



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO  
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Eficacia y seguridad de la intervención de un  
preparado probiótico como coadyuvante en el  
tratamiento de la psoriasis leve moderada

Autor:

María Asunción Martínez Andrés

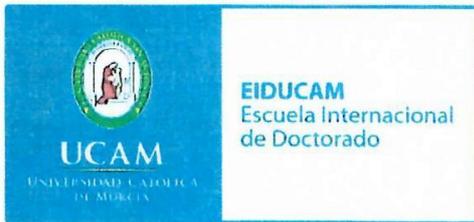
Directores:

Dr. D<sup>a</sup>. Ana Adela Ramírez Boscá

Dr. D. Vicente Navarro López

Murcia, septiembre de 2022





### AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

La Dra. D.ª Ana Adela Ramírez Boscá y el Dr. D. Vicente Navarro López como Directores <sup>(1)</sup> de la Tesis Doctoral titulada “Eficacia y seguridad de la intervención de un preparado probiótico como coadyuvante en el tratamiento de la psoriasis leve moderada” realizada por D.ª Mª Asunción Martínez Andrés en el Programa de Doctorado Ciencias de la Salud, **autoriza su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, en Murcia a 09 de septiembre de 2022.

Dra. D.ª Ana Adela Ramírez Boscá

Dr. D. Vicente Navarro López

<sup>(1)</sup> Si la Tesis está dirigida por más de un Director tienen que constar y firmar ambos.



## RESUMEN

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria sistémica y multifactorial de curso crónico, cuya lesión característica es una placa eritematosa bien definida con descamación plateada que puede estar asociada con distintos signos y síntomas como prurito, dolor o puntos hemorrágicos. Su prevalencia es del 0,09 – 11,4% de la población mundial, con variabilidad entre diferentes países. Presenta comorbilidades con determinadas patologías como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la hipertensión arterial, la diabetes o la obesidad. El tratamiento de la psoriasis varía en función de su gravedad, pudiendo ser tópico o sistémico.

La psoriasis tiene un importante impacto social, económico y afecta a la calidad de vida de los pacientes que la padecen.

Hay evidencias que corroboran una interacción entre el intestino y la piel, de forma que el mantenimiento de la salud intestinal influye en la homeostasis (autorregulación) y alostasis (adaptación a los cambios) de la piel. Algunos trastornos intestinales se acompañan de manifestaciones cutáneas; el sistema gastrointestinal, particularmente su microbioma, interactúa con el sistema inmune afectando a la etiopatogenia de algunas patologías inflamatorias. La disbiosis intestinal favorece la alteración en la producción de las Células T, pudiendo contribuir a la aparición de enfermedades autoinmunes mediadas por Células TH17. Estos hallazgos sugieren una interconexión entre el microbioma del intestino y la homeostasis cutánea, actuando también sobre la inmunidad innata y la adquirida. Además, se han encontrado fragmentos de ADN bacteriano de origen intestinal en el plasma de pacientes con psoriasis, fenómeno conocido como translocación bacteriana y estudios recientes han asociado la psoriasis con disbiosis intestinal.

La hipótesis del proyecto fue si el uso de una mezcla de probióticos, de probada eficacia en otras enfermedades digestivas, podría tener un papel como coadyuvante, actuando como protector de nuevos brotes de psoriasis o inductor de remisión, ante un brote activo de la enfermedad.

Se planteó un estudio de 12 semanas aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo para determinar la eficacia y seguridad de un preparado de probióticos en la reducción de la severidad de la psoriasis. Se incluyeron 90

pacientes de 18 a 70 años con psoriasis en placas leve-moderada y se aleatorizaron en dos grupos: probiótico y placebo. Se valoró la gravedad de la psoriasis con distintas escalas y se analizaron parámetros analíticos en muestras de sangre y heces.

Los objetivos primarios del estudio fueron, comprobar si el porcentaje de pacientes con respuesta clínica al tratamiento (disminución de al menos un 75% en el valor del Psoriasis Area and Severity Index: PASI 75, respecto a la situación basal al inicio del estudio) fue mayor en el grupo tratado con el preparado probiótico que en el grupo tratado con placebo y la valoración de la evolución de la Physician Global Assessment Index (PGA).

Tras el seguimiento de 12 semanas, el 66,7% del grupo probiótico y el 41,9% del grupo placebo alcanzó una reducción del PASI del 75% ( $p < 0,05$ ). Este se redujo en mayor medida en el grupo probiótico, a partir de la segunda visita del estudio. Se obtuvo una relevancia clínica en la escala de Physician Global Assessment Index (PGA), donde el 48,9% de los pacientes del grupo probiótico obtuvieron las puntuaciones más bajas (0 o 1 punto) frente a un 30,2% en el grupo placebo.

Después de 6 meses de seguimiento tras la intervención, los pacientes del grupo probiótico mostraron menos riesgo de recaídas. El análisis de la microbiota confirmó la eficacia del probiótico como modulador de la composición microbiana intestinal. En el grupo probiótico se produjo aumento en los géneros *Collinsella* y *Lactobacillus*, con efectos antiinflamatorios y una reducción en *Micomonospora* y *Rhodococcus*.

Nuevas relaciones entre probióticos y psoriasis, demuestran que han resultado eficaces para la modulación del conjunto del microbioma y han probado ser beneficiosos en la prevención y tratamiento de enfermedades inflamatorias incluida la psoriasis. Estudios futuros se ocuparán de investigar los complejos mecanismos que subyacen en la relación intestino-piel, con especial atención a la potencial acción terapéutica de los probióticos en la modificación a largo plazo, del microbioma intestinal y en la reducción de los brotes. Estos productos tienen muy pocos efectos secundarios, siendo bien tolerados. Más de 70 estudios clínicos que han investigado posibles efectos secundarios de los mismos, no han encontrado ninguno, por lo tanto, los probióticos pueden ser un potencial tratamiento para la psoriasis y otras enfermedades cutáneas, a través de su efecto sobre el microbioma.

Un preparado de probióticos puede ser un tratamiento coadyuvante eficaz y seguro para la psoriasis en placas leve moderada. Estudios futuros se centrarán en mejorar la pauta de dosificación y la duración del tratamiento, con el fin de obtener un beneficio mayor para los pacientes.

**Palabras clave:** psoriasis, probiótico, microbiota, PASI.



## ABSTRACT

Psoriasis is a systemic and multifactorial inflammatory disease. It is characterized by a chronic process whose typical lesion is a well-defined erythematous plaque with silvery scaling that may be associated with different symptoms such as itching, pain or bleeding points. Its incidence is 0.09-11.4% of the world population, with variability between different countries. It presents comorbidities with certain pathologies such as Crohn's disease, ulcerative colitis, hypertension, diabetes or obesity. Psoriasis treatment varies depending on its severity and can be topical or systemic.

Psoriasis holds a significant social and economic impact and affects the quality of life of patients who suffer from it.

There is evidence that confirms an interaction between the intestine and the skin, so that the maintenance of intestinal health influences homeostasis (self-regulation) and allostasis (adaptation to changes) of the skin. Some gastrointestinal disorders occur in association with skin manifestations; the gastrointestinal system, particularly its microbiome, interacts with the immune system and affects the pathophysiology of inflammatory conditions. Intestinal dysbiosis leads to the alteration in the production of T cells, which may contribute to the appearance of autoimmune diseases by means of TH 17 cells. These findings indicate an interconnection between the gut microbiome and skin homeostasis, also acting on congenital and acquired immunity. In addition, fragments of bacterial DNA with an intestinal origin have been found in the plasma of patients with psoriasis, phenomenon known as bacterial translocation. Recent studies have linked psoriasis with intestinal dysbiosis.

The hypothesis of the project was if the combination of probiotics, with a proven efficacy in other digestive diseases, could play a role both in protecting against new outbreaks of psoriasis and in inducing remission in the event of an active outbreak of the disease.

A 12-week randomized, double-blind, placebo-controlled study was planned to determine the efficacy and safety of a probiotic blend for reducing the severity of psoriasis. 90 patients aged 18 to 70, with mild to moderate plaque

psoriasis were included and randomized into two groups: probiotic and placebo. Psoriasis severity was assessed with different measurement scales and analytical parameters were analyzed in blood and stool samples.

The primary objectives of the study were to verify whether the percentage of patients with a clinical response to treatment (decrease of at least 75% in the Psoriasis Area and Severity Index value: PASI 75, with respect to the basal situation at the beginning of the study) was larger in the group treated with the probiotic preparation than in the placebo group; and the assessment of the *Physician Global Assessment Index (PGA)* development.

After the 12-week follow-up, 66.7% in the probiotic group and 41.9% in the placebo group achieved a reduction in PASI 75 ( $p < 0.05$ ). It decreased to a greater extent in the probiotic group from the second study visit. A clinical relevance was obtained in the Physician Global Assessment Index (PGA) scale, where 48.9% of the patients in the probiotic group obtained the lowest scores (0 or 1 point) compared to 30.2% in the placebo one.

After 6 months of the follow-up, after the intervention, patients in the probiotic group showed a lower risk of relapse. The outcome of microbiota analysis supports the efficacy of the probiotic therapy as a modulator of the composition of the microbiota in the intestine. In the probiotic group, there was an increase in the genera *Collinsella* and *Lactobacillus*, with anti-inflammatory effect, and a reduction in *Micomonospora* and *Rhodococcus*.

New probiotic-psoriasis relationships have been proven to be effective in modulating the entire microbiome and have been shown to be beneficial in the prevention and treatment of inflammatory diseases, including psoriasis. Future studies will explore the complex processes underlying the gut-skin relationship, with special attention to the potential therapeutic action of probiotics in the long-term modulation of the gut microbiome and in the outbreak reduction. These products have very little side effects, and they are well-tolerated by patients. More than 70 clinical studies have tried to find out possible side effects of these, but none was detected. Therefore, probiotics may be a potential treatment for psoriasis and other skin diseases, thanks to their effect on the microbiome.

A combination of probiotics may be an effective and safe adjunctive treatment for mild to moderate plaque psoriasis. Future studies will focus on improving the dosage patterns and the duration of the treatment in order to obtain a greater benefit for the patients.

**Keywords:** psoriasis, probiotic, microbiota, PASI.

## AGRADECIMIENTOS

A los pacientes con Psoriasis, principio y final de este trabajo, que con tanta comprensión y entrega participaron en el estudio.

A mis hijos Camino y Javier por quererme.

A mis padres y hermanas por su apoyo y amor.

A Roge, mi hermana y amiga incondicional, firme impulsora del espíritu de equipo y del compromiso en el trabajo.

A la Dra. Ana Ramírez Boscá por su entrega, cariño y ayuda constante.

Al Dr. Vicente Navarro López, por su implicación.

A Beatriz Ruzafa Costas, por su generosidad y de la que aprendo a diario.

A mis dos enfermeras, Encarna y Leticia por su cariño y por su trato impecable y respetuoso con los pacientes.

Al Centro Dermatológico y Estético y a todos mis compañeros de trabajo, por impulsar mi desarrollo en esta empresa.

Al Dr. Manuel Asín Llorca compañero de trabajo y maestro, al que tengo en mi corazón.

A la UCAM y a las personas que trabajan en ella por ser un modelo de progreso y de búsqueda de la excelencia.



“Aprendí que no se puede dar marcha atrás, que la esencia de la vida es ir hacia adelante. La vida en realidad es una calle sin salida”. Agatha Christie



## ÍNDICE

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES

RESUMEN

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE

SIGLAS Y ABREVIATURAS .....	19
ÍNDICE DE FIGURAS .....	23
ÍNDICE DE TABLAS .....	25
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	27
ÍNDICE DE ANEXOS .....	29
I – INTRODUCCIÓN.....	33
1.1. Definición y prevalencia.....	33
1.2. Etiopatogenia.....	34
1.3. Características clínicas.....	36
1.3.1 Psoriasis Vulgar.....	36
1.3.2 Psoriasis Invertida.....	37
1.3.3 Psoriasis <i>Guttata</i> .....	37
1.3.4 Psoriasis Pustulosa.....	38
1.3.5 Eritrodermia.....	39
1.3.6 Afectación ungueal.....	39
1.4. Diagnóstico.....	40
1.5. Escalas de Medida.....	40
1.5.1 <i>Body Surface Area</i> (BSA).....	41
1.5.2 <i>Psoriasis Area and Severity Index</i> (PASI).....	41
1.5.3 <i>Physician's Global Assessment</i> (PGA).....	42
1.6. Tratamiento.....	43
1.7. Translocación bacteriana.....	47

1.8. Microbiota .....	48
1.9. Probióticos.....	50
1.10. Justificación del estudio e hipótesis de trabajo. ....	53
II – OBJETIVOS.....	57
2.1 Objetivos del proyecto.....	57
2.2 Objetivos del estudio clínico.....	57
2.2.1 Objetivo primario.....	57
2.2.2 Objetivos secundarios.....	58
2.3 Hipótesis.....	58
III – MATERIAL Y MÉTODOS.....	61
3.1 Diseño del estudio.....	61
3.1.1 Comité de ética de investigación clínica y otros aspectos legales. ....	61
3.2 Pacientes del estudio.....	62
3.2.1 Consentimiento informado y hoja de información al paciente.....	63
3.2.2 Criterios de inclusión.....	63
3.2.3 Criterios de exclusión. ....	64
3.2.4 Criterios de retirada. ....	65
3.2.5 Identificación y aleatorización de los pacientes.....	65
3.3 Variables. ....	66
3.3.1 Variables primarias. ....	66
3.3.2 Variables secundarias. ....	67
3.4 Índices de gravedad.....	68
3.4.1 <i>Psoriasis Area Severity Index (PASI)</i> .....	68
3.4.2 <i>Physician’s Global Assessment (PGA)</i> .....	69
3.5 Parámetros analíticos.....	70
3.5.1 Translocación bacteriana.....	71
3.5.2 Interleuquinas y otros biomarcadores.....	72
3.5.3 Microbiota intestinal. ....	72

	17
3.6 Tratamientos utilizados durante el estudio.....	73
3.6.1 Producto experimental.....	73
3.6.1.1 Medidas para valorar el cumplimiento terapéutico.....	74
3.6.2 Corticosteroides tópicos.....	74
3.7 Seguridad.....	75
3.7.1 Detección y documentación de acontecimientos adversos.....	75
3.7.2 Valoración de la causalidad.....	76
3.7.3 Procedimientos para la notificación inmediata de acontecimientos graves o inesperados.....	77
3.8 Procedimiento del estudio.....	77
3.8.1 Contenido de las visitas.....	78
3.9 Sistemas de control de calidad del estudio.....	80
3.9.1 Visitas de monitorización.....	80
3.10 Análisis estadístico.....	81
IV – RESULTADOS.....	85
4.1 PARTICIPANTES DEL ESTUDIO.....	85
4.1.1 Diagrama CONSORT.....	85
4.1.2 Datos basales.....	86
4.2 Resultados obtenidos.....	87
4.2.1 Variable primaria de estudio: PASI 75.....	89
4.2.1.1 Evolución del PASI.....	93
4.2.2 Variable primaria de estudio: PGA.....	94
4.2.3 Variables secundarias.....	99
4.2.3.1 PASI 50.....	99
4.2.3.2 Variables secundarias analíticas.....	104
4.2.3.3 Análisis de seguridad. Acontecimientos adversos de la intervención.....	108
4.2.3.4 Cumplimiento terapéutico.....	109

4.2.3.5 Seguimiento posterior al estudio clínico.....	110
V – DISCUSIÓN .....	113
VI - CONCLUSIONES.....	127
VII - BIBLIOGRAFÍA .....	131
VIII - ANEXOS.....	147

## SIGLAS Y ABREVIATURAS

AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios.
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta.
AMPs	Péptidos antimicrobianos (Del inglés: <i>Antimicrobial Peptides</i> ).
BSA	Área de superficie corporal (Del inglés: <i>Body Surface Area</i> ). Mide la extensión de afectación de la psoriasis. La palma de la mano del paciente (incluyendo los dedos) es el equivalente al 1% de la totalidad de la superficie corporal del mismo.
DLQI	Escala de calidad de vida en dermatología (Del inglés: <i>Dermatology Life Quality Index</i> ).
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. (Del inglés: <i>European Food Safety Authority</i> ).
ENA	Antígeno nuclear extraíble (Del inglés: <i>Extractable nuclear antigen</i> ).
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (Del inglés: <i>Food and Agriculture Organization</i> ).
JAK-STAT	Quinasas Jano, proteínas pertenecientes a las enzimas asociadas a los receptores de citosinas (Del inglés: <i>Janus Kinase mediated signals via the JAK-STAT pathway</i> ).
LDs	Células Dendríticas, juegan un papel fundamental en la regulación de la respuesta inmune.

LL37	Tipo de péptido antimicrobiano (Del inglés: <i>Cathelicidin, class antimicrobial peptide</i> ).
mDCs	Células dendríticas mieloides.
NAPSI	Escala de medida de la psoriasis ungueal (Del inglés <i>Nails Psoriasis Severity Index</i> ).
OMS	Organización Mundial de la Salud.
OTC	Productos de venta libre (Del inglés: Over the counter).
PASI	Escala de medida para la valoración de la gravedad de la psoriasis (Del inglés: <i>Psoriasis Area Severity Index</i> ).
PASI 75	Alcanzar una reducción del 75% del PASI inicial. Se definió por consenso (2011), como la meta del tratamiento de la psoriasis.
pDCs	Células Dendríticas Plasmocitoides.
PEASI	Escala de medida (Del inglés: <i>Psoriasis Exact Area and Severity Index</i> ).
PGA	Área de afectación de la psoriasis. Valora la intensidad localizada o generalizada (Del inglés: <i>Physician's Global assessment</i> ).
PLASI	Escala de medida de la psoriasis (Del inglés: <i>Long - Based Area and Severity Index</i> ).
QPS	Presunción cualificada de seguridad (Del inglés: <i>Qualified presumption of safety</i> ).
SAPASI	Escala de medida (Del inglés: <i>Self Administered Psoriasis Area and Severity Index</i> ).
TLR 7/8	Receptores de tipo <i>Toll</i> , familia de proteínas que forman parte del sistema inmune innato (Del inglés <i>Toll Like Receptor</i> ).
TNF	Factor de necrosis tumoral, proteínas del grupo de las citoquinas (Del inglés: <i>Tumor necrosis factor</i> ).

TSLP	Linfopoyetina estromal tímica (Del inglés: <i>Thymic stromal lymphopietin</i> ).
UVA-UVB	Luz Ultravioleta A y B.
VEGF	Factor de incremento endotelial vascular (Del inglés: <i>Vascular endotelial growth factor</i> ).



