Karassa FB, Bijl M, Davies KA, Kallenberg CG, Khamashta MA, Manger K, *et al.* Role of the Fcgamma receptor IIA polymorphism in the antiphospholipid syndrome: an international meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2003; **48**: 1930–8.

- 8 Domingo P, Muñoz-Díaz E, Baraldés MA, Arilla M, Barquet N, Pericas R, *et al.* Associations between Fc gamma receptor IIA polymorphisms and the risk and prognosis of meningococcal disease. *Am J Med* 2002; **112**: 19–25.
- 9 Dimou NL, Nikolopoulos GK, Hamodrakas SJ, Bagos PG. Fc gamma receptor polymorphisms and their association with periodontal disease: a meta-analysis. *J Clin Periodontol* 2010; **37**: 255–65.
- 10 Weng WK, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2003; **21**: 3940–7.
- 11 Cañete JD, Suárez B, Hernández MV, Sanmartí R, Rego I, Celis R, *et al.* Influence of variants of Fc gamma receptors IIA and IIIA on the American College of Rheumatology and European League Against Rheumatism responses to anti-tumour necrosis factor alpha therapy in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009; **68**: 1547–52.
- 12 Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc gamma receptors: old friends and new family members. *Immunity* 2006; **24**: 19–28.
- 13 Allen JM, Seed B. Isolation and expression of functional high-affinity Fc receptor complementary DNAs. *Science* 1989; **243**: 378–81.
- 14 Lisi S, Sisto M, Lofrumento DD, D'Amore S, D'Amore M. Advances in the understanding of the Fc gamma receptors-mediated autoantibodies uptake. *Clin Exp Med* 2011; **11**: 1–10.
- 15 Radaev S, Sun P. Recognition of immunoglobulins by Fc gamma receptors. *Mol Immunol* 2002; **38**: 1073–83.
- 16 Kato K, Fridman WH, Arata Y, Sautes-Fridman C. A conformational change in the Fc precludes the binding of two Fc gamma receptor molecules to one IgG. *Immunol Today* 2000; **21**: 310–2.
- 17 Zhang Y, Boesen CC, Radaev S, Brooks AG, Fridman WH, Sautes-Fridman C, *et al.* Crystal structure of the extracellular domain of a human Fc gamma RIII. *Immunity* 2000; **13**: 387–95.
- 18 Radaev S, Motyka S, Fridman WH, Sautes-Fridman C, Sun PD. The structure of a human type III Fc gamma receptor in complex with Fc. *J Biol Chem* 2001; **276**: 16469–77.
- 19 Sondermann P, Huber R, Oosthuizen V, Jacob U. The 3.2-Å crystal structure of the human IgG1 Fc fragment-Fc gammaRIII complex. *Nature* 2000; **406**: 267–73.

- 20 Anderson P, Caligiuri M, O'Brien C, Manley T, Ritz J, Schlossman SF. Fc gamma receptor type III (CD16) is included in the zeta NK receptor complex expressed by human natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; **87**: 2274–8.
- 21 Ravetch JV, Lanier LL. Immune inhibitory receptors. *Science* 2000; **290**: 84–9.
- 22 Espeli M, Niederer HA, Traherne JA, Trowsdale J, Smith KG. Genetic variation, Fc gamma receptors, KIRs and infection: the evolution of autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2010; **22**: 715–22.
- 23 Van der Poel CE, Spaapen RM, van de Winkel JG, Leusen JH. Functional characteristics of the high affinity IgG receptor, Fc gamma RI. *J Immunol* 2011; **186**: 2699–704.
- 24 Marois L, Pare G, Vaillancourt M, Rollet-Labelle E, Naccache PH. Fc gamma RIIIb triggers raft-dependent calcium influx in IgG-mediated responses in human neutrophils. *J Biol Chem* 2011; **286**: 3509–19.
- 25 Nimmerjahn F, Ravetch JV. Antibody-mediated modulation of immune responses. *Immunol Rev* 2010; **236**: 265–75.
- 26 Bruhns P, Iannascoli B, England P, Mancardi DA, Fernandez N, Jorieux S, *et al.* Specificity and affinity of human Fc gamma receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood* 2009; **113**: 3716–25.
- 27 Van Laethem F, Leo O. Membrane lipid rafts: new targets for immunoregulation. *Curr Mol Med* 2002; **2**: 557–70.
- 28 Ghazizadeh S, Bolen JB, Fleit HB. Physical and functional association of Src-related protein tyrosine kinases with Fc gamma RII in monocytic THP-1 cells. *J Biol Chem* 1994; **269**: 8878–84.
- 29 Wang AV, Scholl PR, Geha RS. Physical and functional association of the high affinity immunoglobulin G receptor (Fc gamma RI) with the kinases Hck and Lyn. *J Exp Med* 1994; **180**: 1165–70.
- 30 Kiener PA, Rankin BM, Burkhardt AL, Schieven GL, Gilliland LK, Rowley RB, *et al.* Cross-linking of Fc gamma receptor I (Fc gamma RI) and receptor II (Fc gamma RII) on monocytic cells activates a signal transduction pathway common to both Fc receptors that involves the stimulation of p72 Syk protein tyrosine kinase. *J Biol Chem* 1993; **268**: 24442–8.
- 31 Odin JA, Edberg JC, Painter CJ, Kimberly RP, Unkeless JC. Regulation of phagocytosis and [Ca²⁺]_i flux by distinct regions of an Fc receptor. *Science* 1991; **254**: 1785–8.

- 32 Rankin BM, Yocum SA, Mittler RS, Kiener PA. Stimulation of tyrosine phosphorylation and calcium mobilization by Fc gamma receptor cross-linking. Regulation by the phosphotyrosine phosphatase CD45. *J Immunol* 1993; **150**: 605–16.
- 33 Liao F, Shin HS, Rhee SG. Tyrosine phosphorylation of phospholipase C-gamma 1 induced by cross-linking of the high-affinity or low-affinity Fc receptor for IgG in U937 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; **89**: 3659–63.
- 34 Takai T. Roles of Fc receptors in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2002; **2**: 580–92.
- 35 Pearse RN, Kawabe T, Bolland S, Guinamard R, Kurosaki T, Ravetch JV. SHIP recruitment attenuates Fc gamma RIIB-induced B cell apoptosis. *Immunity* 1999; **10**: 753–60.
- 36 Tzeng SJ, Bolland S, Inabe K, Kurosaki T, Pierce SK. The B cell inhibitory Fc receptor triggers apoptosis by a novel c-Abl family kinase-dependent pathway. *J Biol Chem* 2005; **280**: 35247–54.
- 37 Okayama Y, Kirshenbaum AS, Metcalfe DD. Expression of a functional high-affinity IgG receptor, Fc gamma RI, on human mast cells: Up-regulation by IFN-gamma. *J Immunol* 2000; **164**: 4332–9.
- 38 Shushakova N, Skokowa J, Schulman J, Baumann U, Zwirner J, Schmidt RE, *et al.* C5a anaphylatoxin is a major regulator of activating versus inhibitory Fc gamma Rs in immune complex-induced lung disease. *J Clin Invest* 2002; **110**: 1823–30.
- 39 Pricop L, Redecha P, Teillaud JL, Frey J, Fridman WH, Sautes-Fridman C, *et al.* Differential modulation of stimulatory and inhibitory Fc gamma receptors on human monocytes by Th1 and Th2 cytokines. *J Immunol* 2001; **166**: 531–7.
- 40 Tridandapani S, Wardrop R, Baran CP, Wang Y, Opalek JM, Caligiuri MA, *et al.* TGF-beta 1 suppresses [correction of supresses] myeloid Fc gamma receptor function by regulating the expression and function of the common gamma-subunit. *J Immunol* 2003; **170**: 4572–7.
- 41 Rudge EU, Cutler AJ, Pritchard NR, Smith KG. Interleukin 4 reduces expression of inhibitory receptors on B cells and abolishes CD22 and Fc gamma RII-mediated B cell suppression. *J Exp Med* 2002; **195**: 1079–85.
- 42 Tackenberg B, Jelcic I, Baerenwaldt A, Oertel WH, Sommer N, Nimmerjahn F, *et al.* Impaired inhibitory Fc gamma receptor IIB expression on B cells in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 4788–92.