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatogenia de la psoriasis. ....	34
Figura 2. Imágenes de pacientes con psoriasis en placas realizadas en el Centro Dermatológico. ....	37
Figura 3. Imágenes de pacientes con psoriasis en gotas realizadas en el Centro Dermatológico. Unidad de psoriasis con el consentimiento iconográfico de los pacientes. ....	38
Figura 4. Imágenes de pacientes con psoriasis pustulosa realizadas en el Centro Dermatológico. ....	39
Figura 5. Imágenes de corte histológico de piel afectada por psoriasis. Ceditas por el departamento de anatomía patológica. Doctor Jesús Cuevas. ....	40
Figura 6. Resumen tratamiento. ....	46
Figura 7. Imágenes tomadas durante las determinaciones de translocación bacteriana. ....	71
Figura 8. Imágenes tomadas durante las determinaciones de interleuquinas y otros biomarcadores. ....	72
Figura 9. Secuenciador <i>MiSeq Illumina</i> . ....	73
Figura 10. Diagrama CONSORT. ....	85



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Puntuación de lesiones para cálculo del PASI. ....	68
Tabla 2. Superficie de afectación para cálculo del PASI. ....	69
Tabla 3. Categorías de la PGA. ....	70
Tabla 4. Esquema del procedimiento de las visitas del estudio. ....	80
Tabla 5. Datos demográficos. ....	86
Tabla 6. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 2. ....	89
Tabla 7. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 3. ....	90
Tabla 8. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 4. ....	91
Tabla 9. Pacientes que mejoran y no mejoran el valor de la PGA al final del estudio. ....	94
Tabla 10. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 1. ....	95
Tabla 11. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 2. ....	96
Tabla 12. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 3. ....	97
Tabla 13. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 4. ....	98
Tabla 14. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 2. ....	100
Tabla 15. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 3. ....	101
Tabla 16. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 4. ....	102
Tabla 17. Parámetros de bioquímica y hemograma en la visita 4. ....	104
Tabla 18. Diferencias en los valores de interleuquinas entre los pacientes que habían alcanzado el PASI 75 frente a los que no respondieron. ....	105
Tabla 19. Presencia de translocación bacteriana en ambos grupos. ....	106
Tabla 20. Acontecimientos adversos en cada grupo de intervención. ....	108



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 2. ....	90
Gráfico 2. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 3. ....	91
Gráfico 3. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 4. ....	92
Gráfico 4. Pacientes que alcanzan el PASI 75 expresado en porcentaje. ....	93
Gráfico 5. Pacientes que mejoran y no mejoran el valor de la PGA al final del estudio. ....	94
Gráfico 6. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 1. ....	95
Gráfico 7. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 2. ....	96
Gráfico 8. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 3. ....	97
Gráfico 9. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 4. ....	98
Gráfico 10. Evolución de la variable PGA. ....	99
Gráfico 11. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 2. ....	100
Gráfico 12. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 3. ....	101
Gráfico 13. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 4. ....	102
Gráfico 14. Pacientes que no alcanzan el PASI 50 expresado en porcentaje. ....	103
Gráfico 15. Cambios en la IL-1 $\beta$ en los pacientes respondedores y no respondedores. ....	106
Gráfico 16. Cambios destacados en algunos géneros de la microbiota intestinal en el grupo probiótico. ....	107
Gráfico 17. Diversidad de la microbiota intestinal antes y al final de la intervención para cada grupo de tratamiento. ....	108
Gráfico 18. Acontecimientos adversos en cada grupo de intervención. ....	109
Gráfico 19. Porcentaje de pacientes con recaída en cada grupo de tratamiento. .	110



## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO I: HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE .....	147
ANEXO II: CONSENTIMIENTO INFORMADO AL PACIENTE .....	151
ANEXO III: CONFORMIDAD DEL COMITÉ DE ÉTICA.....	152
ANEXO IV: FICHA TÉCNICA DEL PRODUCTO.....	153
ANEXO V: NORMAS DE CORRECTA FABRICACIÓN .....	154



# **I - INTRODUCCIÓN**



## I – INTRODUCCIÓN

### 1.1. DEFINICIÓN Y PREVALENCIA.

La psoriasis es una enfermedad de la piel crónica, inflamatoria, sistémica, proliferativa con interrelaciones entre predisposición genética, medioambiente y factores inmunológicos.(1)

En su inicio fue Galeno, quien utilizó la palabra “psora” (trastorno descamativo), probablemente estaba describiendo un eccema.(2) La primera descripción de la psoriasis la realizó Robert-Willan (1757-1812), en un texto histórico, como una entidad distinta a la lepra.(3)

La prevalencia de la psoriasis en la población mundial es del 2%. En Europa varía del 0,6% al 8,5%, siendo menos frecuente en Asia.(1, 4) Estas diferencias pueden deberse a factores genéticos, ambientales y dietéticos. Esta enfermedad, puede debutar a cualquier edad, alrededor del 75% de los pacientes debutan con psoriasis antes de la cuarta década de la vida.(1) Es más frecuente en adultos que en niños.(5)

La genética de la psoriasis es compleja, el riesgo de padecerla está asociado con más de 50 marcadores genéticos. Numerosos estudios, demuestran una fuerte asociación del desarrollo de la enfermedad con el alelo HLA-Cw6 del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC I), por lo que es considerado como un marcador genético de la susceptibilidad a desarrollar psoriasis.(6)

La exposición a determinados factores ambientales como sobrepeso, tabaquismo, consumo de alcohol, estrés, infecciones, algunos medicamentos como betabloqueantes, litio y antipalúdicos, pueden exacerbar la enfermedad o desencadenar brotes.(7) Estos conocimientos, nos abren nuevos campos de investigación sobre la importancia de la regulación de la epigenética en la psoriasis y el abordaje de futuros tratamientos.(8)

Es importante destacar la comorbilidad de la psoriasis con otras patologías, con las que comparte unas vías inflamatorias comunes, como secreción de

adipocina, resistencia a la insulina, a las que pueden contribuir, sobre todo, las interleuquinas (IL) 6,8,17,18 y TNF- $\alpha$ , además del estrés oxidativo.(9, 10)

Los pacientes con psoriasis, en comparación con los pacientes sanos, tienen mayor prevalencia de diabetes tipo II, síndrome metabólico, enfermedad gastrointestinal, enfermedad de Crohn, insuficiencia renal crónica, artritis y depresión, en las que juega un papel importante la IL-6.(9, 11, 12)

La percepción subjetiva del binomio enfermedad/salud es un aspecto importante que debe ser considerado en la evolución de la psoriasis, ya que muchos pacientes pueden verse afectados a nivel psicológico, con un notable impacto en su calidad de vida.

1.2. ETIOPATOGENIA.

La investigación sobre la etiopatogenia de la psoriasis ha aumentado en las dos últimas décadas, debido a que se tiene un mejor conocimiento de la biología de la piel.(13) La placa psoriásica se caracteriza por una inflamación crónica, cuyo desarrollo y mantenimiento depende de la interacción de los queratinocitos, con células de la inmunidad innata y adquirida.(14)

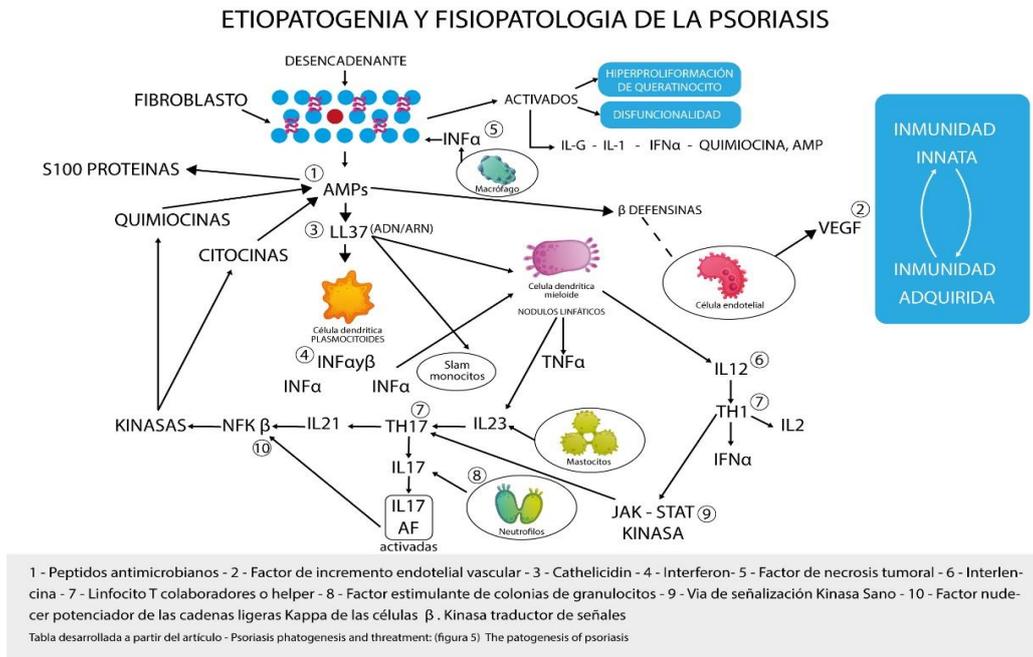


Figura 1. Fisiopatogenia de la psoriasis.

En la fase inicial de la enfermedad, un traumatismo sobre la piel (fenómeno de Koebner), infecciones o determinados fármacos, desencadenarían una reacción por parte de los queratinocitos que secretarían péptidos antimicrobianos (AMPs), característicos en la piel psoriásica. Los más destacados serían LL37 (catelicidina),  $\beta$  defensinas y S100 proteínas.(13, 15) A la catelicidina se le atribuye un papel importante en la psoriasis, formando complejos antigénicos de material genético, de los propios queratinocitos y de otras células dañadas, que serían reconocidos por las células dendríticas (presentadoras de antígenos) y liberarían citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferón  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), interleuquina 23 (IL-23), interleuquina 12 (IL-12) e interleuquina 6 (IL-6), como las más importantes. La IL-12 modula la maduración y la diferenciación de células Th1; y la IL-23 activa la diferenciación de los Th17 y disminuye la producción de las células T reguladoras (Treg cels), aumentando la cascada de la inflamación. Estas interacciones dan lugar al desarrollo de la placa psoriásica, liberando citoquinas proinflamatorias que actúan directamente sobre los queratinocitos.(16-18) Las principales, secretadas por los Th17, son la interleuquina 17 (IL-17), interleuquina 22 (IL-22) y TNF- $\alpha$ ; y sintetizadas por los Th1 son la interleuquina 2 (IL-2) e INF- $\gamma$ . Al mismo tiempo los ejes IL-12 e IL-23 son activados por TNF- $\alpha$  (citoquina de la respuesta inmune innata), que estimula a la IL-17, provocando una hiperproliferación de los queratinocitos, amplificando y perpetuando la inflamación.(13)

Además, células proinflamatorias, como las moléculas linfocitarias activadoras de señales (del inglés: SLAM *signalling lymphocytic activation molecule*), encontradas en las placas psoriásicas, activadas por LL37-RNA, secretan altas cantidades de TNF- $\alpha$ , IL-12 y IL-23.(19)

La complejidad descrita está muy relacionada con la gravedad de la enfermedad. Por un lado, la activación anormal de IL23 / Th17 es un factor patogénico fundamental en la psoriasis, la IL-23 e IL-17 son factores inflamatorios cutáneos, asociados también a otras patologías semejantes a la psoriasis,(20) como la enfermedad de Crohn, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante y la colitis ulcerosa.(21-23)

En el eje IL-23 / Th17 hay diversas moléculas relacionadas con su activación, como son el TNF- $\alpha$  e IL-22, que se han establecido como reguladores

clave en la psoriasis, basándose en los efectos y eficacia de los fármacos dirigidos a bloquearlos.(24)

Por otro lado, las vías de señalización de las quinasas Jano (JAK) y traductores de señales (STAB), son enzimas que pueden formar parte de receptores de la membrana celular y que activan o desactivan bioquímicamente otras proteínas, con un papel fundamental en la señalización de procesos celulares de inflamación, diferenciación, producción, crecimiento, etc. Son enzimas asociadas a receptores de citoquinas y juntos (JAK-STAB) estimulan la producción de IL-17, IL-21, IL-22, TNF- $\alpha$  y G-CSF (factor estimulante de granulocitos y macrófagos), favoreciendo la inflamación. Estas vías de señalización están implicadas también, en la patogenia de muchas enfermedades inflamatorias y autoinmunes, como la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal.(25, 26)

La IL-17A, a través de la vía de señalización del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras Kappa de las células B (NF- $\kappa$ B),(4, 13, 27) inicia una cascada inflamatoria con producción de quimiocinas y citoquinas que activan AMPs,(28-30) produciéndose simultáneamente una activación de la inmunidad innata y adquirida.

### 1.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

Las manifestaciones dermatológicas de la psoriasis son variadas y según estas, la enfermedad se clasifica en diferentes tipos.(31)

#### 1.3.1 Psoriasis Vulgar.

La psoriasis Vulgar, también llamada psoriasis en placas, es la más frecuente (85%). Se caracteriza por presentar placas sobreelevadas, eritematosas, muy delimitadas, con descamación blanco-plateada en la superficie. Pueden afectar a más del 90% de la superficie corporal y suelen presentarse de forma simétrica. Los síntomas más frecuentes están ligados a la inflamación y son: prurito, descamación, quemazón, dolor y fisuras.

Las placas pueden juntarse y cubrir áreas extensas de la piel. La afectación palmo-plantar es menos frecuente, pero puede llegar a ser incapacitante, ya que la

piel presenta hiperqueratosis y fisuras. Las localizaciones más comunes son, el tronco, superficies de extensión de las extremidades, y el cuero cabelludo.(18, 32)



Figura 2. Imágenes de pacientes con psoriasis en placas realizadas en el Centro Dermatológico. Unidad de psoriasis con el consentimiento iconográfico de los pacientes.

### 1.3.2 Psoriasis Invertida.

Mucho menos frecuente que la previamente descrita, también es conocida como psoriasis flexural o inversa, y puede afectar a axilas, zona submamaria, las ingles y región perineal. Las placas son similares a intertrigos de origen micótico, de bordes bien definidos, poco infiltradas, eritematosas y normalmente presentan erosiones y sobreinfección.(33)

### 1.3.3 Psoriasis *Guttata*.

Es una variedad de presentación aguda, en forma de pequeñas placas eritematosas y descamadas por toda la superficie corporal. En general afecta a niños y a adultos jóvenes, tras amigdalitis por estreptococo betahemolítico A. Una tercera parte de estos pacientes desarrollará una psoriasis vulgar a lo largo de su vida.(34)



Figura 3. Imágenes de pacientes con psoriasis en gotas realizadas en el Centro Dermatológico. Unidad de psoriasis con el consentimiento iconográfico de los pacientes.

#### 1.3.4 Psoriasis Pustulosa.

Se caracteriza por la unión de múltiples pústulas estériles. La afectación puede ser localizada o generalizada, aunque esta última es más infrecuente. Se presenta de forma aguda y progresiva y se caracteriza por eritema difuso y pústulas subcórneas. Se han descrito dos fenotipos distintos: psoriasis pustulosa palmo plantar y acrodermatitis continua de Hallopeau. Ambos están localizados en manos y pies, pero la acrodermatitis afecta más distalmente a los dedos y al aparato ungueal. La forma generalizada se presenta de forma aguda y progresiva y se caracteriza por eritema difuso y pústulas subcórneas, junto con sintomatología sistémica.(35)



Figura 4. Imágenes de pacientes con psoriasis pustulosa realizadas en el Centro Dermatológico. Unidad de psoriasis. Con el consentimiento iconográfico de los pacientes.

### 1.3.5 Eritrodermia.

Es la presentación más grave psoriásica, considerada una urgencia dermatológica. Su comienzo puede ser agudo o gradual, afecta al 90% de la superficie corporal y se caracteriza por eritema generalizado, descamación y edema. El paciente tiene manifestaciones sistémicas y requiere tratamiento urgente y hospitalización por afectación de la termorregulación, de la función cardiovascular, desequilibrio electrolítico, hipoalbuminemia y posibles complicaciones infecciosas y/o sepsis.(36)

### 1.3.6 Afectación ungueal.

Puede observarse en el 50% de los pacientes. Cuando afecta a la matriz distal, da lugar a una coloración amarillenta en “mancha de aceite” que provoca onicolisis y onicodistrofia con hiperqueratosis ungueal y, a veces, onicomiosis asociada.(37)

Puede ser un marcador frecuente de asociación de psoriasis con artritis psoriásica.

#### 1.4. DIAGNÓSTICO.

La psoriasis tiene un diagnóstico clínico y la biopsia cutánea normalmente no es necesaria en las presentaciones clásicas habituales, sin embargo, es de gran utilidad en las formas no habituales para realizar un diagnóstico diferencial con otras patologías ecematosas, como *tiña corporis*, *pitiriasis rubra pilaris*, micosis fungoide, lupus subagudo, pitiriasis liquenoide crónica y otras. (38)

Los hallazgos histológicos en la placa psoriásica son reflejo de la patogenia subyacente, desde una proliferación y diferenciación epidérmica anormal, hasta una activación del sistema inmunitario. La histología de la placa psoriásica muestra: hiperplasia epidérmica, focos de paraqueratosis, ausencia de estrato granuloso, acantosis (engrosamiento del estrato espinoso), papilomatosis e infiltrado inflamatorio compuesto por células dendríticas, macrófagos, células T, neutrófilos y neovascularización. Las pústulas espongiformes de Kogoj y los microabscesos de Munro, están presentes en la psoriasis activa y en la pustulosa.(39)

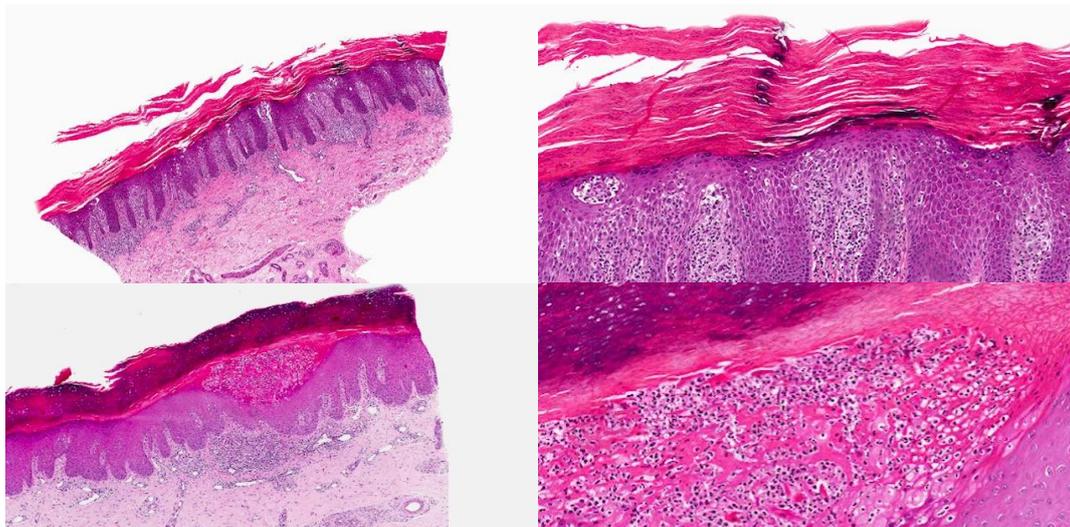


Figura 5. Imágenes de corte histológico de piel afectada por psoriasis. Cedidas por el departamento de anatomía patológica. Doctor Jesús Cuevas.

#### 1.5. ESCALAS DE MEDIDA.

La psoriasis es una enfermedad compleja, de ahí la dificultad de encontrar un método sencillo y reproducible para medir su gravedad. La

principal utilidad de estas medidas es para la toma de decisiones terapéuticas y poder valorar la respuesta al tratamiento de una manera objetiva.

### **1.5.1 *Body Surface Area (BSA).***

Se basa en el cálculo de la superficie corporal afectada. Se mide con la palma de la mano del paciente (incluyendo los dedos), como equivalente al 1% de su superficie corporal. La psoriasis se considera leve si afecta a menos del 3% de la superficie cutánea, moderada cuando afecta entre el 3% y el 8% y grave cuando afecta a más del 10%. Es una escala que se emplea juntamente con otras escalas de valoración global.(40)

La principal limitación es el cálculo, cuando la morfología de la psoriasis es en pequeñas placas o presenta discromías residuales que son signos de mejoría de la enfermedad.

### **1.5.2 *Psoriasis Area and Severity Index (PASI).***

Se definió en 1978 por Fredriksson y Pettersson para los ensayos clínicos de la ciclosporina, fármaco utilizado en la psoriasis.(41)

Se realiza de forma bastante rápida y es el más usado en los ensayos clínicos, con un bajo índice de variabilidad entre los observadores, aunque nunca ha sido validado.(42)

Este índice combina la valoración de cada lesión de psoriasis en base a eritema, infiltración y descamación, con la consiguiente evaluación en cabeza (10%), tronco (30%), extremidades superiores (20%) y extremidades inferiores incluyendo glúteos (40%).(43)

La intensidad del PASI se valora entre 0-6 leve; 5-10 moderada y grave en los PASI mayores de 10. Otra clasificación aceptada, los divide en leve 0-7; moderada 7-12 y grave en PASI superiores a 12. El procedimiento para la medida de esta escala, se desarrollará con más detalle en el apartado de material y método.(44)

Existen otras variantes del PASI como *Psoriasis Long-based Area and Severity Index* (PLASI) o el *Psoriasis Exact Area and Severity Index* (PEASI).(45)

Otra escala de medida, específica para las uñas es *Nail Psoriasis Severity Index* (NAPSI). Cada uña se divide en cuatro cuadrantes imaginarios y es evaluada para buscar signos de la matriz o del lecho.(46)

Otros índices como el *Self Administered Psoriasis Area and Severity Index* (SAPASI) (47) son empleados para evaluar la superficie corporal afectada, siguiendo la regla de los 9 de Wallace, en la que la cabeza y cada extremidad superior suponen un 9% y cada extremidad inferior y parte anterior o posterior del tronco un 18%. Se observa el grado de eritema, infiltración o descamación.(48)

Son muy utilizados como índices de eficacia los llamados PASI 50 y PASI 75, los cuáles indican una mejoría de la psoriasis del 50% o del 75% respectivamente, en comparación con la situación basal.(49)

Los problemas del PASI son la subjetividad y la falta de inclusión de los síntomas. Además, no es útil en algunas formas psoriásicas como la pustulosa y tiene menor sensibilidad en los valores bajos.(50)

Uno de los últimos consensos internacionales, dio como resultado varios rangos de clasificación de la severidad de la psoriasis, dependiendo de: criterios de extensión, afectación de áreas especiales, fallos de tratamientos tópicos, valoración de la utilidad de la fototerapia, empleo de tratamientos orales, tratamientos biológicos, criterios de discapacidad, escala de síntomas psoriásicos, criterios de calidad de vida (DLQI) y encuesta de salud realizada al paciente. Por tanto, las categorías de clasificación respecto a leve, moderado y grave se especifican de forma que, en cualquiera de ellas, los pacientes puedan ser candidatos a tratamientos tópicos o tratamientos sistémicos, según se ha citado anteriormente.(51)

En estos últimos años, los tratamientos de la psoriasis han conseguido como resultado que la piel esté prácticamente sin lesiones. Por ello, se proponen nuevas medidas como el PASI 90 y la mejoría en la calidad de vida del paciente psoriásico (DLQI) menor de 1. Se consigue así medir, una respuesta más objetiva al tratamiento y la satisfacción de los pacientes.(52)

### **1.5.3 *Physician's Global Assessment (PGA).***

La *Physician's Global Assessment* (PGA) valora la intensidad de la enfermedad en todas las lesiones del cuerpo en estos tres parámetros: el eritema,

la infiltración y la descamación, sin tener en cuenta la extensión.

## 1.6. TRATAMIENTO

La psoriasis es una enfermedad crónica y recidivante, que necesita un tratamiento a largo plazo. La elección de este vendrá determinada por la severidad de la afectación, las comorbilidades y la accesibilidad. Se emplea una amplia variedad de tratamientos tópicos y sistémicos, estos últimos en continua incorporación.(2, 7)

El tratamiento más antiguo conocido era la exposición de la piel al sol (helioterapia).

Durante la segunda mitad del siglo XIX, la brea, crisarobina, piragolol, el  $\beta$  naftan y las inyecciones intramusculares de azufre eran tratamientos aceptados. En la primera mitad del siglo XX, se introdujeron la radiación ultravioleta (UV), el ácido salicílico y el arsénico. Durante la segunda mitad del siglo XX, se abandonaron la mayoría de estos tratamientos, con la excepción del ácido salicílico, la antralina o ditranol y la radiación UV. El tratamiento con antralina está disponible desde el año 1916 y ha sido ampliamente utilizado en los hospitales de día de Europa en forma de baños y exposición a luz ultravioleta A.(54)

Desde la introducción de los corticoides tópicos a principios de los años cincuenta, se han convertido en la piedra angular en el tratamiento de la psoriasis leve a moderada como monoterapia o combinados. Al principio de los años noventa, se incorporan los análogos de la vitamina D: el calcipotriol, tacalcitol, y calcitriol que han llegado a constituir, debido a su eficacia terapéutica y a su baja toxicidad, un tratamiento de primera línea para la psoriasis.(55)

Los retinoides tópicos, como el tazaroteno y el ácido salicílico en forma de aceites, pomadas o en formulación magistral, se han empleado para disminuir el grosor de la placa psoriásica.(56)

La fototerapia con ultravioleta A, tras la ingesta de psoralenos por vía oral (PUVA) o su aplicación tópica y la fototerapia con ultravioleta B (UVB), son un gran apoyo en los tratamientos de la psoriasis.(57)

En los años 70, la monoterapia con dosis eritematógenas de UVB, demostró

ser eficaz y posteriormente se desarrolló el tratamiento con UVB de banda estrecha (311-313 nm) que es la radiación óptima disponible actualmente.

El láser excímero UVB de longitud de onda de 308 nanómetros, es una forma de fototerapia localizada que disminuye la dosis acumulada de radiación y alarga los periodos de remisión.(58)

Los medicamentos sistémicos no biológicos disponibles son: metrotexato, ciclosporina, acitetrina y apremilast. En algunos países como Alemania se emplean esteres del ácido fumárico (FAEs) y, recientemente, se han introducido también en España.(59-62)

### BIOLÓGICOS

A medida que se adquieren más conocimientos sobre la patogenia de la psoriasis, se han desarrollado nuevos fármacos durante la última década que se centran de forma selectiva, en ejercer su acción en las vías específicas que producen la inflamación y son administrados por vía subcutánea o intravenosa, con distintas frecuencias semanales o mensuales.

El término medicamento biológico se refiere a principios activos que se obtienen a partir de material biológico, como fluidos, tejidos humanos o animales, o microorganismos. Cuando estos medicamentos se obtienen a partir de sistemas vivos en los que se ha implantado material genético con la tecnología del ADN recombinante, se les llama medicamentos biotecnológicos.

Definen a un conjunto complejo de moléculas de bioingeniería que incluyen anticuerpos monoclonales y receptores de proteínas. Los avances en estos conocimientos sobre el tratamiento de la psoriasis están dando como resultados mejores opciones terapéuticas con medicamentos dirigidos, a los marcadores de inflamación TNF- $\alpha$ , IL-23, IL-17, y JAK/STAT.(5, 63)

Algunos de los fármacos disponibles actualmente son:(64)

\*Anti TNF- $\alpha$ : Etarnecep, Infliximab, Adalimumab y Certolizumab pegol, Golimumab.(65)

\* Anti IL-12/23 p 40: Ustekinumab.(66)

\*Anti IL-17A: Secukinumab y Ixekizumab.

\* Anti IL-17A-F: Brodalumab.(67)

\* Anti IL-23 p 19: Guselkumab, Tidraquizumab y Risankizumab (IgG1).(68)

## BIOSIMILARES

Se definen como medicamentos biotecnológicos similares a otros fármacos biotecnológicos innovadores, cuya patente ha expirado, y están producidos por un fabricante distinto, en nuevas líneas celulares, con nuevos procesos y métodos analíticos. Deben de cumplir dos requerimientos: ser altamente similares al biológico aprobado y no tener diferencias significativas en seguridad, pureza y potencia. El coste de estos medicamentos biotecnológicos es muy elevado, varios miles de euros por paciente. La finalización de las patentes de algunos de ellos en la Unión Europea ha permitido abaratar costes, por ejemplo, el Etarnecep en 2016 o el rituximab en 2017, aprobados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS).(69, 70)

En estos momentos, hay ocho Adalimumab biosimilares, dos Etarnecep y cuatro Infliximab aprobados en Europa.(71)

Tofacitinib es un inhibidor de las enzimas JAK de administración oral, aprobado para su uso en artritis reumatoide y en psoriasis. Upadacitinib es otro inhibidor de las enzimas JAK en estudios fase III.(72) Piclidenoson es un agonista selectivo del receptor de la Adenosina (A3AR),(73) y una larga lista de más de 13 estudios que están en marcha.

## FÁRMACOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA PSORIASIS Y EFECTOS SECUNDARIOS

METHOTREXATE	La inhibición de la dihidrofolato reductasa bloquea la biosíntesis de purina; inducción de apoptosis de linfocitos	s.c./oral	Dermatológicos, gastrointestinales, pulmonares, inmunosupresión, alteraciones reproducción
CYCLOSPORIN	Inhibición de la calcineurina que conduce a la reducción de IL-2	Oral	Nefrotoxicidad, hipertensión arterial, HTA, infecciones, hepatotoxicidad, hiperlipidemia
ACITRETIN	Normalización de la proliferación / diferenciación de queratinocitos mediante la unión al receptor de retinoides	Oral	Teratogenicidad, enfermedades mucocutáneas, hepatotoxicidad, artralgias, mialgias, síntomas psiquiátricos.
FUMARATE	Glutación intracelular, modulación de Nrf2, NF-κB y HIF-1 α; promover un cambio de una respuesta proinflamatoria Th1 / Th17 a una respuesta antiinflamatoria / reguladora Th2.	Oral	Diarrea, náuseas, vómitos, enrojecimiento cutáneo.
APREMILAST	El inhibidor de PDE4 aumenta los niveles de AMPc transcelular en las células inmunes que modulan la inflamación.	Oral	Diarrea, náuseas, secreción nasal, dolor de estómago.
ETANERCEPT	Proteína de fusión humana dimérica que imita al TNF-αR	s.c.	> 5%: infecciones y reacciones en el lugar de la inyección
INFLIXIMAB	Anticuerpo monoclonal quimérico IgG1κ que se une a formas solubles y transmembrana de TNF-α	i.v.	> 10%: infecciones (p. Ej., Vías respiratorias superiores, sinusitis y faringitis), reacciones relacionadas con la perfusión, dolor de cabeza y dolor abdominal
ADALIMUMAB	Anticuerpo monoclonal humano contra TNF-α	s.c.	> 10%: infecciones (p. Ej., Vías respiratorias superiores, sinusitis y faringitis), reacciones relacionadas con la perfusión, dolor de cabeza y dolor abdominal
CERTOLIZUMAB	Porción Fab de anticuerpo monoclonal humanizado contra TNF-α conjugado con polietilenglicol	s.c.	Insuficiencia cardíaca, EPOC, infecciones
USTEKINUMAB	Anticuerpo monoclonal IgG1κ humano que se une con especificidad a la subunidad de la proteína p40 utilizada tanto por la interleucina (IL) - 12 como por las citocinas IL-23 IL-12 / IL-23 p40	s.c.	> 3%: nasofaringitis, IUR, dolor de cabeza y fatiga
TILDRAKIZUMAB	IgG1κ humanizada, que bloquea selectivamente la IL-23 uniéndose a su subunidad p19	s.c.	dolor de cabeza, nasofaringitis, URTI, tos
GUSELKUMAB	Anticuerpo monoclonal de inmunoglobulina G1 lambda humana (IgG1λ) que bloquea selectivamente la IL-23 al unirse a su subunidad p19	s.c.	dolor de cabeza, nasofaringitis, URTI, tos
RISANKIZUMAB	Anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado que inhibe la interleucina-23 al dirigirse específicamente a la subunidad p19	s.c.	IUR, nasofaringitis y cefalea
SECUKINUMAB	Anticuerpo monoclonal humano IgG1κ contra IL-17A	s.c.	>1%: nasofaringitis, diarrea, URTI
IXEKIZUMAB	El anticuerpo monoclonal de inmunoglobulina G4κ humanizado se une y neutraliza selectivamente IL-17A	s.c.	> 1%: nasofaringitis, diarrea, URTI
BRODALUMAB	Anticuerpo monoclonal IgG2 humano dirigido a IL-17RA	s.c.	> 1%: artralgia, dolor de cabeza, fatiga, diarrea, dolor orofaríngeo, náuseas, mialgia, reacciones en el lugar de la inyección, influenza, neutropenia, infecciones por tña

Está desarrollada a partir del artículo - Psoriasis pathogenesis and threatment: (table 3)  
 Drugs available for psoriasis therapy

Figura 6. Resumen tratamiento.

### 1.7. TRANSLOCACIÓN BACTERIANA

La translocación bacteriana se define como el paso de bacterias situadas en la luz intestinal a ganglios linfáticos mesentéricos, sin que exista aparentemente, rotura de la integridad de la mucosa intestinal. Desde estos, las bacterias pueden pasar de forma viable (cultivo positivo) o no viable (translocación de fragmentos antigénicos con cultivo negativo) a sangre, líquido ascítico en pacientes con cirrosis descompensada o al páncreas. Este fenómeno ha sido estudiado ampliamente y se le atribuyen implicaciones clínicas descritas en publicaciones recientes. Los resultados obtenidos en los estudios de O'Boyle et al. apoyaban la hipótesis de la relación entre la translocación bacteriana y el posterior desarrollo de infecciones.(74)

Hay muchas evidencias que sugieren una interacción intestino-piel, de forma que posiblemente la disbiosis intestinal puede alterar la inmunidad sistémica y consecuentemente producir un mecanismo de desregulación y daño en la piel.(75, 76) A su vez, contribuye al desarrollo de un intestino permeable que facilitaría la translocación bacteriana activando la respuesta inflamatoria.(77) Estas bacterias liberarían lipopolisacáridos (LPS), las Gram negativas y lipoproteínas ácidas, las Gram positivas, que amplificarían la cascada de la inflamación.(78)

Se ha investigado ampliamente la asociación de disbiosis intestinal y psoriasis,(79-83) relacionada también con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Tras unos años sin referencias, en 2009 se publicaron estudios donde se constataba la relación entre psoriasis, diarrea y colitis, así como colitis ulcerosa, en los que participaron 12.502 pacientes y 24.285 controles sanos. La prevalencia de colitis, diarrea y colitis ulcerosa fue mayor en los pacientes con psoriasis. Sucesivos estudios lo han confirmado, en diversas poblaciones con un gran número de participantes. (5.554 ciudadanos daneses, Egeberg et al., 2016).(80) Estos estudios no fueron capaces de determinar una causalidad, por ser observacionales, pero parece evidente que hay una asociación entre psoriasis con enfermedades inflamatorias de origen intestinal y el sistema inmunológico que modula la afectación clínica en ambas patologías y, además, pueden compartir tratamientos. Hay muchas líneas de certeza que apuntan a la translocación bacteriana como causa de inflamación en pacientes con enfermedad de Crohn y

psoriasis.(84, 85) Incluso si todavía surge la pregunta sobre si la translocación bacteriana es la causa o la consecuencia de la inflamación intestinal, se acepta ampliamente que las interacciones huésped-bacteria influyen en el desarrollo de la enfermedad y que la evaluación de antígenos bacterianos intestinales a nivel sistémico, puede constituir un nuevo marcador para un mayor riesgo de recaída entre los pacientes. Es notoria la comorbilidad de estas enfermedades con la psoriasis que, como enfermedad autoinmune, inflamatoria y sistémica, comparte aspectos inmunológicos con ellas y también, la posible alteración de la barrera fisiológica de la mucosa intestinal.

Con el interés que suscitó esta hipótesis de trabajo sobre si el fenómeno de translocación bacteriana era frecuente en pacientes con enfermedad psoriásica, nuestro grupo de investigación desarrolló un estudio para ver la prevalencia de translocación en un grupo de 54 pacientes con psoriasis recibiendo o no terapia tópica y/o sistémica, y un grupo control de 27 voluntarios sanos que no presentaban patología dermatológica.(86)

Los resultados pusieron de manifiesto la presencia de translocación bacteriana en los pacientes con distintos tipos de afectación psoriásica y de ausencia de esta en los 27 pacientes del control. La respuesta inflamatoria fue también más alta comparativamente en los pacientes con translocación bacteriana.(86)

## 1.8. MICROBIOTA

El tubo digestivo se puede definir como un ecosistema, por ser un lugar específico en el que se producen interrelaciones entre las bacterias, el contenido digestivo, el epitelio intestinal y el sistema inmunitario; estando delimitado por su pared y abierto por sus extremos. La luz del tracto gastrointestinal tiene una superficie interna de aproximadamente 200 m<sup>2</sup>. La microbiota intestinal está compuesta por miles de millones de bacterias con una gran variedad de especies de las que algunas se adquieren al nacer y se van modificando a lo largo de nuestra existencia, debido al estilo de vida, la dieta, ciclos de antibióticos y otros factores. Tiene su hábitat en la superficie de las células intestinales, las criptas del íleon, ciego y colon, la capa de moco que lo recubre y la luz intestinal.(87)

Alrededor del 99% de los microorganismos intestinales son bacterias

anaeróbicas Gram negativas y Gram positivas; incluyendo *Firmicutes* (la mayoría Gram positivas, de las que el 23% de las especies son patógenas) y *Bacteroides* (Gram negativas y son el 64% de las especies presentes en el colon); ambos son los filos mayoritarios. Estos dos tipos de bacterias pueden secretar ácidos grasos de cadena corta (AGCC), de los que muchos estudios sugieren que tienen propiedades antiinflamatorias, que pueden inducir células T reguladoras en el colon y mantener su homeostasis, así como modular la función de los macrófagos intestinales.(88)

El término Microbioma fue sugerido por primera vez por el premio Nobel Joshua Lederberg para describir el genoma colectivo de la microflora del cuerpo humano, incluidas las bacterias comensales, simbióticas y patológicas, arqueas (productoras de metano) y eucariotas que colonizan el cuerpo humano.(89)

Para determinar la composición del microbioma en diferentes áreas del cuerpo, se desarrolló el Proyecto del Microbioma Humano (HMP) (90) y se dividió en dos fases. En la primera fase (2007-2012), se hizo un estudio sobre las comunidades microbianas en cinco áreas del cuerpo: la cavidad oral, las fosas nasales, la piel, el tracto intestinal y aparato genitourinario. La segunda fase (2013-2016), analizó las propiedades biológicas del microbioma y del huésped a lo largo del tiempo en cohortes con enfermedades particulares. Los datos recopilados en el HMP sirven como grupo de control en diversos estudios en humanos.

Un estudio del 2011, realizado por Arumugam et al.,(91) determinó tres grupos mayoritarios de microbioma intestinal, denominados enterotipos según los géneros dominantes: enterotipo 1 *Bacteroides* (filo bacteroidetes), enterotipo 2 *Prevotella* (filo bacteroidetes) y enterotipo 3 *Ruminococcus* (filo Firmicutes), que también incluye el género *Akkermansia*.