- 43 Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science* 2001; **291**: 484–6.
- 44 Shields RL, Namenuk AK, Hong K, Meng YG, Rae J, Briggs J, *et al.* High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R. *J Biol Chem* 2001; **276**: 6591–604.
- 45 Arnold JN, Wormald MR, Sim RB, Rudd PM, Dwek RA. The impact of glycosylation on the biological function and structure of human immunoglobulins. *Annu Rev Immunol* 2007; **25**: 21–50.
- 46 Shields RL, Lai J, Keck R, O’Connell LY, Hong K, Meng YG, *et al.* Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human Fc gamma RIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J Biol Chem* 2002; **277**: 26733–40.
- 47 Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of immunoglobulin G resulting from Fc sialylation. *Science* 2006; **313**: 670–3.
- 48 Kulkarni S, Sitaru C, Jakus Z, Anderson KE, Damoulakis G, Davidson K, *et al.* PI3Kbeta plays a critical role in neutrophil activation by immune complexes. *Sci Signal* 2011; **4**: ra23.
- 49 Gerber JS, Mosser DM. Stimulatory and inhibitory signals originating from the macrophage Fc gamma receptors. *Microbes Infect* 2001; **3**: 131–9.
- 50 Márquez ME, Millet C, Stekman H, Conesa A, Deglesne PA, Toro F, *et al.* CD16 cross-linking induces increased expression of CD56 and production of IL-12 in peripheral NK cells. *Cell Immunol* 2010; **264**: 86–92.
- 51 Regnault A, Lankar D, Lacabanne V, Rodriguez A, They C, Rescigno M, *et al.* Fc gamma receptor-mediated induction of dendritic cell maturation and major histocompatibility complex class I-restricted antigen presentation after immune complex internalization. *J Exp Med* 1999; **189**: 371–80.
- 52 Schuurhuis DH, Fu N, Ossendorp F, Melief CJ. Ins and outs of dendritic cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; **140**: 53–72.
- 53 Boruchov AM, Heller G, Veri MC, Bonvini E, Ravetch JV, Young JW. Activating and inhibitory IgG Fc receptors on human DCs mediate opposing functions. *J Clin Invest* 2005; **115**: 2914–23.
- 54 Dhodapkar KM, Kaufman JL, Ehlers M, Banerjee DK, Bonvini E, Koenig S, *et al.* Selective blockade of inhibitory Fc gamma receptor enables human dendritic cell maturation with IL-12p70 production and immunity to antibody-coated tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; **102**: 2910–5.

- 55 Wardemann H, Nussenzweig MC. B-cell self-tolerance in humans. *Adv Immunol* 2007; **95**: 83–110.
- 56 Dijkstra HM, Bijl M, Fijnheer R, Scheepers RH, Oost WW, Jansen MD, *et al.* Fcγ receptor polymorphisms in systemic lupus erythematosus: association with disease and in vivo clearance of immune complexes. *Arthritis Rheum* 2000; **43**: 2793–800.
- 57 Van Sorge NM, van der Pol WL, van de Winkel JG. FcγR polymorphisms: Implications for function, disease susceptibility and immunotherapy. *Tissue Antigens* 2003; **61**: 189–202.
- 58 Bredius RG, Fijen CA, De Haas M, Kuijper EJ, Weening RS, Van de Winkel JG, *et al.* Role of neutrophil Fc γ RIIa (CD32) and Fc γ RIIIb (CD16) polymorphic forms in phagocytosis of human IgG1- and IgG3-opsonized bacteria and erythrocytes. *Immunology* 1994; **83**: 624–30.
- 59 Fijen CA, Bredius RG, Kuijper EJ, Out TA, De Haas M, De Wit AP, *et al.* The role of Fcγ receptor polymorphisms and C3 in the immune defence against *Neisseria meningitidis* in complement-deficient individuals. *Clin Exp Immunol* 2000; **120**: 338–45.
- 60 Forthal DN, Landucci G, Bream J, Jacobson LP, Phan TB, Montoya B. FcγRIIa genotype predicts progression of HIV infection. *J Immunol* 2007; **179**: 7916–23.
- 61 Wu J, Edberg JC, Redecha PB, Bansal V, Guyre PM, Coleman K, *et al.* A novel polymorphism of FcγRIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *J Clin Invest* 1997; **100**: 1059–70.
- 62 Koene HR, Kleijer M, Algra J, Roos D, von dem Borne AE, de Haas M. Fc γ RIIIa-158V/F polymorphism influences the binding of IgG by natural killer cell Fc γ RIIIa, independently of the Fc γ RIIIa-48L/R/H phenotype. *Blood* 1997; **90**: 1109–14.
- 63 López-Albaitero A, Lee SC, Morgan S, Grandis JR, Gooding WE, Ferrone S, *et al.* Role of polymorphic Fc γ receptor IIIa and EGFR expression level in cetuximab mediated, NK cell dependent in vitro cytotoxicity of head and neck squamous cell carcinoma cells. *Cancer Immunol Immunother* 2009; **58**: 1853–64.
- 64 Taylor RJ, Chan SL, Wood A, Voskens CJ, Wolf JS, Lin W, *et al.* FcγRIIIa polymorphisms and cetuximab induced cytotoxicity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Immunol Immunother* 2009; **58**: 997–1006.