La microbiota desempeña un papel determinante en el mantenimiento de la mucosa intestinal, se establece así una relación "mutualista" entre el organismo y la misma. Las principales funciones que podemos atribuirle son:(92)

⊗ Antagonismo microbiano. Si es estable y está bien, no permite la entrada de patógenos.

⊗ Aprovechamiento de los alimentos que no se digieren, de los que se obtiene el 20% de la energía del organismo.

©Provisión de nutrientes esenciales, vitaminas, aminoácidos, vitamina K, etc.

©Diferenciación del sistema inmune.

La presencia en el intestino delgado de Placas de Peyer, que son estructuras linfáticas organizadas, indica una influencia importante de las bacterias del intestino en la función inmunitaria. El epitelio intestinal está especializado en la absorción y en el transporte de los antígenos y contiene centros germinales linfáticos para la inducción de una respuesta inmune adaptativa. Debemos recordar que aproximadamente el 60% de las células inmunitarias del organismo están en el intestino.(93)

Son las células epiteliales intestinales las que se encargan de secretar varias citoquinas, moléculas que permiten la interacción con los linfocitos y que forman una barrera física entre el contenido de la luz intestinal y las células del sistema inmune. Se concluye que los animales, que no tienen microflora intestinal son más proclives a las infecciones.(94)

Se ha demostrado ampliamente que las alteraciones en la simbiosis entre el microbioma y el organismo, un proceso conocido como disbiosis, puede asociarse y contribuir al desarrollo de alteraciones patológicas, como la obesidad, la diabetes, las enfermedades inflamatorias intestinales y los trastornos inflamatorios, incluida la rinitis. El microbioma de la piel ejerce un papel importante en la regulación inmune y la defensa ante las infecciones, estimulando la producción de péptidos antibacterianos y produciendo una barrera defensiva. La hipótesis de que una alteración defectuosa de la activación autoinmune, debido a los cambios en la microbiota de la piel, estuviera involucrada en la patogénesis, ha sido estudiada en muchas enfermedades como la dermatitis atópica, psoriasis y acné vulgar.(95, 96) Así mismo, en la placa psoriásica hay un gran incremento en *Firmicutes* y *Actinobacterias*.(97) Por otro lado, hay una creciente evidencia del papel de la microbiota en la enfermedad inflamatoria intestinal.(98)

## 1.9. PROBIÓTICOS.

Hace más de un siglo, Elie Metchnikoff postuló que las bacterias lácticas eran beneficiosas para la salud y capaces de promover la longevidad.(99) El

término probiótico fue acuñado por Lilly y Stillwel (100), describiendo algunas sustancias producidas por un microorganismo, las cuáles son capaces de estimular el crecimiento de otras bacterias y se escogió el término “probiótico” en oposición al término antibiótico; y para el que en el 2010, la Organización Mundial de la Salud (101) y la *Food and Agriculture Organization* (FAO) establecieron directrices precisas. La FAO/WHO recomienda la realización de pruebas de resistencia a antibióticos, producción de toxinas y actividad metabólica previas a su comercialización, así como estudios epidemiológicos post comercialización.

La OMS define a los probióticos como aquellos productos que contienen microorganismos vivos, los cuales cuando se administran en la cantidad adecuada, tienen un efecto beneficioso en la salud del huésped.(102)

Hay que destacar las diferencias con prebióticos, término descrito en 1995 por Gibson y Roberfroid,(103) para identificar un ingrediente alimentario no digerible que afecta al anfitrión al dirigirse de forma selectiva al crecimiento o actividad o a ambos, de una bacteria o un número limitado de ellas. Son oligosacáridos que llegan sin cambios al colon, donde algunos grupos de bacterias los utilizan como sustratos nutrientes.

Una mezcla de ambos recibe el nombre de “simbiótico”.(104)

A continuación, se enumeran criterios específicos para los probióticos:(102)

- La característica fundamental que hace que un microorganismo sea probiótico, es la demostración de su participación en la prevención o el tratamiento de un determinado trastorno.(105)

- Identificación a nivel de género, especie y cepa que debe quedar registrada y disponible en un banco de datos internacional (*International Culture Collection*).

- Los efectos del probiótico dependen principalmente de su vitalidad, luego debe de permanecer estable durante el proceso productivo y el tránsito gastroentérico, de forma que se adhiera a la mucosa intestinal y la colonice.

- Debe de demostrarse su uso seguro, su regulación se rige por el reglamento comunitario europeo (CE, nº 1924/2006) según la normativa de la EFSA (*European Food Safety Authority*) como suplementos nutricionales, o bien siguiendo las directrices de la EMA (*European Medicines Agency*) y las agencias estatales, como fármacos. Los requerimientos de la EMA son mucho más estrictos,

debiéndose demostrar no sólo datos de eficacia mediante ensayos clínicos, sino de seguridad y vigilancia post comercialización y además deberían estar compuestos por los constituyentes de la flora del intestino sano y carecer de efectos colaterales en los pacientes inmunodeprimidos.

- Debe ejercer un efecto beneficioso como agente bioterapéutico, siguiendo los argumentos de la medicina basada en la evidencia.

-Las investigaciones sobre los probióticos ponen de manifiesto una serie de posibles efectos beneficiosos para la salud, pero estos efectos descritos pueden atribuirse solo a la cepa o a las cepas probadas, y no a la especie ni a todo el grupo de bacterias del ácido láctico ni a otros probióticos.

-Se destaca así la especificidad de los efectos sobre la salud de cada cepa. Los resultados obtenidos en los estudios realizados en cepas específicas, no pueden emplearse como prueba para apoyar los efectos biológicos de otras no probadas. Si se ha demostrado la eficacia a unas dosis determinada, no implicará que sean efectivas a una dosis menor.

La gran mayoría de probióticos utilizados, pertenecen a los géneros bacterianos *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* y a las levaduras *Saccharoromyces*. Otras cepas probióticas incluyen *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Bacillus*. Todos ellos son considerados seguros (GRAS, del inglés *Generally Recognized As Safe*, según la *Federal Food Drug and Cosmetic Act*).

Como microorganismos vivos que son, preocupa que puedan estar relacionados con fenómenos de translocación, bacteriemia y sepsis, así como de transferencia de resistencia a antibióticos. Con los estudios realizados hasta ahora, parece que el uso de probióticos es seguro en la población en general, si bien su uso en pacientes críticos o expuestos a inmunosupresión severa debe de ser realizado con cautela ya que se han descrito casos de infección en esta población de riesgo.(106, 107)

- Géneros, especies y cepas

Una cepa de probióticos se clasifica en función del género, la especie y un código alfanumérico.

Ejemplo	GENERO	ESPECIE	CEPA
	<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	GG

Las consideraciones actuales sobre las aplicaciones clínicas de diversos probióticos y sus indicaciones, en particular, basadas en niveles de evidencia graduada son: prevención del cáncer colorrectal, tratamiento y prevención de la diarrea,(108) erradicación de *Helicobacter pylori*,(109) prevención y tratamiento de la encefalopatía hepática, modulación de la respuesta inmunitaria, enfermedad intestinal inflamatoria (EII), síndrome del intestino irritable (SII),(110) cólico, malabsorción de la lactosa, enterocolitis necrotizante, enfermedad hepática grasa no alcohólica y prevención de infecciones sistémicas.

#### 1.10. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO E HIPÓTESIS DE TRABAJO.

La psoriasis es una enfermedad que según su afectación puede ser controlada por distintos tratamientos, pero estamos lejos de poder hablar de una remisión completa. En esta enfermedad multifactorial compleja, se está avanzando, sobre todo en los últimos años, en encontrar medicamentos que actúen inhibiendo a los dos mediadores más importantes que causan la patogenia de la psoriasis IL-23 e IL-17. Estos fármacos biológicos han demostrado ser eficaces, por lo que han cambiado notablemente el curso de la enfermedad. Tienen altos costes económicos (en el 2011 más del 30% del gasto sanitario fue para los tratamientos con biológicos, según *the International Society of Drugs Bulletins*). (111) Estos tratamientos y otras terapias sistémicas empleadas en la psoriasis presentan efectos secundarios a corto, medio y largo plazo.

En estudios previos sobre translocación, disbiosis intestinal e inmunomodulación, se destacaron diversas acciones en el uso de probióticos como es la inhibición de la respuesta inflamatoria del sistema inmunitario intestinal, la capacidad de aumentar la actividad de los linfocitos que forman parte del sistema inmune innato, como son los linfocitos citolíticos espontáneos NK (*Natural Killer*) que son cruciales como primera línea de defensa del organismo, el aumento de la secreción de moco intestinal y una acción inmunomoduladora directa induciendo citoquinas. Algunas cepas de lactobacilos inducen la maduración de células dendríticas, que son capaces de capturar antígenos de la luz intestinal, además pueden modular la respuesta de los linfocitos T y estimular la secreción de IL-1 e IL-12, estableciendo así un puente entre la microbiota, la inmunidad innata y la adquirida.(112, 113)

Estos hallazgos nos plantearon un estudio de intervención con una mezcla de probióticos, en pacientes psoriásicos aleatorizados en dos grupos (probiótico/placebo). Se evaluaron sus efectos como coadyuvante al tratamiento convencional para la psoriasis en placas leve-moderada y el control de los brotes, basándonos en la modulación que ejercen sobre la microbiota. Para establecer la seguridad del tratamiento probiótico, se registraron todos los efectos secundarios que aparecieron en los pacientes y se compararon los resultados entre los dos grupos del estudio.

La presente tesis doctoral analiza los procedimientos y resultados extraídos del mismo.

## **II - OBJETIVOS**



## II – OBJETIVOS

En este apartado se van a enumerar y explicar los objetivos del estudio realizado y la finalidad de la investigación.

### 2.1 OBJETIVOS DEL PROYECTO.

En este proyecto de investigación, se planteó la utilización de un complemento nutricional compuesto por tres probióticos para dar respuesta a la necesidad de tratamientos eficaces y, a su vez, que no presentara efectos adversos con prevalencia notable.

### 2.2 OBJETIVOS DEL ESTUDIO CLÍNICO.

#### 2.2.1 Objetivo primario.

El objetivo primario del estudio fue comprobar si el porcentaje de pacientes con respuesta clínica al tratamiento (disminución de al menos un 75% en el valor del PASI, respecto a la situación basal al inicio del estudio) fue mayor en el grupo tratado con el preparado probiótico que en el grupo tratado con placebo. Como otro objetivo primario, se evaluó la PGA en los dos grupos de intervención. Se midió así la intensidad de la enfermedad, escala válida para zonas extensas o localizadas.

La medición del PASI y PGA se realizó en cada una de las visitas programadas en el estudio, para cuantificar la variación que hubiera podido existir en el valor medio de estos índices entre cada una de las visitas (comparación intragrupo).

También se comparó en cada visita la media de pacientes que presentó mejoría en los dos grupos del estudio (comparación intergrupo), para establecer la evolución temporal de la mejoría en la puntuación de estos índices.

### 2.2.2 Objetivos secundarios.

Se realizó un análisis para cuantificar los valores de los marcadores de inflamación: TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-16, IL-12 e IL-23 y se obtuvo la media de estos en el momento de la inclusión en el estudio, respecto a la misma medición en la última visita (comparación intragrupo); y a su vez se compararon estos valores en la visita basal y en la visita final del estudio entre los dos grupos (comparación intergrupo).

Otro objetivo secundario, fue estudiar la microbiota intestinal de una muestra de heces recogida al inicio (antes de empezar la intervención) y al final del estudio.

Como medida para establecer la seguridad del producto probiótico, se registraron todos los efectos secundarios que aparecieron, tanto aquellos atribuidos al propio producto, como los no atribuidos y se examinaron los resultados entre los dos grupos de tratamiento.

### 2.3 HIPÓTESIS.

Basándonos en las observaciones descritas en la introducción y en otros trabajos publicados en los que el tratamiento con diferentes cepas probióticas, ha demostrado producir una mejoría en diferentes enfermedades sistémicas y/o digestivas del paciente, junto a la similitud de la fisiopatológica y un probable origen inmune de todas estas patologías, incluyendo la psoriasis, planteamos la hipótesis de que el uso de una mezcla de probióticos de probada eficacia en otras enfermedades digestivas, pueda jugar un papel tanto protector de nuevos brotes de psoriasis como inductor de remisión ante un brote activo de la enfermedad.

El proyecto que aquí planteamos, no ha sido estudiado en ningún trabajo realizado en humanos hasta el momento, de ahí que los resultados obtenidos sean la primera evidencia clínica de su uso en los pacientes con psoriasis.

## **III - MATERIAL Y MÉTODOS**



### III – MATERIAL Y MÉTODOS

En el apartado de Material y Métodos se van a exponer los instrumentos necesarios y los procedimientos realizados en el transcurso del estudio clínico. Por otro lado, se menciona el marco legal que respalda las investigaciones en humanos, y se detalla el proceso de recogida y el análisis de la información agrupada de todos los participantes.

#### 3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.

El estudio clínico que se presenta en esta tesis doctoral tiene un diseño doble ciego, unicéntrico, aleatorizado y controlado con placebo, con el objetivo de estudiar el efecto de un preparado probiótico en pacientes de 18 a 65 años con psoriasis leve a moderada con un tratamiento de 12 semanas de duración.

##### **3.1.1 Comité de ética de investigación clínica y otros aspectos legales.**

Este estudio clínico se realizó en conformidad con los principios de la Declaración de Helsinki (64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013)(114) y con las normas de Buena Práctica Clínica (BPC) emitidas por el grupo de trabajo sobre Eficacia de Sustancias Medicinales de la Comunidad Económica Europea (1990)(115) y las Leyes y Reglamentos vigentes en España (Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero (116) y, posterior a la aprobación del protocolo, el Real Decreto 1090/2015 del 4 de diciembre. (117)

Toda la documentación del estudio, incluyendo el protocolo, fue aprobada por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital General Universitario de Alicante, y notificado a la Agencia Española del Medicamento, así como registrado en el Registro Americano de Ensayos Clínicos (ClinicalTrial.gov) con código NCT02576197 y en el Registro Europeo con número EudraCT 2015-000614-21.

El marco legal que recoge las normas éticas que guiaron este estudio es el siguiente:

- Normas de Buena Práctica Clínica (BPC).
- Convenio de Oviedo para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respeto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina, hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997, ratificado con su publicación en el BOE el 20 de octubre de 1999.(118)
- Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica.(119)
- Real Decreto 1344/2007, de 11 de octubre, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano. Capítulo V (BOE núm 262, de 1 de noviembre).(120)
- Decreto 17/2012, de 20 de enero, del Consell de la Comunidad Valenciana, por el que se modifica el Decreto 73/2009, de 5 de junio, del Consell, regulador de la gestión de estudios clínicos y estudios post autorización observacionales con medicamentos y productos sanitarios.(121)

Finalmente, otras normas que también se aplican en cuestiones de investigación biomédica son las siguientes:

- Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.(122)
- Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de datos personales y garantía de los derechos digitales.(123)

Por último, haciendo referencia a lo dispuesto en el Real Decreto 223/2004, el estudio contó en todo momento con una póliza de seguro de responsabilidad civil.

### 3.2 PACIENTES DEL ESTUDIO.

Se consideraron candidatos a entrar en el estudio los pacientes diagnosticados de psoriasis leve o moderada, definida por un índice PASI mayor a 6 puntos, y que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión.

### **3.2.1 Consentimiento informado y hoja de información al paciente.**

Para llevar a cabo el reclutamiento de pacientes, en la consulta de dermatología, se informaba a todos los participantes potenciales de la posibilidad de participar en el estudio. Uno de los investigadores explicaba a cada paciente los procedimientos, objetivos, duración, así como los beneficios y riesgos de los ensayos clínicos. Una vez informados, debían firmar el documento de consentimiento informado, que se redactó en un lenguaje estándar de fácil comprensión. El paciente dispuso de tiempo para consultar dudas y comprender todos los procedimientos, previo a la firma del documento y, posteriormente, le fue entregada una copia del consentimiento con ambas firmas, la propia del paciente y la del investigador.

Todos los pacientes otorgaron su consentimiento por escrito antes de ser incluidos en el estudio. Además, se les recordó que eran libres de dejar el estudio cuando desearan, ya que se trataba de una participación voluntaria.

Finalmente, los pacientes incluidos en el estudio, tras haber sido informados del mismo y firmado la hoja del consentimiento informado, fueron aleatorizados para recibir tratamiento con el producto a estudio o su equivalente placebo, con el fin de investigar la eficacia del probiótico cuando se añade al tratamiento, en un contexto de práctica clínica habitual para los enfermos con psoriasis leve a moderada.

### **3.2.2 Criterios de inclusión.**

Para su participación en el estudio, todos los pacientes debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

1. Hombres y Mujeres de edades comprendidas entre 18 - 70 años.
2. Diagnóstico de psoriasis en placa al menos un año antes del inicio del estudio.
3. Psoriasis leve o moderada con PASI mayor de 6 en la visita de inclusión.
4. Pacientes habilitados para dar el consentimiento informado a participar en el estudio.

5. En caso de mujeres en edad fértil, test de embarazo previo negativo y uso de medidas de barrera en sus relaciones sexuales durante la participación en el estudio.

### 3.2.3 Criterios de exclusión.

Para su participación en el estudio, los pacientes no debían cumplir ninguno de los siguientes criterios de exclusión:

1. Enfermedad de Crohn, cirrosis hepática, obesidad mórbida y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) u otra infección activa.
2. Uso de esteroides orales o cualquier otro tipo de tratamiento sistémico, oral o parenteral utilizado como tratamiento de la psoriasis en los tres meses previos a la inclusión en el estudio.
3. Uso de antibióticos, probióticos y/o prebióticos en las dos semanas previas al inicio del estudio.
4. Uso de productos naturales con eficacia probada para la salud, en las dos semanas previas al estudio (salvo multiminerales y multivitaminas).
5. Enfermedad hepática con índice de Child-Pugh C, insuficiencia renal crónica con aclaramiento de creatinina menor de 50 ml/min, y patología crónica endocrina, respiratoria neurológica o cardiovascular de gravedad moderada a severa según consideración de los investigadores en el estudio, así como enfermedad cutánea concomitante previo al inicio del estudio.
6. Embarazo y/o lactancia.

7. No estar habilitado para dar el consentimiento informado a participar en el estudio o cumplir las condiciones de este por cualquier razón.

### **3.2.4 Criterios de retirada.**

De acuerdo con la versión actual de la Declaración de Helsinki y de la demás normativa de obligado cumplimiento, un paciente tiene el derecho a abandonar el estudio en cualquier momento y por cualquier razón, sin perjuicio para su futuro cuidado por los médicos o la institución.

Podía requerirse la salida de un paciente del estudio a instancia del investigador por cualquiera de las siguientes razones:

- Acontecimientos adversos graves (101).
- Violación de los criterios de inclusión.
- Desviación del tratamiento planeado especificado en el protocolo. En este punto, se consideró la exclusión para aquellos pacientes que estuvieran tres días consecutivos sin tomar la medicación a estudio, en este trabajo de investigación.
- Pacientes que requirieran medicación por otra patología concomitante no permitida en el estudio.

En cualquier caso, los motivos de la salida debían ser registrados en el cuaderno de recogida de datos (CRD) y en la historia clínica del paciente. Aquellos pacientes que salieran del estudio como resultado de un acontecimiento adverso, debían ser controlados hasta la completa resolución del evento o hasta su evaluación como crónico o estable por parte del investigador. Los pacientes que salieran del estudio no serían reemplazados ni sustituidos por nuevos pacientes.

### **3.2.5 Identificación y aleatorización de los pacientes.**

Todos los pacientes reclutados debían ser identificables a lo largo del estudio, aunque en la base de datos informatizada sus datos figuraron disociados y las claves para la identificación permanecieron debidamente custodiadas por el

investigador principal del estudio. El investigador mantuvo una lista personal de los números y nombres de los pacientes, que permitiera una identificación y comprobación posterior de los registros si esto fuera necesario o requerido.

Se realizó una aleatorización centralizada de los pacientes. Al finalizar la fase de selección, se evaluó la elegibilidad del paciente y aquellos que fueron incluidos en el estudio recibieron un número. Los sujetos que cumplían los requisitos de inclusión, fueron aleatorizados en una proporción 1:1 a recibir tratamiento probiótico o placebo. A fin de lograr el equilibrio entre los dos grupos de tratamiento del estudio, se realizó una asignación por bloques de 6 casos, generando los datos mediante uso de programa informático de aleatorización. En cada bloque existió un número balanceado de los posibles tratamientos. El código de randomización fue custodiado bajo medidas de seguridad por los investigadores principales.

La aleatorización se realizó teniendo en cuenta aquellas variables que se conoce pueden influir en la gravedad o evolución de la enfermedad. Esta aleatorización por estratos tuvo en cuenta las variables: sexo, edad, y edad de inicio de la enfermedad.

### 3.3 VARIABLES.

Se considera como variable de un estudio clínico, toda característica analizada en los participantes del estudio que muestre el efecto alcanzado en el propio participante y/o en los grupos a comparar, una vez finalizado el periodo de tiempo definido. Distinguimos dos tipos: las primarias y las secundarias.

#### 3.3.1 Variables primarias.

Se tomaron como variables principales las siguientes:

- Porcentaje de pacientes que alcanzaron una reducción de al menos un 75% en el PASI, es decir, que alcanzaron el PASI 75 (diferencia en el valor entre la visita basal y cualquiera de las visitas de seguimiento del estudio). Se comparó el porcentaje de respuesta entre los dos grupos de intervención.

- Porcentaje de pacientes que se encontraban en cada categoría del índice PGA.

### 3.3.2 Variables secundarias.

Se tomaron como variables secundarias:

- Porcentaje de pacientes que entraron en remisión (blanqueamiento de la psoriasis entendido como una puntuación en la PGA de limpia o prácticamente limpia), en cada uno de los grupos (diferencias intergrupos), en cualquiera de las visitas de control y/o en la visita de fin de estudio.
- Diferencias en los valores absolutos de PASI, desde el inicio del estudio hasta la visita final en cada grupo de tratamiento (diferencias intragrupo) y diferencias en los valores de estos índices entre los dos grupos de estudio en cada visita control (diferencias intergrupo).
- Resultados en los valores de inflamación estudiados: TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-23, al comparar este valor en la visita basal y la visita final entre los dos grupos del estudio (diferencias intergrupo).
- Porcentaje de pacientes con efectos secundarios leves, moderados o graves atribuidos y no atribuidos al tratamiento en estudio, en cada uno de los grupos de tratamiento.
- Adherencia al tratamiento en estudio.

Dado el interés que suscitaron los primeros resultados observados durante la intervención del estudio, se decidió realizar un seguimiento post-intervención fuera del protocolo, con la colaboración y autorización de los pacientes participantes.

- Porcentaje de pacientes con brote, definido como la reaparición de placas de psoriasis con aumento del eritema, la infiltración y la descamación.

### 3.4 ÍNDICES DE GRAVEDAD.

#### 3.4.1 *Psoriasis Area Severity Index (PASI).*

El PASI aporta una puntuación numérica que puede oscilar entre 0 y 72. El organismo se divide en 4 regiones: cabeza (c), extremidades superiores (s), tronco (t) y extremidades inferiores (i). El cuello se considera parte de la cabeza, las axilas e ingles forman parte del tronco, y las nalgas forman parte de las extremidades inferiores. No se tuvieron en cuenta las localizaciones palmo-plantares, pliegues o uñas.

Cada una de estas regiones se evalúa por separado para la gravedad de las lesiones en cuanto al eritema (E: Ec, Es, Et, Ei), la induración o infiltración (I: Ic, Is, It, Ii), y la descamación (D: Dc, Ds, Dt, Di), en una escala del 0 al 4:

Tabla 1. Puntuación de lesiones para cálculo del PASI.

Gravedad	Ninguna	Leve	Moderada	Intensa	Muy intensa
Puntuación:	0	1	2	3	4
Ec					
Es					
Et					
Ei					
Ic					
Is					
It					
Ii					
Dc					
Ds					
Dt					
Di					

La superficie afectada por las lesiones (A: Ac, As, At, Ai) se calcula con la siguiente escala:

Tabla 2. Superficie de afectación para cálculo del PASI.

Superficie afectada	Puntuación	Ac	As	At	Ai
1-9%	1				
10-29%	2				
30-49%	3				
50-69%	4				
70-89%	5				
90-100%	6				

A continuación, se utilizan los datos de la tabla en las siguientes fórmulas.

$$C = 0.1 (Ec + Ic + Dc) \quad Ac =$$

$$S = 0.2 (Es + Is + Ds) \quad As =$$

$$T = 0.3 (Et + It + Dt) \quad At =$$

$$I = 0.4 (Ei + Ii + Di) \quad Ai =$$

Para terminar, el valor final del PASI se obtiene de la fórmula:

$$C + S + T + I = \text{PASI DEL PACIENTE}$$

### 3.4.2 *Physician's Global Assessment (PGA).*

El cálculo de la valoración clínica global de la psoriasis o PGA, lo realiza el facultativo mediante una tabla en la que se describen las categorías y los signos visibles de cada una de ellas.

Tabla 3. Categorías de la PGA.

Grave	Muy marcada elevación de la placa, descamación y/o eritema
Moderada a grave	Marcada elevación de la placa, descamación y/o eritema
Moderada	Moderada elevación de la placa, descamación y/o eritema
Leve	Ligera elevación de la placa, descamación y/o eritema
Prácticamente limpia	Entre la calificación de leve y limpia
Limpia	Sin signos de psoriasis (puede haber hiperpigmentación post-inflamatoria)

### 3.5 PARÁMETROS ANALÍTICOS.

Al inicio y final del estudio, todos los pacientes entregaron una muestra de heces y a todos ellos se les extrajo una muestra de sangre, realizada en el Centro Dermatológico Estético de Alicante por el personal sanitario diplomado en enfermería (D.U.E.) La cantidad de sangre extraída fue de 10 ml que se utilizó para medir hemograma, bioquímica, las interleuquinas y otros marcadores de inmunidad e inflamación seleccionados, así como comprobar la presencia del fenómeno de translocación bacteriana. En cuanto a la muestra de heces, fue recogida por el propio paciente, siguiendo las instrucciones de conservación y toma de muestra que se le dieron en la consulta.

Todas las muestras sanguíneas se conservaron correctamente siguiendo las directrices de los laboratorios. Los tubos que lo requerían fueron centrifugados y el suero se almacenó separado a una temperatura de -20 °C. Por otro lado, las heces fueron almacenadas en un ultracongelador a -80 °C.

Los análisis se realizaron en el Centro Inmunológico de Alicante (bioquímica y hemograma), en el Centro de Investigación Biomédica en Red en el Área temática de Enfermedades Hepáticas (CiberEhd) en el Hospital General Universitario de Alicante (traslocación bacteriana), en el laboratorio Lifesequencing S.L. en Paterna, Valencia (microbiota intestinal), y en la Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM) (interleuquinas y otros marcadores de inmunidad).

### 3.5.1 Translocación bacteriana.

El método que se siguió para comprobar si el fenómeno de translocación bacteriana había ocurrido fue una reacción en cadena de la polimerasa, más conocida como PCR, de amplio rango y un análisis de secuenciación de nucleótidos (biblioreports). Brevemente, se aisló el ADN mediante *QIAmp DNA Blood Mini Kit* (QIAGEN, Alemania) y se realizó una amplificación por PCR de amplio rango de la región conservada del gen del ARNr 16s bacteriano utilizando los siguientes cebadores: 5'-TTCCGGTTGATCCTGCCGGA-3' y 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' al revés. Los fragmentos de ADN bacteriano se purificaron con el kit de purificación *QIAquick* (QIAGEN) y los amplicones purificados se utilizaron para las reacciones de secuenciación con el kit de secuenciación del ciclo *Big Dye Terminator v3.1* (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, EE. UU.). Se utilizó el mismo oligonucleótido inverso para la amplificación por PCR como cebador de secuenciación. El producto final se analizó en el secuenciador automático ABI PRISM 310 (*Applied Biosystems*). Las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, [www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) utilizando la herramienta de búsqueda avanzada BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

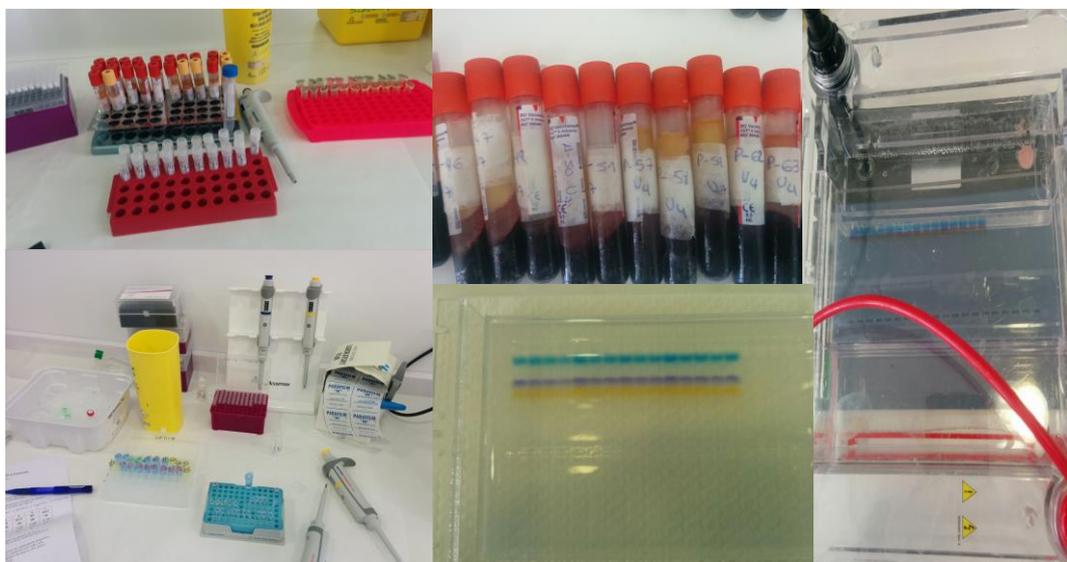


Figura 7. Imágenes tomadas durante las determinaciones de translocación bacteriana.

### 3.5.2 Interleuquinas y otros biomarcadores.

Se determinaron los niveles de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-16, IL-12 e IL-23.

La técnica escogida fue ELISA y se analizó el suero de los pacientes participantes de los tiempos inicio y final. El kit utilizado fue *Human Quantikine Kits* de *R&D Systems*, indicado para cada interleuquina según las instrucciones del fabricante. Tanto la curva de calibración como el suero de los pacientes se determinaron por duplicado.

Estos datos se obtuvieron en los laboratorios de la Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM).

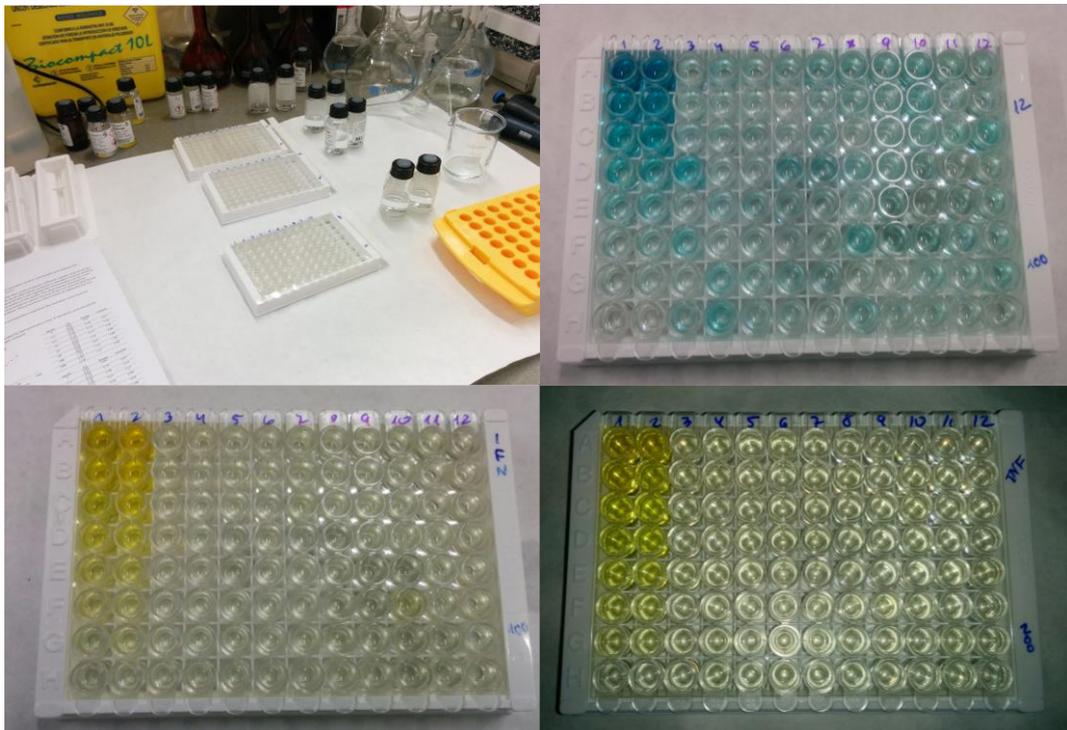


Figura 8. Imágenes tomadas durante las determinaciones de interleuquinas y otros biomarcadores.

### 3.5.3 Microbiota intestinal.

Se aisló el ADN de las muestras de heces recogidas por los pacientes siguiendo el método de trabajo de Yuan et al.(124) con modificaciones menores, a

través de *MagnaPure Compact System* (Roche Life Science), que evita sesgos en la purificación del ADN hacia la tergiversación de bacterias Gram positivas.

Posteriormente, se amplificó la región hipervariable V3-V4 del gen 16s ARNr bacteriano y realizar así la secuenciación masiva. Se utilizaron cebadores eubacterianos etiquetados y secuenciados con una plataforma *MiSeq Illumina*, siguiendo el método *Illumina* para la preparación y secuenciación de bibliotecas en estudios de metagenómica.



Figura 9. Secuenciador *MiSeq Illumina*.

Finalmente, se realizó la comparación de la composición bacteriana de todos los pacientes del estudio con la de individuos sanos del mismo sexo y edad, extraídos del Proyecto de Microbioma Humano (<http://hmpdacc.org/>).<sup>(90)</sup>

### 3.6 TRATAMIENTOS UTILIZADOS DURANTE EL ESTUDIO.

#### 3.6.1 Producto experimental.

El probiótico que se utilizó en el estudio clínico estaba compuesto por *Bifidobacterium longum* CECT 7347, *Bifidobacterium lactis* CECT 8145 y *Lactobacillus*

*rhamnosus* CECT 8361, en proporción 1:1:1, formulado en base maltodextrina, con nombre CBP-00402-B.

Estas cepas se seleccionaron por sus propiedades antiinflamatorias y moduladoras de la microbiota intestinal. Datos previos sugerían que las cepas *B. lactis* CECT8145 y *L. rhamnosus* 8361 tienen propiedades antioxidantes en el modelo *Caenorhabditis*. La cepa *B. Longum* tiene propiedades antiinflamatorias y moduladoras de la microbiota.

Se utilizó un producto a estudio pendiente de autorización. Fue preparado por Biopolis, S.L. y encapsulado por Korott, S.L. La forma farmacéutica fue una cápsula que contenía una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC por gramo.

El tratamiento control fue un placebo, enmascarado con la misma presentación que el tratamiento activo y que contenía únicamente el excipiente, la maltodextrina.

Para evitar sesgos y mantener el ciego del estudio, las cápsulas de los dos grupos tenían el mismo tamaño y aspecto. Durante el mismo, los pacientes tuvieron que tomar una cápsula al día del producto, antes de la comida del mediodía.

#### 3.6.1.1 Medidas para valorar el cumplimiento terapéutico.

Los investigadores fueron los responsables de comprobar que las pautas de tratamientos dispensadas a lo largo del estudio se ajustaban al diseño establecido. Se registraba en el cuaderno de recogida de datos un contaje de la medicación sobrante que el paciente aportaba, guardando en cada visita los envases usados dentro de sus respectivas cajas, y se les sustituían por nuevos, de forma que se controlaba el uso y cumplimiento de la medicación suministrada.

#### 3.6.2 Corticosteroides tópicos.

Los corticoides tópicos permitidos durante el estudio y pautados según el valor obtenido en el PASI de los pacientes fueron los siguientes:

- PASI > 6: Daivobet® 50 µg/0,5 mg/g pomada, de laboratorio CIMA. Cada gramo de pomada contiene 50 µg de calcipotriol (como monohidrato) y 0,5 de betametasona (como dipropionato).

- PASI < 6: Elocom® 1mg/g crema. Cada gramo contiene 1 mg de fluorato de mometasona.

### 3.7 SEGURIDAD

Durante el estudio se contabilizaron todos los acontecimientos adversos registrados en el periodo completo del estudio clínico, de manera que fuera posible evaluar la seguridad del tratamiento.

Podemos definir como acontecimiento adverso, cualquier acontecimiento médico acontecido a un paciente o a un sujeto de la investigación clínica al que se le ha administrado un producto farmacéutico, aunque no tenga necesariamente una relación causal con este tratamiento. Puede ser, además, cualquier signo desfavorable o inesperado, incluyendo un hallazgo de laboratorio anormal, síntoma o enfermedad temporalmente asociada con el uso de un producto en investigación, relacionado o no con el mismo.

A la hora de realizar el registro de los mismos, es esencial cumplir las normas para su óptima evaluación, siguiendo en todo momento la documentación del estudio.

#### 3.7.1 Detección y documentación de acontecimientos adversos.

Los investigadores participantes en el estudio clínico se responsabilizaron de registrar cada uno de los acontecimientos adversos comunicados durante el mismo.

En todas las observaciones de los investigadores, se anotaron los que fueron comunicados por el paciente de manera espontánea o como contestación a preguntas de anamnesis dirigida, realizadas por el investigador. Posteriormente, se evaluaron y se anotaron en la hoja correspondiente de recogida de datos de cada participante.

En esas páginas sobre acontecimientos adversos se incluye la naturaleza del evento, el tiempo que perdura, la gravedad y si existe relación con el producto. Además, se detalla si se ha requerido algún tratamiento correctivo.

Una vez documentado un acontecimiento adverso, el paciente fue controlado hasta que los síntomas se redujeron, se estabilizaron o se eliminaron.

Para valorar la gravedad de cada acontecimiento, se utilizaron las siguientes categorías:

- Leve.
- Moderado.
- Grave. Se explican en un apartado posterior (3.7.3).
- Reacción adversa inesperada.