- 65 Dall'Ozzo S, Tartas S, Paintaud G, Cartron G, Colombat P, Bardos P, *et al.* Rituximab-dependent cytotoxicity by natural killer cells: influence of FCGR3A polymorphism on the concentration-effect relationship. *Cancer Res* 2004; **64**: 4664–9.
- 66 Kono H, Kyogoku C, Suzuki T, Tsuchiya N, Honda H, Yamamoto K, *et al.* FcgammaRIIB Ile232Thr transmembrane polymorphism associated with human systemic lupus erythematosus decreases affinity to lipid rafts and attenuates inhibitory effects on B cell receptor signaling. *Hum Mol Genet* 2005; **14**: 2881–92.
- 67 Floto RA, Clatworthy MR, Heilbronn KR, Rosner DR, MacAry PA, Rankin A, *et al.* Loss of function of a lupus-associated FcgammaRIIb polymorphism through exclusion from lipid rafts. *Nat Med* 2005; **11**: 1056–8.
- 68 Clatworthy MR, Willcocks L, Urban B, Langhorne J, Williams TN, Peshu N, *et al.* Systemic lupus erythematosus-associated defects in the inhibitory receptor FcgammaRIIb reduce susceptibility to malaria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**: 7169–74.
- 69 Radstake TR, Franke B, Wenink MH, Nabbe KC, Coenen MJ, Welsing P, *et al.* The functional variant of the inhibitory Fcgamma receptor IIb (CD32B) is associated with the rate of radiologic joint damage and dendritic cell function in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; **54**: 3828–37.
- 70 Lehrnbecher T, Foster CB, Zhu S, Leitman SF, Goldin LR, Huppi K, *et al.* Variant genotypes of the low-affinity Fcgamma receptors in two control populations and a review of low-affinity Fcgamma receptor polymorphisms in control and disease populations. *Blood* 1999; **94**: 4220–32.
- 71 Karassa FB, Trikalinos TA, Ioannidis JP. Role of the Fcgamma receptor IIa polymorphism in susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2002; **46**: 1563–71.
- 72 Li LH, Yuan H, Pan HF, Li WX, Li XP, Ye DQ. Role of the Fcgamma receptor IIIA-V/F158 polymorphism in susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Scand J Rheumatol* 2010; **39**: 148–54.
- 73 Harley JB, Alarcon-Riquelme ME, Criswell LA, Jacob CO, Kimberly RP, Moser KL, *et al.* Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in ITGAM, PXXK, KIAA1542 and other loci. *Nat Genet* 2008; **40**: 204–10.
- 74 Salmon JE, Pricop L. Human receptors for immunoglobulin G: key elements in the pathogenesis of rheumatic disease. *Arthritis Rheum* 2001; **44**: 739–50.

- 75 Li X, Ptacek TS, Brown EE, Edberg JC. Fcgamma receptors: structure, function and role as genetic risk factors in SLE. *Genes Immun* 2009; **10**: 380–9.
- 76 Willcocks LC, Smith KG, Clatworthy MR. Low-affinity Fcgamma receptors, autoimmunity and infection. *Expert Rev Mol Med* 2009; **11**: e24.
- 77 Lee YH, Ji JD, Song GG. Fcgamma receptor IIB and IIIB polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Lupus* 2009; **18**: 727–34.
- 78 Niederer HA, Willcocks LC, Rayner TF, Yang W, Lau YL, Williams TN, *et al.* Copy number, linkage disequilibrium and disease association in the FCGR locus. *Hum Mol Genet* 2010; **19**: 3282–94.
- 79 Jovanovic V, Dai X, Lim YT, Kemeny DM, MacAry PA. Fc gamma receptor biology and systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis* 2009; **12**: 294–8.
- 80 Smith KG, Clatworthy MR. FcgammaRIIB in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nat Rev Immunol* 2010; **10**: 328–43.
- 81 Fujimoto TT, Inoue M, Shimomura T, Fujimura K. Involvement of Fc gamma receptor polymorphism in the therapeutic response of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2001; **115**: 125–30.
- 82 Foster CB, Zhu S, Erichsen HC, Lehrnbecher T, Hart ES, Choi E, *et al.* Polymorphisms in inflammatory cytokines and Fcgamma receptors in childhood chronic immune thrombocytopenic purpura: a pilot study. *Br J Haematol* 2001; **113**: 596–9.
- 83 Van der Pol WL, Jansen MD, Kuks JB, de Baets M, Leppers-van de Straat FG, Wokke JH, *et al.* Association of the Fc gamma receptor IIA-R/R131 genotype with myasthenia gravis in Dutch patients. *J Neuroimmunol* 2003; **144**: 143–7.
- 84 Amdahl C, Alseth EH, Gilhus NE, Nakkestad HL, Skeie GO. Polygenic disease associations in thymomatous myasthenia gravis. *Arch Neurol* 2007; **64**: 1729–33.
- 85 Myhr KM, Raknes G, Nyland H, Vedeler C. Immunoglobulin G Fc-receptor (FcgammaR) IIA and IIIB polymorphisms related to disability in MS. *Neurology* 1999; **52**: 1771–6.
- 86 Van Sorge NM, van der Pol WL, Jansen MD, Geleijns KP, Kalmijn S, Hughes RA, *et al.* Severity of Guillain-Barre syndrome is associated with Fc gamma Receptor III polymorphisms. *J Neuroimmunol* 2005; **162**: 157–64.

- 87 Van der Pol WL, van den Berg LH, Scheepers RH, van der Bom JG, van Doorn PA, van Koningsveld R, *et al.* IgG receptor IIa alleles determine susceptibility and severity of Guillain-Barre syndrome. *Neurology* 2000; **54**: 1661–5.
- 88 Sinha S, Prasad KN, Jain D, Nyati KK, Pradhan S, Agrawal S. Immunoglobulin IgG Fc-receptor polymorphisms and HLA class II molecules in Guillain-Barre syndrome. *Acta Neurol Scand* 2010; **122**: 21–6.
- 89 Weersma RK, Crusius JB, Roberts RL, Koeleman BP, Palomino-Morales R, Wolfkamp S, *et al.* Association of FcγR2a, but not FcγR3a, with inflammatory bowel diseases across three Caucasian populations. *Inflamm Bowel Dis* 2010; **16**: 2080–9.
- 90 Asano K, Matsushita T, Umeno J, Hosono N, Takahashi A, Kawaguchi T, *et al.* A genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for ulcerative colitis in the Japanese population. *Nat Genet* 2009; **41**: 1325–9.
- 91 McGovern DP, Gardet A, Torkvist L, Goyette P, Essers J, Taylor KD, *et al.* Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; **42**: 332–7.
- 92 Alizadeh BZ, Valdigem G, Coenen MJ, Zhernakova A, Franke B, Monsuur A, *et al.* Association analysis of functional variants of the FcγRIIa and FcγRIIIa genes with type 1 diabetes, celiac disease and rheumatoid arthritis. *Hum Mol Genet* 2007; **16**: 2552–9.
- 93 Yee AM, Phan HM, Zuniga R, Salmon JE, Musher DM. Association between FcγRIIa-R131 allotype and bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 2000; **30**: 25–8.
- 94 Yuan FF, Wong M, Pererva N, Keating J, Davis AR, Bryant JA, *et al.* FcγRIIIA polymorphisms in Streptococcus pneumoniae infection. *Immunol Cell Biol* 2003; **81**: 192–5.
- 95 Endeman H, Cornips MC, Grutters JC, van den Bosch JM, Ruven HJ, van Velzen-Blad H, *et al.* The Fcγ receptor IIA-R/R131 genotype is associated with severe sepsis in community-acquired pneumonia. *Clin Vaccine Immunol* 2009; **16**: 1087–90.
- 96 Bredius RG, Derkx BH, Fijen CA, de Wit TP, de Haas M, Weening RS, *et al.* Fc gamma receptor IIa (CD32) polymorphism in fulminant meningococcal septic shock in children. *J Infect Dis* 1994; **170**: 848–53.
- 97 Platonov AE, Shipulin GA, Vershinina IV, Dankert J, van de Winkel JG, Kuijper EJ. Association of human Fc gamma RIIa (CD32) polymorphism with susceptibility to and severity of meningococcal disease. *Clin Infect Dis* 1998; **27**: 746–50.