Todas estas categorías y sus definiciones se extraen del Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos (116) y por el Real Decreto 1090/2015, que lo sustituye.(117)

### **3.7.2 Valoración de la causalidad.**

La causalidad o relación con el tratamiento se valoró según las siguientes categorías:(125)

- Definitiva: el acontecimiento adverso sigue una secuencia temporal razonable a partir del momento de la administración del fármaco, sigue un patrón de respuesta conocida y no puede ser explicado razonablemente por otros factores y, además, uno o más de los siguientes:
  - a) aparece después de la administración del fármaco.
  - b) mejora al suspender la administración del fármaco.
  - c) reaparece a la reintroducción del fármaco.
- Probable: el acontecimiento adverso sigue una secuencia temporal razonable a partir del momento de la administración del fármaco y sigue un patrón de respuesta conocida y no puede ser explicado razonablemente por otros factores.
- Posible: el acontecimiento adverso sigue una secuencia temporal razonable a partir del momento de la administración del fármaco y/o sigue un patrón de respuesta conocida del fármaco en estudio, aunque podría ser producida por otros factores.

- Improbable: el acontecimiento adverso es más probable que esté producido por otros factores y no sigue un patrón de respuesta conocida del fármaco en estudio.
- No relacionado: el acontecimiento adverso está claramente relacionado con otros factores.

### **3.7.3 Procedimientos para la notificación inmediata de acontecimientos graves o inesperados.**

Todos los acontecimientos adversos graves deben ser notificados al promotor del estudio en las 24 horas siguientes a su conocimiento por el investigador.

Según el Real Decreto 223/2004 de ensayos clínicos,(116) es el promotor el que debe notificar a la Agencia Española del Medicamento los acontecimientos adversos graves sucedidos. El Real Decreto considera acontecimiento grave aquel que cumple las siguientes características:

- Produce la muerte del sujeto.
- Pone la vida en peligro.
- Requiere la hospitalización del sujeto.
- Causa incapacidad significativa o permanente, una anormalidad congénita o defecto de nacimiento o una sobredosis (accidental o deliberada).
- Otras situaciones que no cumplan los criterios, si son importantes desde el punto de vista médico.

### **3.8 PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO.**

Las escalas de gravedad de la psoriasis (PASI y PGA) se realizaron en todas las ocasiones por facultativos expertos en psoriasis.

### **3.8.1 Contenido de las visitas.**

El estudio tuvo una duración de 12 semanas de intervención. Se estructuró en cuatro visitas presenciales, que se realizaron a las 2, 6 y 12 semanas desde el inicio.

En este apartado se van a describir cada una de esas visitas y su contenido, así como todas las acciones realizadas, siguiendo el protocolo previamente definido.

Antes de realizar ninguno de los procedimientos del estudio, se obtuvo el consentimiento informado.

#### **Primera Visita. Visita basal.**

Los pacientes acudieron a la primera consulta en la Unidad de Dermatología donde se recogieron los siguientes datos de cada uno, para la valoración de su inclusión en el estudio.

- Datos demográficos: fecha, nombre, número de historia clínica, edad, sexo, domicilio, antecedentes personales, medicación crónica habitual, año de diagnóstico de la psoriasis, tratamientos previos recibidos y tratamiento para la psoriasis en el momento de ser incluido en el estudio.

- Datos clínicos: se le interrogó sobre la existencia de patologías concomitantes y se le exploró para determinar el índice PASI y el índice PGA en esa primera visita de inclusión.

- Datos analíticos: se obtuvieron determinaciones de hemograma y bioquímica, incluyendo urea, creatinina, proteína C reactiva, transaminasas, sodio y potasio.

- Datos de inflamación sistémica: se determinaron la presencia de ADN bacteriano y los niveles de biomarcadores de inflamación: IF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-23. La muestra se obtuvo mediante medidas estériles para estudio.

- Datos obtenidos de otras muestras biológicas diferentes a la sangre: se tomó una muestra de heces, como muy tarde en los 3 días siguientes a la toma de muestra de sangre, para determinar, mediante secuenciación bacteriana, el DNA

cuantitativo en heces de las principales enterobacterias presentes en estas muestras.

Una vez comprobado que el paciente cumplía todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, se asignó un número de aleatorización y se le entregó el tratamiento asignado. Se entregó también el cuaderno del paciente, donde podía anotar los acontecimientos adversos y la medicación concomitante que hubiera utilizado durante el periodo del estudio, de manera que le sirviera de recordatorio para comunicarlo al investigador durante las visitas de control. También se le citó para la próxima visita, intentando ajustarse al intervalo de tiempo entre visitas definido en el protocolo, con una desviación de  $\pm 3$  días.

#### **Segunda visita y tercera visita: a las 2 y 6 semanas.**

Se anotó la fecha y se interrogó sobre la situación clínica del paciente. Se analizó la posible recurrencia o recidiva de la psoriasis y, en caso de nuevo brote, el intervalo libre de enfermedad. Se preguntó sobre los efectos adversos desde el inicio del tratamiento.

Únicamente se recogieron datos clínicos.

#### **Cuarta visita y visita fin de estudio: 12 semanas.**

En la última visita del estudio, se llevaron a cabo los mismos pasos de las visitas anteriores, incluyendo la recogida de muestras y las determinaciones analíticas de la visita 1.

Tabla 4. Esquema del procedimiento de las visitas del estudio.

Visita	1	2	3	4
Semana	0	2	6	12
Criterios de inclusión/exclusión	X			
Firma del consentimiento informado	X			
Historia clínica	X			
Exploración física	X	X	X	X
Determinaciones de laboratorio y test de embarazo	X			X
PASI	X	X	X	X
PGA	X	X	X	X
Tratamientos concomitantes		X	X	X
Entrega del cuaderno del paciente	X			
Recogida de datos del cuaderno diario		X	X	X
Evaluación de acontecimientos adversos		X	X	X

### 3.9 SISTEMAS DE CONTROL DE CALIDAD DEL ESTUDIO.

#### 3.9.1 Visitas de monitorización.

Para comprobar que todos los procedimientos y recogida de datos se estaban haciendo de manera correcta, un monitor especialista en ensayos clínicos realizó visitas periódicas en las que revisó los CRD y los comparó con las historias clínicas de los pacientes del Centro Dermatológico de Alicante.

Durante todo el periodo de estudio se llevaron a cabo nueve visitas de monitorización, incluyendo la visita de cierre cuando todos los datos estuvieron aclarados y recogidos.

Las incidencias que debían subsanarse, fueron comunicadas a los investigadores al finalizar las visitas de monitorización.

### 3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

En los análisis de eficacia, tanto en el principal como en los secundarios, se compararon los datos obtenidos en todas las visitas, incluyendo los datos basales.

Para detectar una diferencia en la mejoría clínica evaluada por el PASI, eran necesarios 45 pacientes por grupo, asumiendo un 10% de pérdidas durante el seguimiento, un error tipo I de 0,05 y una potencia del 80%, para detectar una diferencia entre grupos del 30% en la respuesta en una prueba t bilateral.

En el análisis estadístico se incluyeron a todos los pacientes que habían completado alguna visita del estudio, es decir, siguiendo un análisis por protocolo. En primer lugar, se estudió la normalidad de la variable y, según el resultado obtenido, se seleccionó la prueba estadística más idónea.

Las variables cuantitativas descriptivas, se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar y como frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba de U Mann-Whitney o T de Student, mientras que las variables cualitativas se analizaron mediante las pruebas de chi-cuadrado y Fisher. Se consideró como indicador de significación estadística un valor de p menor a 0,05. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa *IBM SPSS Statistics* para *Windows*, versión 22 (SPSS Inc. Chicago, IL) y R versión 3.2.3.

En el caso del análisis del microbioma, se llevó a cabo usando el programa *specaccum* en el *vegan package*, implementado para la versión 3.2.3 de R. Para el análisis de la diversidad se utilizó el programa QIIME.



## **IV - RESULTADOS**



## IV – RESULTADOS

### 4.1 PARTICIPANTES DEL ESTUDIO.

#### 4.1.1 Diagrama CONSORT.

Para describir el flujo y evolución de los pacientes en el estudio, se presenta a continuación un Esquema CONSORT.

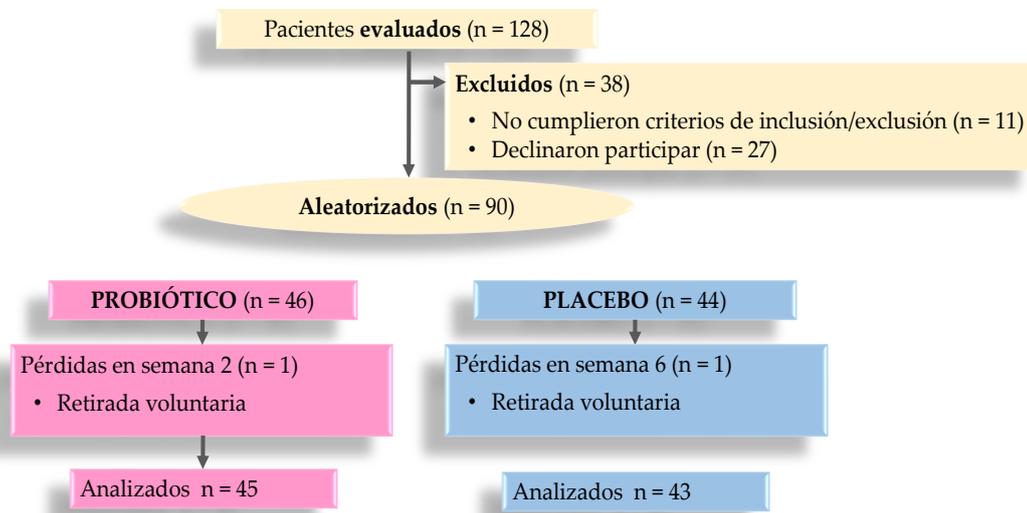


Figura 10. Diagrama CONSORT.

Durante el transcurso del estudio fueron evaluados un total de 128 pacientes, para poder incluir a los 90 participantes que cumplían los criterios de inclusión y exclusión. La mayoría de los que finalmente no fueron incluidos, rechazaron participar tras recibir toda la información referente al estudio.

Los pacientes incluidos se aleatorizaron en dos grupos de intervención, asignándose 46 de ellos al grupo probiótico y 44 al grupo placebo. Únicamente abandonaron dos pacientes, uno en cada grupo de intervención, de manera voluntaria y debido a que no desearon continuar participando.

Del total de pacientes, 88 finalizaron todas las visitas y fueron analizados para obtener los resultados que se presentan en este apartado de la tesis.

#### 4.1.2 Datos basales.

Al inicio y tras la aleatorización, los pacientes de ambos grupos tenían unas características similares, como se puede observar en la siguiente tabla de homogeneidad.

Tabla 5. Datos demográficos.

	Probiótico	Placebo	P
Edad (años), media (DE)	41,57 (13,23)	43,09 (10,32)	0,545
Años de evolución de la enfermedad (años), media (DE)	19,22 (13,73)	20,98 (13,69)	0,548
Sexo (masculino), N (%)	27 (58,70%)	27 (61,36%)	0,796
Peso (kg), media (DE)	76,29 (18,69)	79,22 (13,47)	0,398
Talla (cm), media (DE)	169,96 (9,91)	170,63 (9,27)	0,737
Antecedentes psoriasis (Sí), N (%)	12 (26,09%)	19 (43,18%)	0,070
Fumadores (Sí), N (%)	13 (28,26%)	14 (31,82%)	0,713
<b>Bioquímica y hematología. Media (DE)</b>			
Leucocitos	8,06 (2,38)	7,63 (1,98)	0,361
Hemáties	4,82 (0,45)	4,89 (0,49)	0,504
Hemoglobina	14,63 (1,53)	14,54 (1,30)	0,783
Hematocrito	42,73 (4,02)	42,58 (3,23)	0,841
VCM	86,95 (12,70)	87,48 (7,35)	0,550
HCM	30,39 (2,15)	29,90 (2,74)	0,187
CHCM	34,13 (1,24)	34,15 (1,33)	0,943
Plaquetas	238,55 (62,71)	266,79 (78,75)	0,630
Neutrófilos	56,86 (8,84)	57,19 (8,32)	0,965
Linfocitos	31,54 (8,65)	32,53 (7,32)	0,559
Monocitos	7,75 (4,48)	7,25 (2,65)	0,747
Eosinófilos	2,97 (2,21)	2,50 (1,53)	0,401
Basófilos	0,94 (1,90)	0,50 (0,30)	0,087

Tabla 5. Datos demográficos (continuación).

Actividad Protrombina	13,66 (3,36)	14,50 (9,27)	0,115
GOT	22,47 (7,33)	25,43 (13,00)	0,611
GPT	22,63 (11,11)	27,52 (18,85)	0,482
GGT	27,67 (19,76)	28,07 (16,48)	0,542
Urea	28,97 (11,39)	30,48 (9,49)	0,173
Creatinina	9,10 (39,83)	3,33 (16,77)	0,759
Glucosa	93,03 (27,61)	96,57 (27,44)	0,374
Colesterol	189,80 (45,96)	195,30 (39,24)	0,545
LDL	198,37 (38,79)	114,55 (33,10)	0,420
HDL	54,07 (19,07)	70,64 (136,38)	0,317
Triglicéridos	151,45 (99,51)	159,14 (94,98)	0,628
Proteína C reactiva	0,34 (0,41)	0,49 (0,48)	0,066
<b>Severidad de la psoriasis</b>			
PASI, media (DE)	11,68 (5,11)	11,45 (4,24)	0,787
PGA (Moderada), N (%)	36 (78,26%)	36 (81,81%)	0,910

#### 4.2 RESULTADOS OBTENIDOS.

Como resumen de los resultados podemos destacar que se alcanza uno de los *End Point* del estudio, ya que el porcentaje de pacientes con respuesta clínica al tratamiento (disminución de al menos un 75% en el valor del PASI respecto al basal) es mayor en el grupo tratado con el preparado probiótico que en el grupo tratado con placebo.

En el grupo probiótico, un 66,7 % de los pacientes alcanza el PASI 75 frente a un 41,9% en el grupo placebo. Esto supone un 24% más de pacientes que consiguen una respuesta y que, por lo tanto, no precisarán de otros tratamientos posteriores. La respuesta conseguida con el probiótico es clínicamente significativa ya que se observan grandes mejoras en los síntomas de la enfermedad.

Por otro lado, un 25% de los pacientes del grupo placebo no consigue una respuesta al tratamiento y no alcanza el PASI 50 por lo que se consideraría un fracaso terapéutico, mientras que en el grupo probiótico un 91% de los pacientes responde al tratamiento. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $P=0,048$ ).

Si nos centramos en los valores del PASI durante el estudio, el grupo probiótico presentó un porcentaje de reducción mayor en cada una de las visitas siendo este de un 78% en la visita final, 13 puntos por encima del grupo placebo. Estas diferencias son notorias desde la segunda semana de tratamiento y claramente significativas desde la semana 6.

Se obtuvo una relevancia clínica en la escala de PGA, dónde el 48,9% de los pacientes del grupo probiótico obtuvieron las puntuaciones más bajas (0 o 1 punto equivalente a limpia o prácticamente limpia), frente a un 30,2% en el grupo placebo.

En cuanto a los marcadores de inflamación, los estudios precedentes nos indican que puede haber un descenso significativo en ellos. En este estudio no se observan dichas diferencias al comparar los datos entre los dos grupos de intervención.

El número de efectos adversos fue bajo y los pacientes continuaron en el estudio hasta el final de este excepto dos de ellos, que abandonaron por motivos que no estaban relacionados con el tratamiento o con los resultados, por lo que no fue un sesgo en el estudio. Ninguno de ellos estuvo asociado a la toma de probióticos o placebo. No se observó ningún efecto secundario severo durante el estudio en ninguno de los grupos y ningún paciente fue retirado del estudio a consecuencia de los efectos del tratamiento.

Por último, el seguimiento realizado a los pacientes nos muestra que el probiótico es seguro y bien tolerado, ya que no se observan diferencias en los acontecimientos adversos registrados en los grupos.

A continuación, se describen con detalle los resultados para cada una de las variables primarias y secundarias analizadas en este estudio clínico de intervención.

#### 4.2.1 Variable primaria de estudio: PASI 75.

Esta variable analiza el porcentaje de pacientes que muestran un cambio con mejoría mayor del 75% en el PASI, en los dos grupos de tratamiento y en cualquiera de las visitas de seguimiento del estudio.

Para ello, se realizó una comparativa de los valores obtenidos en cada grupo de intervención de los pacientes que conseguían alcanzar esa reducción del 75% del PASI, respecto a su valor basal, en cada una de las visitas de seguimiento del estudio. Se describe a continuación los datos de la tabla de contingencia y la prueba de Chi-cuadrado en cada una de ellas.

- Visita 2, a las 2 semanas de intervención.

Tabla 6. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 2.

Tratamiento	Pacientes que alcanzan PASI 75 en la visita 2		TOTAL
	Sí	No	
Probiótico	3	43	46
Placebo	0	44	44
TOTAL	3	87	90

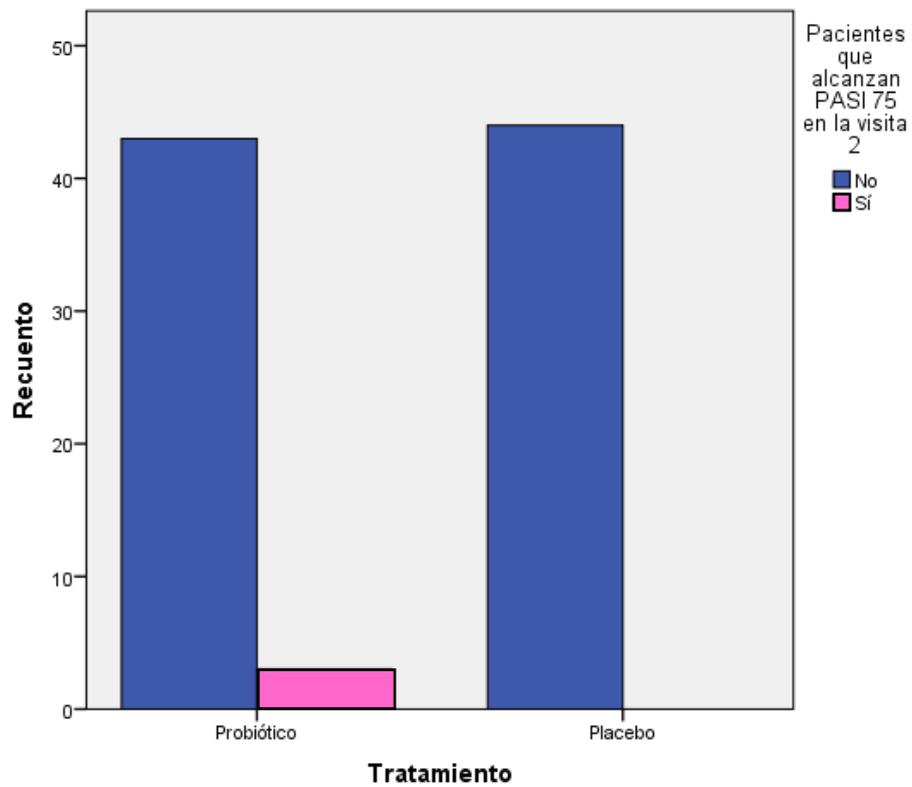


Gráfico 1. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 2.

No se encontraron diferencias significativas ( $p = 0,085$ ).

- Visita 3, a las 6 semanas de intervención.

Tabla 7. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 3.

Tratamiento	Pacientes que alcanzan PASI 75 en la visita 3		TOTAL
	Sí	No	
Probiótico	15	30	45
Placebo	5	39	44
TOTAL	20	69	89

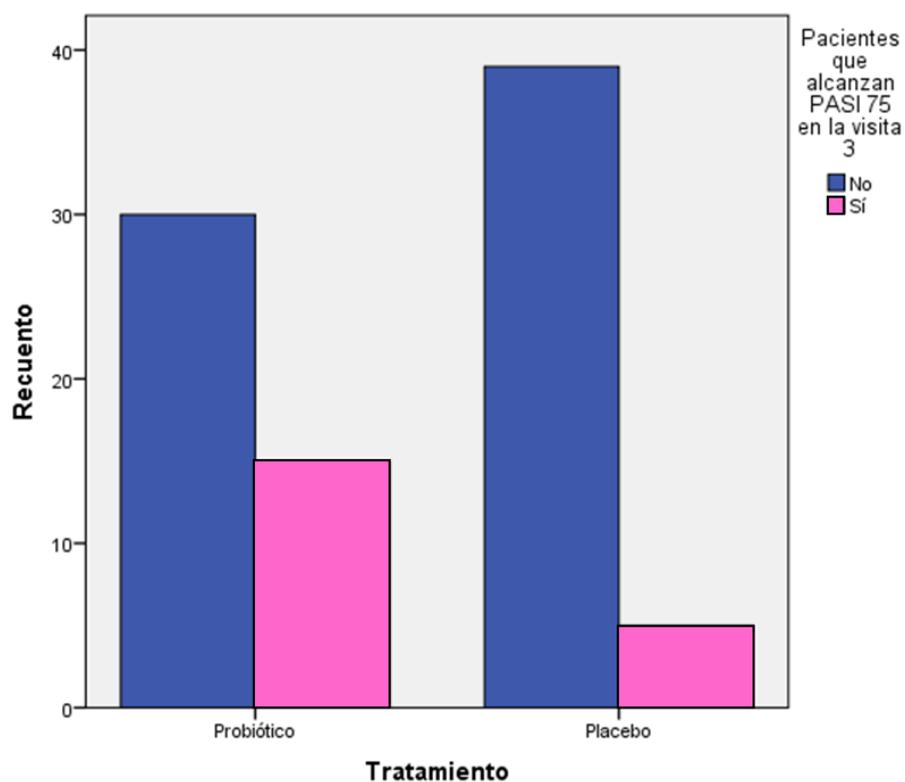


Gráfico 2. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 3.

En esta visita, se encontraron diferencias significativas alcanzándose en mayor proporción el PASI 75 en el grupo probiótico en comparación con el grupo placebo ( $p = 0,013$ ).

- Visita 4, a las 12 semanas de intervención y fin de estudio.

Tabla 8. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 4.

Tratamiento	Pacientes que alcanzan PASI 75 en la visita 4		TOTAL
	Sí	No	
Probiótico	30	15	45
Placebo	18	25	43
TOTAL	48	40	88

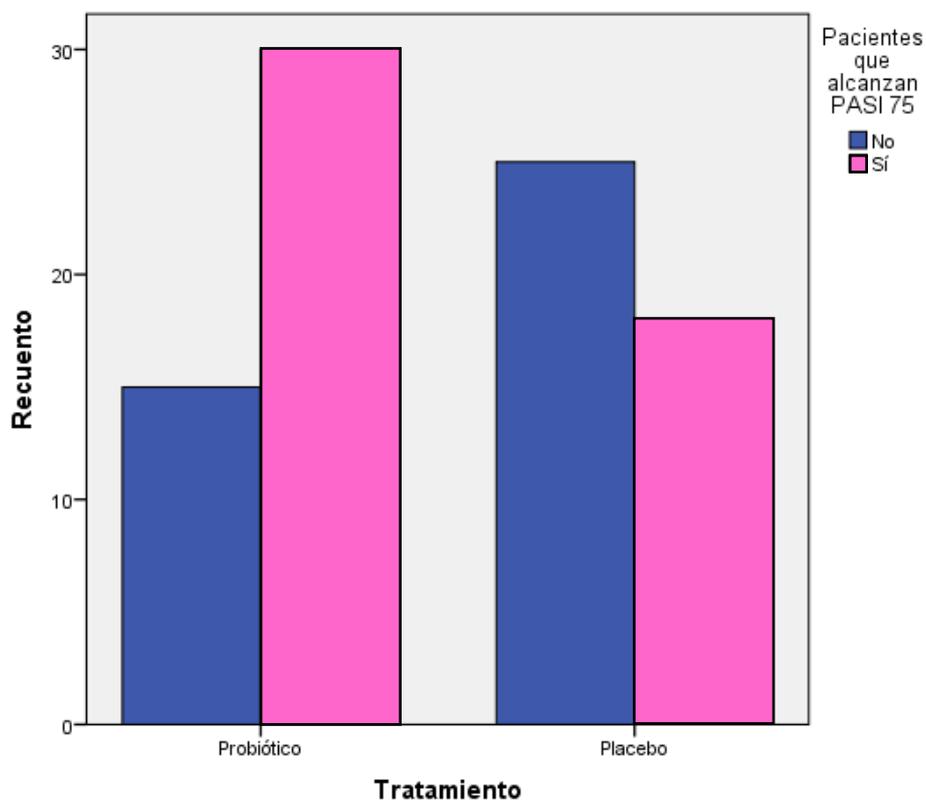


Gráfico 3. Pacientes que alcanzan el PASI 75 en la visita 4.

En el caso de la visita 4, la diferencia es de nuevo significativa ( $p = 0,019$ ).

Treinta de 45 pacientes (66,7%) en el grupo probiótico y 18 de 43 (41,9%) en el grupo placebo mostraron una reducción del 75% en el valor del PASI, es decir, alcanzaron el PASI 75 durante el período de tratamiento de 12 semanas. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p = 0,013$ ).

Esto supone que cerca de un 25% de pacientes extra se benefician de una respuesta completa al añadir el probiótico al tratamiento, cuando se compara con los resultados con en el grupo placebo.

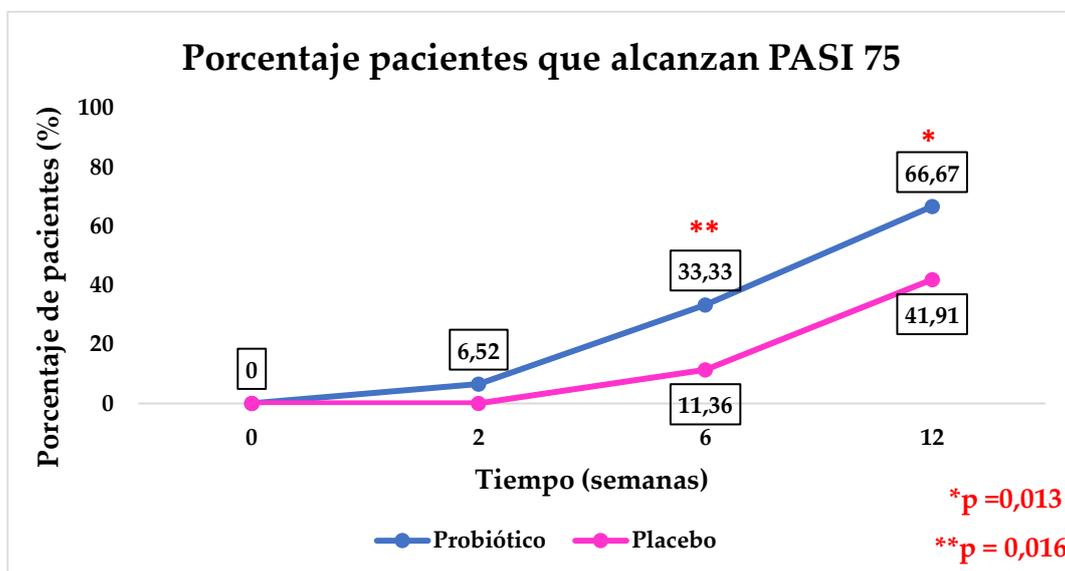


Gráfico 4. Pacientes que alcanzan el PASI 75 expresado en porcentaje.

#### 4.2.1.1 Evolución del PASI.

Se comprobó la normalidad de cada variable, la reducción en cada visita y el PASI basal de la visita 1, en números absolutos.

La variable PASI V1 no sigue una distribución normal, por lo que se realizó la prueba de U Mann-Whitney ( $p = 0,809$ ).

No hubo una diferencia significativa al comparar la variable entre los dos grupos de intervención en el momento de inclusión de los pacientes, por lo que podemos afirmar que no hay diferencias basales entre los pacientes de los dos grupos y que la población es homogénea. Esto es así por la aleatorización y estratificación por bloques realizada.

Por otro lado, las variables de reducción del PASI de las visitas 2 y 3 siguen una distribución normal. Se compararon los grupos mediante la T de Student, siendo la  $p = 0,033$  en la visita 2 y  $p = 0,02$  en la visita 3.

Por último, en la reducción de la visita 4 se encontraron de nuevo diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,01$ ).

En cuanto a la reducción del PASI al comparar entre los dos grupos, se encontraron diferencias significativas en las tres visitas: visita 2 ( $p = 0,033$ ), visita 3 ( $p = 0,02$ ) y visita 4 ( $p = 0,01$ ).

#### 4.2.2 Variable primaria de estudio: PGA.

En esta variable se ha analizado el número de pacientes que mejora el valor de la PGA en cada grupo de tratamiento. Para ello, se realizó una tabla de contingencia y la prueba de Chi-cuadrado.

Tabla 9. Pacientes que mejoran y no mejoran el valor de la PGA al final del estudio.

	Probiótico	Placebo
No mejoran	4	11
Mejoran	41	32
TOTAL	45	43

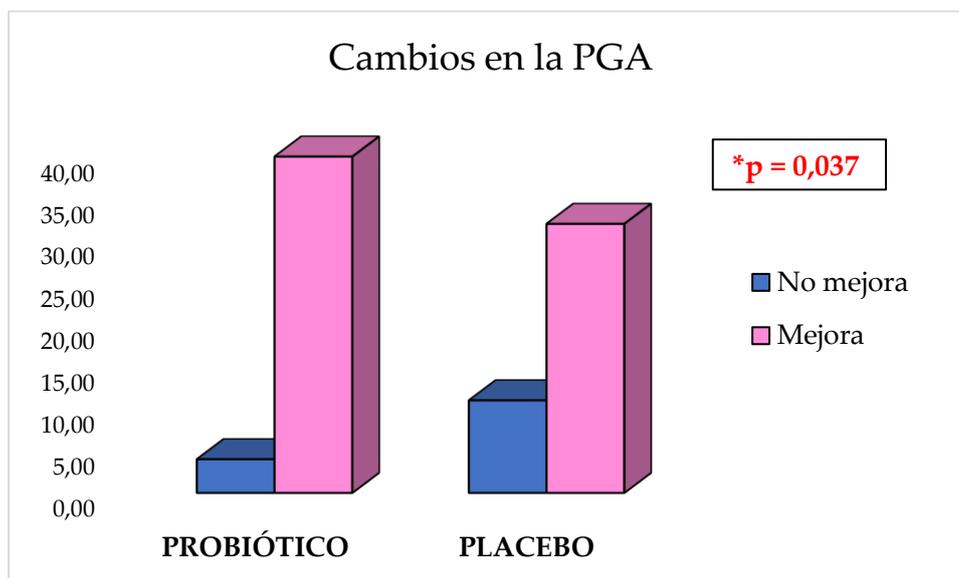


Gráfico 5. Pacientes que mejoran y no mejoran el valor de la PGA al final del estudio.

Como análisis complementario, se analizó el porcentaje de pacientes que se encontraban en cada categoría del índice PGA, en cada una de las visitas del estudio. Se muestran los resultados de forma descriptiva.

- Visita 1 o basal, para homogeneidad de la muestra.

Tabla 10. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 1.

PGA VISITA 1	Tratamiento		TOTAL
	Probiótico	Placebo	
Leve	4	3	7
Moderada	36	36	72
Moderada a Grave	6	5	11
TOTAL	46	44	90

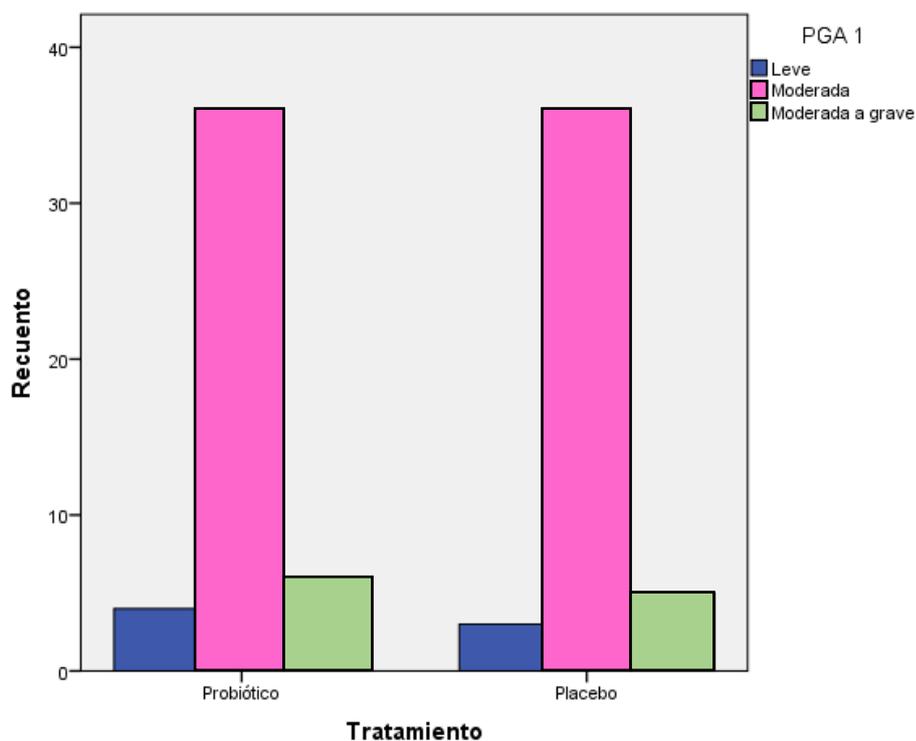


Gráfico 6. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 1.

- Visita 2, a las 2 semanas de intervención.

Tabla 11. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 2.

PGA VISITA 2	Tratamiento		TOTAL
	Probiótico	Placebo	
Prácticamente limpia	1	0	1
Leve	13	9	22
Moderada	31	31	62
Moderada a Grave	1	4	5
TOTAL	46	44	90

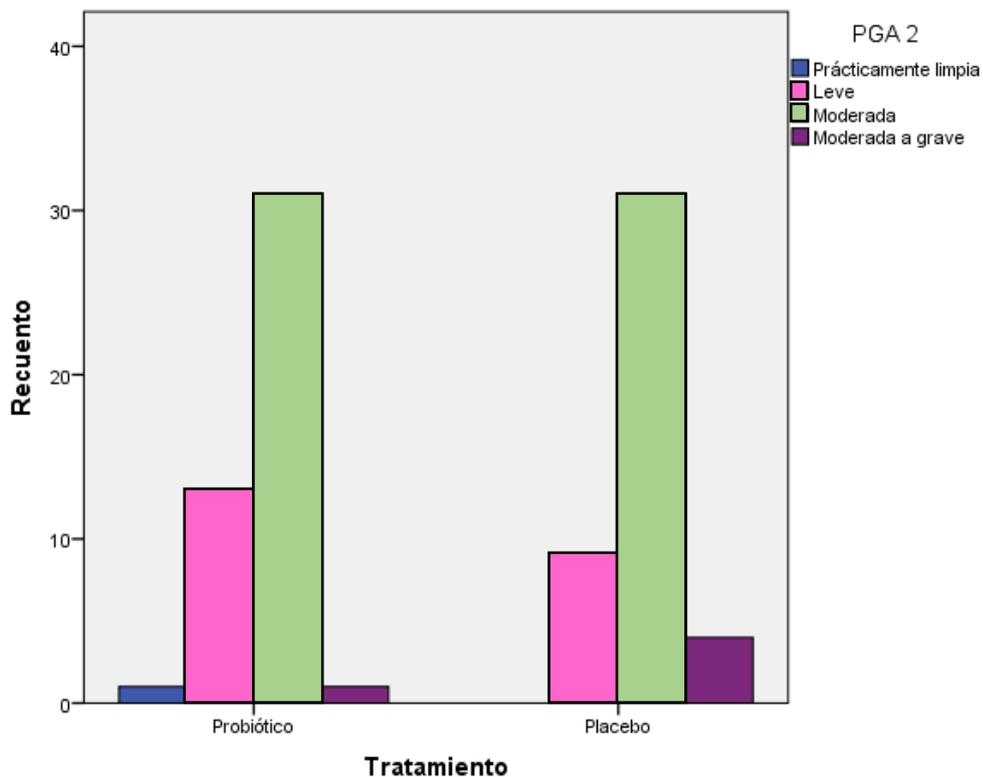


Gráfico 7. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 2.

- Visita 3, a las 6 semanas de intervención.

Tabla 12. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 3.

PGA VISITA 3	Tratamiento		TOTAL
	Probiótico	Placebo	
Limpia	1	0	1
Prácticamente limpia	6	3	9
Leve	20	25	45
Moderada	0	3	3
Moderada a Grave	0	3	3
TOTAL	45	44	89

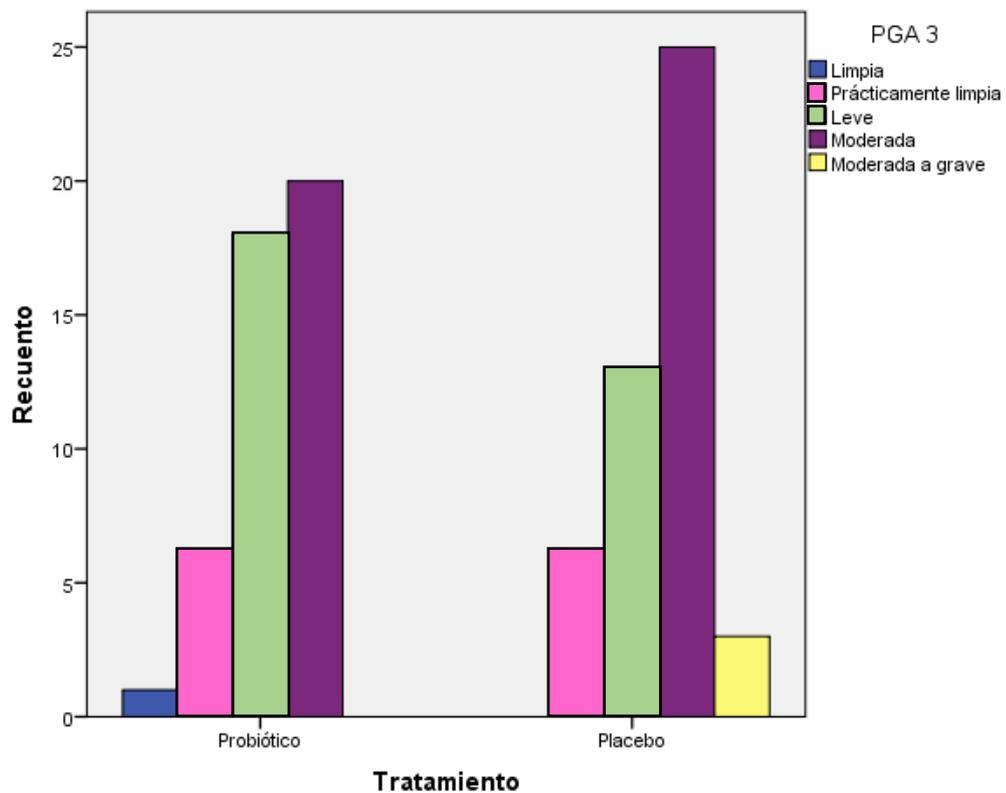


Gráfico 8. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 3.