- 98 Domingo P, Muñoz-Díaz E, Baraldes MA, Arilla M, Barquet N, Pericas R, *et al.* Relevance of genetically determined host factors to the prognosis of meningococcal disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; **23**: 634–7.
- 99 Schuldts K, Esser C, Evans J, May J, Timmann C, Ehmen C, *et al.* FCGR2A functional genetic variant associated with susceptibility to severe malarial anaemia in Ghanaian children. *J Med Genet* 2010; **47**: 471–5.
- 100 Willcocks LC, Carr EJ, Niederer HA, Rayner TF, Williams TN, Yang W, *et al.* A defunctioning polymorphism in FCGR2B is associated with protection against malaria but susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; **107**: 7881–5.
- 101 Poonia B, Kijak GH, Pauza CD. High affinity allele for the gene of FCGR3A is risk factor for HIV infection and progression. *PLoS One* 2010; **5**: e15562.
- 102 Lehrnbecher TL, Foster CB, Zhu S, Venzon D, Steinberg SM, Wyvill K, *et al.* Variant genotypes of FcγRIIIA influence the development of Kaposi's sarcoma in HIV-infected men. *Blood* 2000; **95**: 2386–90.
- 103 Brouwer KC, Lal RB, Mirel LB, Yang C, van Eijk AM, Ayisi J, *et al.* Polymorphism of Fc receptor IIa for IgG in infants is associated with susceptibility to perinatal HIV-1 infection. *AIDS* 2004; **18**: 1187–94.
- 104 Loke H, Bethell D, Phuong CX, Day N, White N, Farrar J, *et al.* Susceptibility to dengue hemorrhagic fever in vietnam: evidence of an association with variation in the vitamin d receptor and Fc gamma receptor IIa genes. *Am J Trop Med Hyg* 2002; **67**: 102–6.
- 105 Rekand T, Langeland N, Aarli JA, Vedeler CA. FcγRIIIA polymorphism as a risk factor for acute poliomyelitis. *J Infect Dis* 2002; **186**: 1840–3.
- 106 Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Celigny P, Bardos P, Colombat P, *et al.* Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood* 2002; **99**: 754–8.
- 107 Hatjiharissi E, Xu L, Santos DD, Hunter ZR, Ciccarelli BT, Verselis S, *et al.* Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among individuals expressing the FcγRIIIa-158 V/V and V/F polymorphism. *Blood* 2007; **110**: 2561–4.
- 108 Weng WK, Levy R. Genetic polymorphism of the inhibitory IgG Fc receptor FcγRIIb is not associated with clinical outcome in patients with follicular lymphoma treated with rituximab. *Leuk Lymphoma* 2009; **50**: 723–7.

- 109 Treon SP, Hansen M, Branagan AR, Verselis S, Emmanouilides C, Kimby E, *et al.* Polymorphisms in Fcγ₃ (CD16) receptor expression are associated with clinical response to rituximab in Waldenström's macroglobulinemia. *J Clin Oncol* 2005; **23**: 474–81.
- 110 Kim DH, Jung HD, Kim JG, Lee JJ, Yang DH, Park YH, *et al.* FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2006; **108**: 2720–5.
- 111 Lejeune J, Thibault G, Ternant D, Cartron G, Watier H, Ohresser M. Evidence for linkage disequilibrium between Fcγ₃-V158F and Fcγ₂-H131R polymorphisms in white patients, and for an Fcγ₃-restricted influence on the response to therapeutic antibodies. *J Clin Oncol* 2008; **26**: 5489–91; author reply 91–2.
- 112 Bibeau F, López-Crapez E, Di Fiore F, Thezenas S, Ychou M, Blanchard F, *et al.* Impact of Fcγ₂-Fcγ₃ polymorphisms and KRAS mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus irinotecan. *J Clin Oncol* 2009; **27**: 1122–9.
- 113 Zhang W, Gordon M, Schultheis AM, Yang DY, Nagashima F, Azuma M, *et al.* FCGR2A and FCGR3A polymorphisms associated with clinical outcome of epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal cancer patients treated with single-agent cetuximab. *J Clin Oncol* 2007; **25**: 3712–8.
- 114 Páez D, Pare L, Espinosa I, Salazar J, del Río E, Barnadas A, *et al.* Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and KRAS mutations: are they useful biomarkers of clinical outcome in advanced colorectal cancer treated with anti-EGFR-based therapy? *Cancer Sci* 2010; **101**: 2048–53.
- 115 Musolino A, Naldi N, Bortesi B, Pezzuolo D, Capelletti M, Missale G, *et al.* Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/neu-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; **26**: 1789–96.
- 116 Louis E, El Ghouli Z, Vermeire S, Dall'Ozzo S, Rutgeerts P, Paintaud G, *et al.* Association between polymorphism in IgG Fc receptor IIIa coding gene and biological response to infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; **19**: 511–9.
- 117 Louis EJ, Watier HE, Schreiber S, Hampe J, Taillard F, Olson A, *et al.* Polymorphism in IgG Fc receptor gene FCGR3A and response to infliximab in Crohn's disease: a subanalysis of the ACCENT I study. *Pharmacogenet Genomics* 2006; **16**: 911–4.

- 118 Tomita K, Chiba T, Sugai T, Habano W. Association between tumor necrosis factor-alpha and Fc-gamma receptor polymorphisms with infliximab in Crohn's disease. *Hepatology* 2010; **57**: 535–9.
- 119 Tutuncu Z, Kavanaugh A, Zvaifler N, Corr M, Deutsch R, Boyle D. Fc-gamma receptor type IIIA polymorphisms influence treatment outcomes in patients with inflammatory arthritis treated with tumor necrosis factor alpha-blocking agents. *Arthritis Rheum* 2005; **52**: 2693–6.
- 120 Morales-Lara MJ, Conesa-Zamora P, García-Simón MS, Pedrero F, Santaclara V, Pérez-Guillermo M, *et al.* Association between the FCGR3A V158F polymorphism and the clinical response to infliximab in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis patients. *Scand J Rheumatol* 2010; **39**: 518–20.
- 121 Sibley K. Discussion on the Pemphigoid Eruptions. *Proc R Soc Med* 1915; **8**: 204–6.
- 122 Lever WF. Pemphigus. *Medicine (Baltimore)* 1953; **32**: 1–123.
- 123 Jordon RE, Beutner EH, Witebsky E, Blumental G, Hale WL, Lever WF. Basement zone antibodies in bullous pemphigoid. *JAMA* 1967; **200**: 751–6.
- 124 Schmidt E, Zillikens D. Modern diagnosis of autoimmune blistering skin diseases. *Autoimmun Rev* 2010; **10**: 84–9.
- 125 Mutasim DF. Management of autoimmune bullous diseases: pharmacology and therapeutics. *J Am Acad Dermatol* 2004; **51**: 859–77; quiz 78-80.
- 126 Langan SM, Smeeth L, Hubbard R, Fleming KM, Smith CJ, West J. Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris—incidence and mortality in the UK: population based cohort study. *BMJ* 2008; **337**: a180.
- 127 Nanda A, Al-Saeid K, Al-Sabah H, Dvorak R, Alsaleh QA. Clinicoepidemiological features and course of 43 cases of bullous pemphigoid in Kuwait. *Clin Exp Dermatol* 2006; **31**: 339–42.
- 128 Bernard P, Vaillant L, Labeille B, Bedane C, Arbeille B, Denoeux JP, *et al.* Incidence and distribution of subepidermal autoimmune bullous skin diseases in three French regions. Bullous Diseases French Study Group. *Arch Dermatol* 1995; **131**: 48–52.
- 129 Gudi VS, White MI, Cruickshank N, Herriot R, Edwards SL, Nimmo F, *et al.* Annual incidence and mortality of bullous pemphigoid in the Grampian Region of North-east Scotland. *Br J Dermatol* 2005; **153**: 424–7.

- 130 Langan SM, Hubbard R, Fleming K, West J. A population-based study of acute medical conditions associated with bullous pemphigoid. *Br J Dermatol* 2009; **161**: 1149–52.
- 131 Bastuji-Garin S, Joly P, Lemordant P, Sparsa A, Bedane C, Delaporte E, *et al.* Risk factors for bullous pemphigoid in the elderly: a prospective case-control study. *J Invest Dermatol* 2011; **131**: 637–43.
- 132 Cordel N, Chosidow O, Hellot MF, Delaporte E, Lok C, Vaillant L, *et al.* Neurological disorders in patients with bullous pemphigoid. *Dermatology* 2007; **215**: 187–91.
- 133 Langan SM, Groves RW, West J. The relationship between neurological disease and bullous pemphigoid: a population-based case-control study. *J Invest Dermatol* 2011; **131**: 631–6.
- 134 Joly P, Roujeau JC, Benichou J, Delaporte E, D’Incan M, Dreno B, *et al.* A comparison of two regimens of topical corticosteroids in the treatment of patients with bullous pemphigoid: a multicenter randomized study. *J Invest Dermatol* 2009; **129**: 1681–7.
- 135 Roujeau JC, Lok C, Bastuji-Garin S, Mhalla S, Enginger V, Bernard P. High risk of death in elderly patients with extensive bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 1998; **134**: 465–9.
- 136 Rzany B, Partscht K, Jung M, Kippes W, Mecking D, Baima B, *et al.* Risk factors for lethal outcome in patients with bullous pemphigoid: low serum albumin level, high dosage of glucocorticosteroids, and old age. *Arch Dermatol* 2002; **138**: 903–8.
- 137 Bernard P, Bedane C, Bonnetblanc JM. Anti-BP180 autoantibodies as a marker of poor prognosis in bullous pemphigoid: a cohort analysis of 94 elderly patients. *Br J Dermatol* 1997; **136**: 694–8.
- 138 Colbert RL, Allen DM, Eastwood D, Fairley JA. Mortality rate of bullous pemphigoid in a US medical center. *J Invest Dermatol* 2004; **122**: 1091–5.
- 139 Parker SR, Dyson S, Brisman S, Pennie M, Swerlick RA, Khan R, *et al.* Mortality of bullous pemphigoid: an evaluation of 223 patients and comparison with the mortality in the general population in the United States. *J Am Acad Dermatol* 2008; **59**: 582–8.
- 140 Mutasim DF. Autoimmune bullous dermatoses in the elderly: an update on pathophysiology, diagnosis and management. *Drugs Aging* 2010; **27**: 1–19.

- 141 Satoh S, Seishima M, Izumi T, Ito A, Kamiya H, Kitajima Y. A vesicular variant of bullous pemphigoid with autoantibodies against unidentified 205- and 150-kDa proteins at the basement membrane zone. *Br J Dermatol* 1997; **137**: 768–73.
- 142 Martínez-De Pablo MI, González-Ensenat MA, Vicente A, Gilaberte M, Mascaró JM, Jr. Childhood bullous pemphigoid: clinical and immunological findings in a series of 4 cases. *Arch Dermatol* 2007; **143**: 215–20.
- 143 Farrell AM, Kirtschig G, Dalziel KL, Allen J, Dootson G, Edwards S, *et al.* Childhood vulval pemphigoid: a clinical and immunopathological study of five patients. *Br J Dermatol* 1999; **140**: 308–12.
- 144 Kippes W, Schmidt E, Roth A, Rzany B, Brocker EB, Zillikens D. Immunopathologic changes in 115 patients with bullous pemphigoid. *Hautarzt* 1999; **50**: 866–72.
- 145 Zillikens D, Caux F, Mascaró JM, Wesselmann U, Schmidt E, Prost C, *et al.* Autoantibodies in lichen planus pemphigoides react with a novel epitope within the C-terminal NC16A domain of BP180. *J Invest Dermatol* 1999; **113**: 117–21.
- 146 Strohal R, Rappersberger K, Pehamberger H, Wolff K. Nonbullous pemphigoid: prodrome of bullous pemphigoid or a distinct pemphigoid variant? *J Am Acad Dermatol* 1993; **29**: 293–9.
- 147 Gallo R, Parodi A, Rebora A. Pemphigoid nodularis. *Br J Dermatol* 1993; **129**: 744–5.
- 148 Winkelmann RK, Su WP. APemphigoid vegetans. *Arch Dermatol* 1979; **115**: 446–8.
- 149 Leighty L, Li N, Díaz LA, Liu Z. Experimental models for the autoimmune and inflammatory blistering disease, Bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 2007; **299**: 417–22.
- 150 Ghohestani RF, Li K, Rousselle P, Uitto J. Molecular organization of the cutaneous basement membrane zone. *Clin Dermatol* 2001; **19**: 551–62.
- 151 Giudice GJ, Emery DJ, Díaz LA. Cloning and primary structural analysis of the bullous pemphigoid autoantigen BP180. *J Invest Dermatol* 1992; **99**: 243–50.
- 152 Kasperkiewicz M, Zillikens D. The pathophysiology of bullous pemphigoid. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007; **33**: 67–77.

- 153 Sawamura D, Nomura K, Sugita Y, Mattei MG, Chu ML, Knowlton R, *et al.* Bullous pemphigoid antigen (BPAG1): cDNA cloning and mapping of the gene to the short arm of human chromosome 6. *Genomics* 1990; **8**: 722–6.
- 154 Li KH, Sawamura D, Giudice GJ, Díaz LA, Mattei MG, Chu ML, *et al.* Genomic organization of collagenous domains and chromosomal assignment of human 180-kDa bullous pemphigoid antigen-2, a novel collagen of stratified squamous epithelium. *J Biol Chem* 1991; **266**: 24064–9.
- 155 Ujiie H, Shibaki A, Nishie W, Shimizu H. What's new in bullous pemphigoid. *J Dermatol* 2010; **37**: 194–204.
- 156 Charneux J, Lorin J, Vitry F, Antonicelli F, Reguiai Z, Barbe C, *et al.* Usefulness of BP230 and BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assays in the initial diagnosis of bullous pemphigoid: a retrospective study of 138 patients. *Arch Dermatol* 2011; **147**: 286–91.
- 157 Giudice GJ, Emery DJ, Zelicson BD, Anhalt GJ, Liu Z, Díaz LA. Bullous pemphigoid and herpes gestationis autoantibodies recognize a common non-collagenous site on the BP180 ectodomain. *J Immunol* 1993; **151**: 5742–50.
- 158 Zillikens D, Rose PA, Balding SD, Liu Z, Olague-Marchan M, Díaz LA, *et al.* Tight clustering of extracellular BP180 epitopes recognized by bullous pemphigoid autoantibodies. *J Invest Dermatol* 1997; **109**: 573–9.
- 159 Schmidt E, Obe K, Brocker EB, Zillikens D. Serum levels of autoantibodies to BP180 correlate with disease activity in patients with bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 2000; **136**: 174–8.
- 160 Dopp R, Schmidt E, Chimanovitch I, Leverkus M, Brocker EB, Zillikens D. IgG4 and IgE are the major immunoglobulins targeting the NC16A domain of BP180 in Bullous pemphigoid: serum levels of these immunoglobulins reflect disease activity. *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**: 577–83.
- 161 Messingham KA, Noe MH, Chapman MA, Giudice GJ, Fairley JA. A novel ELISA reveals high frequencies of BP180-specific IgE production in bullous pemphigoid. *J Immunol Methods* 2009; **346**: 18–25.
- 162 Ghohestani RF, Cozzani E, Delaporte E, Nicolás JF, Parodi A, Claudy A. IgE antibodies in sera from patients with bullous pemphigoid are autoantibodies preferentially directed against the 230-kDa epidermal antigen (BP230). *J Clin Immunol* 1998; **18**: 202–9.
- 163 Dimson OG, Giudice GJ, Fu CL, Van den Bergh F, Warren SJ, Janson MM, *et al.* Identification of a potential effector function for IgE autoantibodies in the organ-specific autoimmune disease bullous pemphigoid. *J Invest Dermatol* 2003; **120**: 784–8.

- 164 Fairley JA, Burnett CT, Fu CL, Larson DL, Fleming MG, Giudice GJ. A pathogenic role for IgE in autoimmunity: bullous pemphigoid IgE reproduces the early phase of lesion development in human skin grafted to nu/nu mice. *J Invest Dermatol* 2007; **127**: 2605–11.
- 165 Liu Z, Díaz LA, Troy JL, Taylor AF, Emery DJ, Fairley JA, *et al.* A passive transfer model of the organ-specific autoimmune disease, bullous pemphigoid, using antibodies generated against the hemidesmosomal antigen, BP180. *J Clin Invest* 1993; **92**: 2480–8.
- 166 Liu Z, Sui W, Zhao M, Li Z, Li N, Thresher R, *et al.* Subepidermal blistering induced by human autoantibodies to BP180 requires innate immune players in a humanized bullous pemphigoid mouse model. *J Autoimmun* 2008; **31**: 331–8.
- 167 Liu Z, Giudice GJ, Swartz SJ, Fairley JA, Till GO, Troy JL, *et al.* The role of complement in experimental bullous pemphigoid. *J Clin Invest* 1995; **95**: 1539–44.
- 168 Nelson KC, Zhao M, Schroeder PR, Li N, Wetsel RA, Díaz LA, *et al.* Role of different pathways of the complement cascade in experimental bullous pemphigoid. *J Clin Invest* 2006; **116**: 2892–900.
- 169 Chen R, Ning G, Zhao ML, Fleming MG, Díaz LA, Werb Z, *et al.* Mast cells play a key role in neutrophil recruitment in experimental bullous pemphigoid. *J Clin Invest* 2001; **108**: 1151–8.
- 170 Heimbach L, Li N, Díaz A, Liu Z. Experimental animal models of bullous pemphigoid. *G Ital Dermatol Venereol* 2009; **144**: 423–31.
- 171 Lin L, Bankaitis E, Heimbach L, Li N, Abrink M, Pejler G, *et al.* Dual targets for mouse mast cell protease-4 in mediating tissue damage in experimental bullous pemphigoid. *J Biol Chem* 2011.
- 172 Liu Z, Giudice GJ, Zhou X, Swartz SJ, Troy JL, Fairley JA, *et al.* A major role for neutrophils in experimental bullous pemphigoid. *J Clin Invest* 1997; **100**: 1256–63.
- 173 Zhao M, Trimbeger ME, Li N, Díaz LA, Shapiro SD, Liu Z. Role of FcRs in animal model of autoimmune bullous pemphigoid. *J Immunol* 2006; **177**: 3398–405.
- 174 Liu Z, Shipley JM, Vu TH, Zhou X, Díaz LA, Werb Z, *et al.* Gelatinase B-deficient mice are resistant to experimental bullous pemphigoid. *J Exp Med* 1998; **188**: 475–82.

- 175 Liu Z, Shapiro SD, Zhou X, Twining SS, Senior RM, Giudice GJ, *et al.* A critical role for neutrophil elastase in experimental bullous pemphigoid. *J Clin Invest* 2000; **105**: 113–23.
- 176 Stahle-Backdahl M, Inoue M, Giudice GJ, Parks WC. 92-kD gelatinase is produced by eosinophils at the site of blister formation in bullous pemphigoid and cleaves the extracellular domain of recombinant 180-kD bullous pemphigoid autoantigen. *J Clin Invest* 1994; **93**: 2022–30.
- 177 Czech W, Schaller J, Schopf E, Kapp A. Granulocyte activation in bullous diseases: release of granular proteins in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1993; **29**: 210–5.
- 178 Kasperkiewicz M, Zillikens D, Schmidt E. Pemphigoid diseases: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Autoimmunity* 2011.
- 179 Budinger L, Borradori L, Yee C, Eming R, Ferencik S, Grosse-Wilde H, *et al.* Identification and characterization of autoreactive T cell responses to bullous pemphigoid antigen 2 in patients and healthy controls. *J Clin Invest* 1998; **102**: 2082–9.
- 180 Thoma-Uszynski S, Uter W, Schwietzke S, Schuler G, Borradori L, Hertl M. Autoreactive T and B cells from bullous pemphigoid (BP) patients recognize epitopes clustered in distinct regions of BP180 and BP230. *J Immunol* 2006; **176**: 2015–23.
- 181 Joly P, Roujeau JC, Benichou J, Picard C, Dreno B, Delaporte E, *et al.* A comparison of oral and topical corticosteroids in patients with bullous pemphigoid. *N Engl J Med* 2002; **346**: 321–7.
- 182 Burton JL, Harman RM, Peachey RD, Warin RP. A controlled trial of azathioprine in the treatment of pemphigoid [proceedings]. *Br J Dermatol* 1978; **99**: 14.
- 183 Beissert S, Werfel T, Frieling U, Bohm M, Sticherling M, Stadler R, *et al.* A comparison of oral methylprednisolone plus azathioprine or mycophenolate mofetil for the treatment of bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 2007; **143**: 1536–42.
- 184 MacFadyen R.J. Can matrix metalloproteinase inhibitors provide a realistic therapy in cardiovascular medicine? *Curr Opin Pharmacol* 2007; **7**: 171–8.
- 185 Fivenson DP, Breneman DL, Rosen GB, Hersh CS, Cardone S, Mutasim D. Nicotinamide and tetracycline therapy of bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 1994; **130**: 753–8.

- 186 Engineer L, Ahmed AR. Role of intravenous immunoglobulin in the treatment of bullous pemphigoid: analysis of current data. *J Am Acad Dermatol* 2001; **44**: 83–8.
- 187 Paul MA, Jorizzo JL, Fleischer AB, Jr., White WL. Low-dose methotrexate treatment in elderly patients with bullous pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 1994; **31**: 620–5.
- 188 Venning VA, Wojnarowska F. Lack of predictive factors for the clinical course of bullous pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 1992; **26**: 585–9.
- 189 Thivolet J, Barthelemy H, Rigot-Muller G, Bendelac A. Effects of cyclosporin on bullous pemphigoid and pemphigus. *Lancet* 1985; **1**: 334–5.
- 190 Ferrándiz C, Bordas X, García-Patos V, Puig S, Pujol R, Smandia A. Prevalence of psoriasis in Spain (Epiderma Project: phase I). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; **15**: 20–3.
- 191 Carrascosa JM, Pujol R, Dauden E, Hernanz-Hermosa JM, Bordas X, Smandia JA, *et al.* A prospective evaluation of the cost of psoriasis in Spain (EPIDERMA project: phase II). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; **20**: 840–5.
- 192 Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med* 2009; **361**: 496–509.
- 193 Gelfand JM, Feldman SR, Stern RS, Thomas J, Rolstad T, Margolis DJ. Determinants of quality of life in patients with psoriasis: a study from the US population. *J Am Acad Dermatol* 2004; **51**: 704–8.
- 194 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.
- 195 Gudjonsson JE, Elder JT. Psoriasis: epidemiology. *Clin Dermatol* 2007; **25**: 535–46.
- 196 Shbeeb M, Uramoto KM, Gibson LE, O’Fallon WM, Gabriel SE. The epidemiology of psoriatic arthritis in Olmsted County, Minnesota, USA, 1982–1991. *J Rheumatol* 2000; **27**: 1247–50.
- 197 Ferrándiz C, Pujol RM, García-Patos V, Bordas X, Smandia JA. Psoriasis of early and late onset: a clinical and epidemiologic study from Spain. *J Am Acad Dermatol* 2002; **46**: 867–73.
- 198 Seville RH. Psoriasis and stress. *Br J Dermatol* 1997; **97**: 297–302.

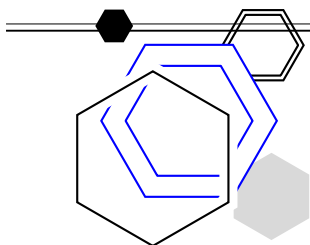
- 199 Fortune DG, Richards HL, Griffiths CE. Psychologic factors in psoriasis: consequences, mechanisms, and interventions. *Dermatol Clin* 2005; **23**: 681–94.
- 200 Wolters M. Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence. *Br J Dermatol* 2005; **153**: 706–14.
- 201 Fortes C, Mastroeni S, Leffondre K, Sampogna F, Melchi F, Mazzotti E, *et al.* Relationship between smoking and the clinical severity of psoriasis. *Arch Dermatol* 2005; **141**: 1580–4.
- 202 Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *JAMA* 2006; **296**: 1735–41.
- 203 Mrowietz U, Elder JT, Barker J. The importance of disease associations and concomitant therapy for the long-term management of psoriasis patients. *Arch Dermatol Res* 2006; **298**: 309–19.
- 204 Mehta NN, Yu Y, Pinnelas R, Krishnamoorthy P, Shin DB, Troxel AB, *et al.* Attributable risk estimate of severe psoriasis on major cardiovascular events. *Am J Med* 2011; **124**: 775e1–6.
- 205 Ahlehoff O, Gislasen GH, Jorgensen CH, Lindhardsen J, Charlot M, Olesen JB, *et al.* Psoriasis and risk of atrial fibrillation and ischaemic stroke: a Danish Nationwide Cohort Study. *Eur Heart J* 2011.
- 206 Habif TP. Clinical dermatology : a color guide to diagnosis and therapy. 4rd. ed ed. Philadelphia: Mosby; 2004.
- 207 Jensen JD, Fujita M, Dellavalle RP. Validation of psoriasis clinical severity and outcome measures: searching for a gold standard. *Arch Dermatol* 2011; **147**: 95–8.
- 208 Ormerod AD, Dwyer CM, Weller R, Cox DH, Price R. A comparison of subjective and objective measures of reduction of psoriasis with the use of ultrasound, reflectance colorimetry, computerized video image analysis, and nitric oxide production. *J Am Acad Dermatol* 1997; **37**: 51–7.
- 209 Ashcroft DM, Wan Po AL, Williams HC, Griffiths CE. Clinical measures of disease severity and outcome in psoriasis: a critical appraisal of their quality. *Br J Dermatol* 1999; **141**: 185–91.
- 210 Naldi L. Scoring and monitoring the severity of psoriasis. What is the preferred method? What is the ideal method? Is PASI passe? facts and controversies. *Clin Dermatol* 2010; **28**: 67–72.

- 211 Nair RP, Duffin KC, Helms C, Ding J, Stuart PE, Goldgar D, *et al.* Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet* 2009; **41**: 199–204.
- 212 Capon F, Di Meglio P, Szaub J, Prescott NJ, Dunster C, Baumber L, *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.
- 213 Haider AS, Lowes MA, Suarez-Farinas M, Zaba LC, Cardinale I, Blumenberg M, *et al.* Cellular genomic maps help dissect pathology in human skin disease. *J Invest Dermatol* 2008; **128**: 606–15.
- 214 Lande R, Gregorio J, Facchinetti V, Chatterjee B, Wang YH, Homey B, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature* 2007; **449**: 564–9.
- 215 Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, Gordon KB, *et al.* Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis. Section 3. Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with topical therapies. *J Am Acad Dermatol* 2009; **60**: 643–59.
- 216 Kragballe K, Austad J, Barnes L, Bibby A, de la Brassinne M, Cambazard F, *et al.* A 52-week randomized safety study of a calcipotriol/betamethasone dipropionate two-compound product (Dovobet/Daivobet/Taclonex) in the treatment of psoriasis vulgaris. *Br J Dermatol* 2006; **154**: 1155–60.
- 217 Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, Gordon KB, *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.
- 218 Saporito FC, Menter MA. Methotrexate and psoriasis in the era of new biologic agents. *J Am Acad Dermatol* 2004; **50**: 301–9.
- 219 Heydendael VM, Spuls PI, Opmeer BC, de Borgie CA, Reitsma JB, Goldschmidt WF, *et al.* Methotrexate versus cyclosporine in moderate-to-severe chronic plaque psoriasis. *N Engl J Med* 2003; **349**: 658–65.
- 220 Nast A, Kopp I, Augustin M, Banditt KB, Boehncke WH, Follmann M, *et al.* German evidence-based guidelines for the treatment of Psoriasis vulgaris (short version). *Arch Dermatol Res* 2007; **299**: 111–38.
- 221 Gollnick H, Bauer R, Brindley C, Orfanos CE, Plewig G, Wokalek H, *et al.* Acitretin versus etretinate in psoriasis. Clinical and pharmacokinetic results of a German multicenter study. *J Am Acad Dermatol* 1988; **19**: 458–68.

- 222 Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, Gordon KB, *et al.* Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: Section 5. Guidelines of care for the treatment of psoriasis with phototherapy and photochemotherapy. *J Am Acad Dermatol* 2010; **62**: 114–35.
- 223 Stern RS, Lunder EJ. Risk of squamous cell carcinoma and methoxsalen (psoralen) and UV-A radiation (PUVA). A meta-analysis. *Arch Dermatol* 1998; **134**: 1582–5.
- 224 Arora T, Padaki R, Liu L, Hamburger AE, Ellison AR, Stevens SR, *et al.* Differences in binding and effector functions between classes of TNF antagonists. *Cytokine* 2009; **45**: 124–31.
- 225 Smith CH, Anstey AV, Barker JN, Burden AD, Chalmers RJ, Chandler DA, *et al.* British Association of Dermatologists' guidelines for biologic interventions for psoriasis 2009. *Br J Dermatol* 2009; **161**: 987–1019.
- 226 Menter A, Gottlieb A, Feldman SR, Van Voorhees AS, Leonardi CL, Gordon KB, *et al.* Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: Section 1. Overview of psoriasis and guidelines of care for the treatment of psoriasis with biologics. *J Am Acad Dermatol* 2008; **58**: 826–50.
- 227 Leonardi CL, Powers JL, Matheson RT, Goffe BS, Zitnik R, Wang A, *et al.* Etanercept as monotherapy in patients with psoriasis. *N Engl J Med* 2003; **349**: 2014–22.
- 228 Tying S, Gordon KB, Poulin Y, Langley RG, Gottlieb AB, Dunn M, *et al.* Long-term safety and efficacy of 50 mg of etanercept twice weekly in patients with psoriasis. *Arch Dermatol* 2007; **143**: 719–26.
- 229 Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* 2010; **49**: 633–59.
- 230 Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 2008; **84**: 548–58.
- 231 Keizer RJ, Huitema AD, Schellens JH, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* 2010; **49**: 493–507.
- 232 Tabrizi MA, Tseng CM, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discov Today* 2006; **11**: 81–8.
- 233 Blasco AJ, Lázaro P, Ferrándiz C, García-Díez A, Liso J. Efficiency of biologic agents in the treatment of moderate to severe psoriasis. *Actas Dermosifiliogr* 2009; **100**: 792–803.

- 234 Herbst A, Bystryń JC. Patterns of remission in pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**: 422–7.
- 235 Leppers-van de Straat FG, van der Pol WL, Jansen MD, Sugita N, Yoshie H, Kobayashi T, *et al.* A novel PCR-based method for direct Fc gamma receptor IIIa (CD16) allotyping. *J Immunol Methods* 2000; **242**: 127–32.
- 236 Guilabert A, Lozano F, Iranzo P, Julià M, Suárez-Casasús B, Moreno N, *et al.* The role of Fc gamma receptors polymorphisms in bullous pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 2010; **63**: 161–3.
- 237 González-Escribano MF, Aguilar F, Sánchez-Román J, Nuñez-Roldán A. FcgammaRIIA, FcgammaRIIIA and FcgammaRIIIB polymorphisms in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *Eur J Immunogenet* 2002; **29**: 301–6.
- 238 Sole-Violán J, García-Laorden MI, Marcos-Ramos JA, de Castro FR, Rajas O, Borderias L, *et al.* The Fc gamma receptor IIA-H/H131 genotype is associated with bacteremia in pneumococcal community-acquired pneumonia. *Crit Care Med* 2011; **39**: 1388–93.
- 239 Nieto A, Cáliz R, Pascual M, Matarán L, García S, Martín J. Involvement of Fc gamma receptor IIIA genotypes in susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; **43**: 735–9.
- 240 Villarreal J, Crosdale D, Ollier W, Hajeer A, Thomson W, Ordi J, *et al.* Mannose binding lectin and Fc gammaRIIa (CD32) polymorphism in Spanish systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)* 2001; **40**: 1009–12.
- 241 Magnusson V, Zunec R, Odeberg J, Sturfelt G, Truedsson L, Gunnarsson I, *et al.* Polymorphisms of the Fc gamma receptor type IIB gene are not associated with systemic lupus erythematosus in the Swedish population. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: 1348–50.
- 242 Kyogoku C, Tsuchiya N, Tokunaga K. Association of Fc gamma receptor genes with systemic lupus erythematosus. *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 2001; **46**: 2337–41.
- 243 Sainz-Elipse S, Latorre JM, Escosa R, Masia M, Fuentes MV, Más-Coma S, *et al.* Malaria resurgence risk in southern Europe: climate assessment in an historically endemic area of rice fields at the Mediterranean shore of Spain. *Malar J* 2010; **9**: 221.
- 244 Weisenseel P, Martin S, Partscht K, Messer G, Prinz JC. Relevance of the low-affinity type of the Fc gamma-receptor IIIa-polymorphism in bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 2007; **299**: 163–4.

IX Anexos



Artículos aceptados para publicación
científica

A. Artículo original

The Role of Fc gamma Receptor Polymorphisms in Bullous Pemphigoid

A. Guilabert⁽¹⁾ MD, F. Lozano⁽²⁾ MD, P. Iranzo⁽¹⁾ MD, M. Julià⁽¹⁾ MD, B. Suárez-Casasús⁽²⁾, Nemesio Moreno⁽³⁾ MD, Josep Herrero-González⁽⁴⁾ MD, and JM Mascaró Jr⁽¹⁾. MD.

1. Servicio de Dermatología, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínic. Barcelona, *Spain*.
2. Servicio de Inmunología, Institut de Investigacions Biomèdicas August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínic, Barcelona.
3. Institut Català de la Salut (ICS).
4. Servicio de Dermatología, Hospital del Mar, Barcelona.

Journal of the American Academy of Dermatology 2010; **63**: 1613–3

Factor de Impacto año 2010: 4.274.

Ranking 4 de 54 (primer cuartil) de su área de conocimiento (Dermatología).

B. Artículo tipo ‘caso clínico’

A Case of Aggressive Bullous Pemphigoid Associated with the Defective Functional Variant of Fc gamma Receptor IIb: Implications for pathogenesis?

A. Guilabert⁽¹⁾ MD, F. Lozano⁽²⁾ MD, P. Iranzo⁽¹⁾ MD, B. Suárez-Casasús⁽²⁾, I. Martínez-De Pablo⁽¹⁾, M. Julià MD and JM Mascaró Jr⁽¹⁾. MD.

Servicios de Dermatología⁽¹⁾ e Inmunología⁽²⁾, Institut d’Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínic de Barcelona.

Journal of American Academy of Dermatology 2011; **65**: 1062–3

Factor de Impacto año 2010: 4.274.

Ranking 4 de 54 (primer cuartil) de su área de conocimiento (Dermatología).