- Visita 4, a las 12 semanas de intervención y fin de estudio

Tabla 13. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 4.

PGA VISITA 4	Tratamiento		TOTAL
	Probiótico	Placebo	
Limpia	5	5	10
Prácticamente limpia	19	8	27
Leve	15	18	33
Moderada	6	9	15
Moderada a Grave	0	3	3
TOTAL	45	43	88

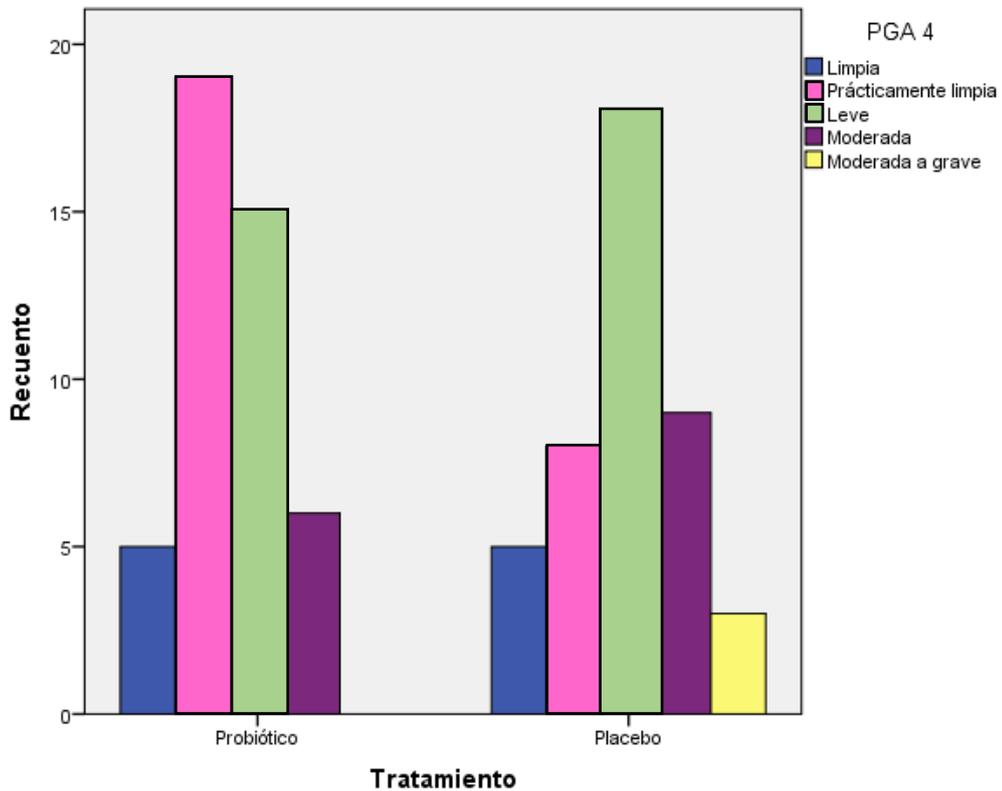
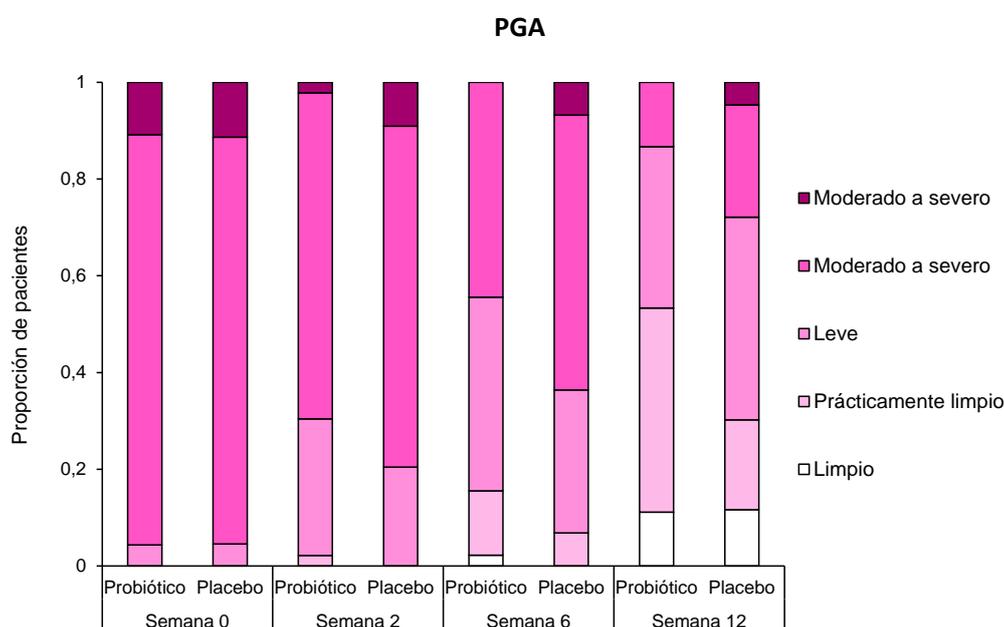


Gráfico 9. Categoría de la PGA en ambos grupos en la visita 4.

La evolución de la variable PGA total del estudio se muestra en el Gráfico 10.

Debemos considerar su importancia clínica, ya que en el grupo probiótico más de la mitad de los pacientes finalizan el estudio en las categorías de limpios o prácticamente limpios.

Gráfico 10. Evolución de la variable PGA.



### 4.2.3 Variables secundarias.

#### 4.2.3.1 PASI 50.

Se realizó una comparativa de los pacientes que no conseguían alcanzar al menos una reducción del 50% del PASI, respecto a su valor basal en cada una de las visitas de seguimiento del estudio. Estos pacientes se definieron como no respondedores.

Para ello, se realizó una tabla de contingencia y la prueba de Chi-cuadrado en cada visita.

- Visita 2, a las 2 semanas de intervención.

Tabla 14. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 2.

Tratamiento	Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 2		TOTAL
	Sí	No	
Probiótico	10	36	46
Placebo	5	39	44
TOTAL	15	75	90

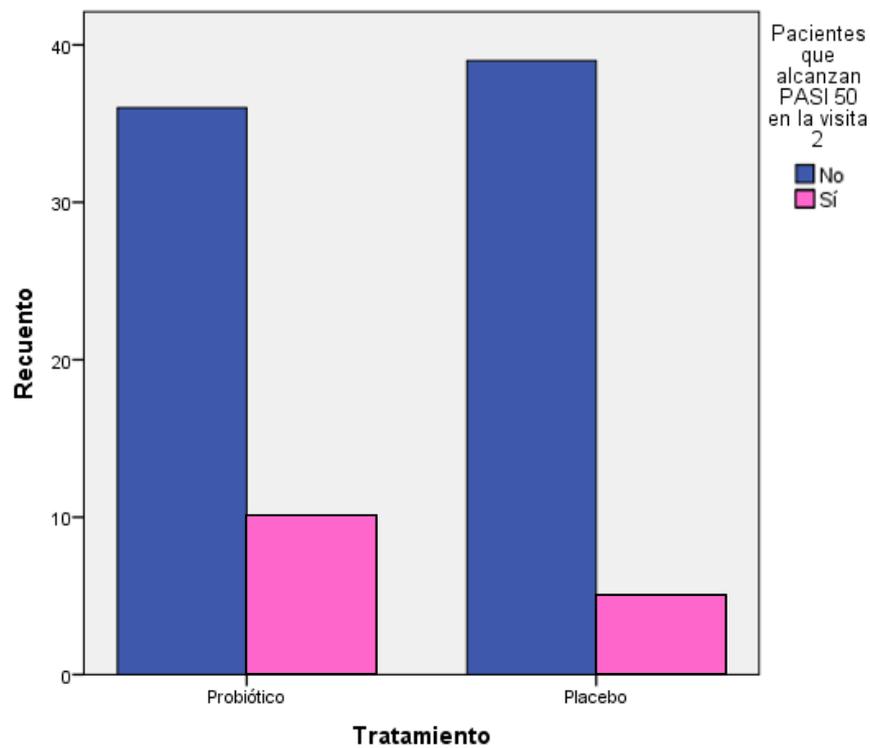


Gráfico 11. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 2.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,187$ ).

- Visita 3, a las 6 semanas de intervención.

Tabla 15. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 3.

Tratamiento	Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 3		TOTAL
	Sí	No	
Probiótico	30	15	45
Placebo	17	27	44
TOTAL	47	42	89

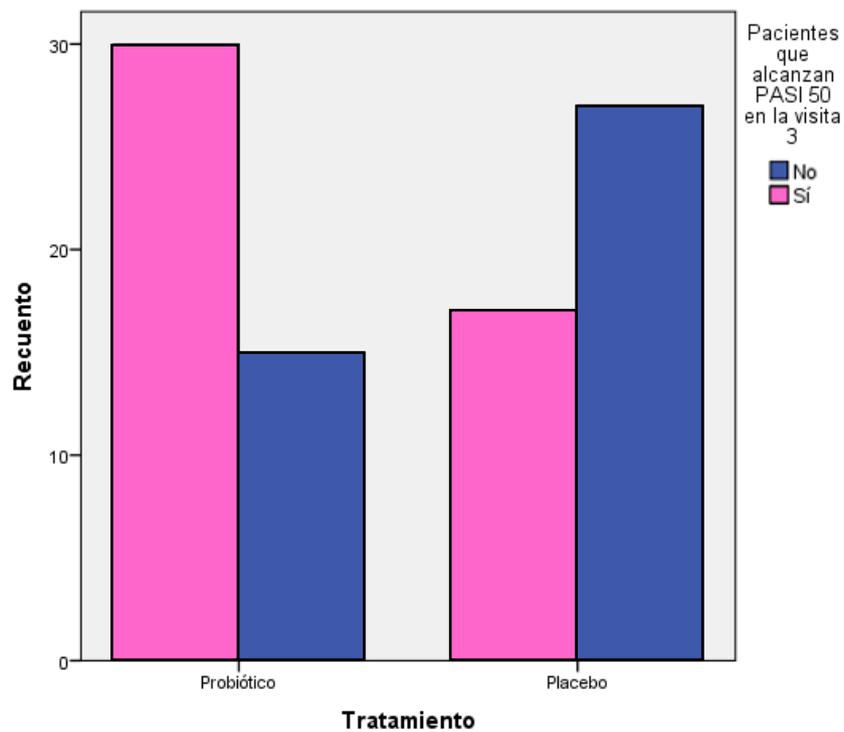


Gráfico 12. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 3.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,008$ ).

- Visita 4, a las 12 semanas de intervención y fin del estudio.

Tabla 16. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 4.

Tratamiento	Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 4		TOTAL
	Sí	No	
Probiótico	40	5	45
Placebo	32	11	43
TOTAL	72	16	88

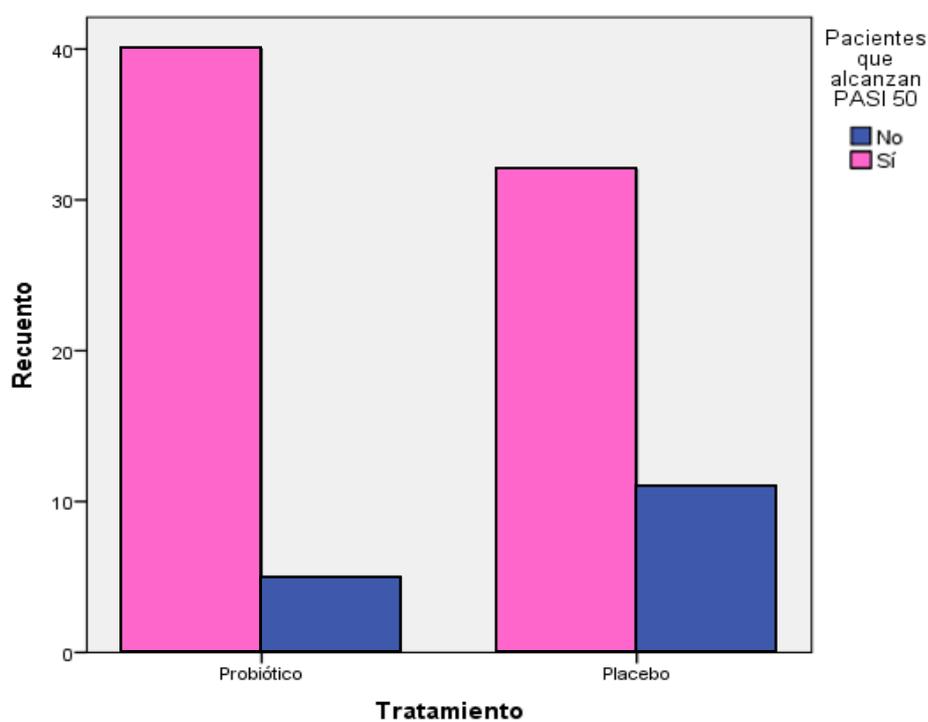


Gráfico 13. Pacientes que alcanzan PASI 50 en la visita 4.

No se encontraron diferencias significativas al final del estudio en esta variable secundaria ( $p = 0,079$ ).

Tras la intervención, los pacientes del grupo probiótico alcanzan en un mayor porcentaje (91,1% de pacientes) una respuesta PASI 50 que la proporción de pacientes en el grupo placebo (75%), con una diferencia estadísticamente significativa ( $P=0,048$ ).

Esto supone que un 16% más de pacientes en el grupo placebo finaliza el estudio sin alcanzar al menos el PASI 50 y, por tanto, son candidatos a otros tratamientos.

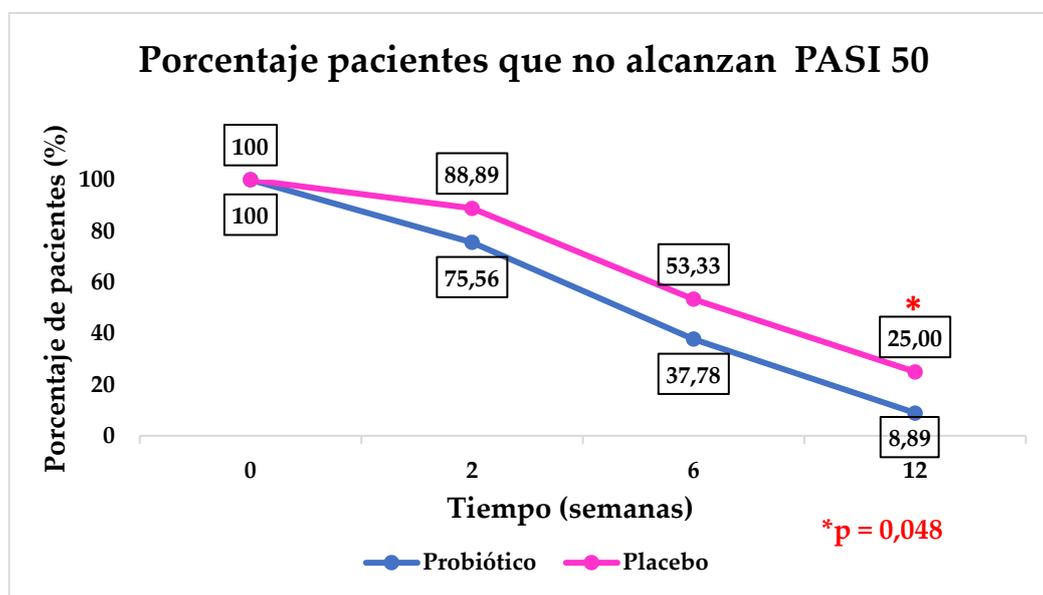


Gráfico 14. Pacientes que no alcanzan el PASI 50 expresado en porcentaje.

## 4.2.3.2 Variables secundarias analíticas.

**Bioquímica y hemograma final**

No se encontraron diferencias entre grupos en ninguno de los parámetros analizados, al finalizar el tratamiento del estudio.

Tabla 17. Parámetros de bioquímica y hemograma en la visita 4.

	Probiótico	Placebo	P
Leucocitos	7,43 (2,22)	8,08 (2,42)	0,236
Hematíes	4,77 (0,39)	4,82 (0,53)	0,595
Hemoglobina	14,51 (1,45)	14,48 (1,27)	0,804
Hematocrito	41,15 (7,31)	41,98 (3,71)	0,996
VCM	88,59 (5,36)	87,98 (7,59)	0,433
HCM	30,46 (2,19)	30,42 (2,66)	0,937
CHCM	34,37 (1,02)	34,51 (1,20)	0,590
Plaquetas	229,22 (54,22)	251,45 (94,32)	0,220
Neutrófilos	56,86 (8,84)	57,19 (8,32)	0,212
Linfocitos	30,75 (6,94)	29,90 (6,24)	0,585
Monocitos	7,78 (1,95)	7,49 (1,65)	0,485
Eosinófilos	2,35 (1,65)	2,36 (1,57)	0,930
Basófilos	0,56 (0,40)	0,44 (0,19)	0,422
Actividad Protrombina	13,17 (0,87)	13,42 (1,22)	0,237
GOT	22,47 (7,33)	25,43 (13,00)	0,611
GPT	22,63 (11,11)	27,52 (18,85)	0,482
GGT	27,67 (19,76)	28,07 (16,48)	0,542
Urea	28,97 (11,39)	30,48 (9,49)	0,173
Creatinina	9,10 (39,83)	3,33 (16,77)	0,759
Glucosa	93,03 (27,61)	96,57 (27,44)	0,374
Colesterol	189,80 (45,96)	195,30 (39,24)	0,545
LDL	198,37 (38,79)	114,55 (33,10)	0,420

Tabla 17. Parámetros de bioquímica y hemograma en la visita 4 (continuación).

HDL	54,07 (19,07)	70,64 (136,38)	0,317
Triglicéridos	151,45 (99,51)	159,14 (94,98)	0,628
Proteína C reactiva	0,34 (0,41)	0,49 (0,48)	0,066

### **Interleuquinas**

Se analizaron las diferencias en la media de los marcadores de inflamación estudiados: TNF-  $\alpha$ , IFN-  $\gamma$ , IL-12, IL-1  $\beta$ , IL-6 e IL-23. No se encontraron diferencias en ninguna de ellas al comparar datos entre los dos grupos de intervención.

Posteriormente, se hizo una comparación post hoc entre los pacientes que habían alcanzado el PASI 75 frente a los que no lo alcanzaron. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas salvo en los niveles de la IL-1 $\beta$  (P = 0,02).

Tabla 18. Diferencias en los valores de interleuquinas entre los pacientes que habían alcanzado el PASI 75 frente a los que no respondieron.

Marcador de inflamación	Media de la diferencia	p
IL-6	0.84 (-2.36 to 4.03)	0,60
IL-1 $\beta$	6.02 (0.90 to 11.13)	0,02
IFN- $\gamma$	-1.58 (-7.34 to 4.18)	0,58
IL-12	-2.63 (-15.81 to 10.56)	0,69
IL-23	3.96 (-1.12 to 9.04)	0,12
TNF- $\alpha$	-1.82 (-6.19 to 2.55)	0,41

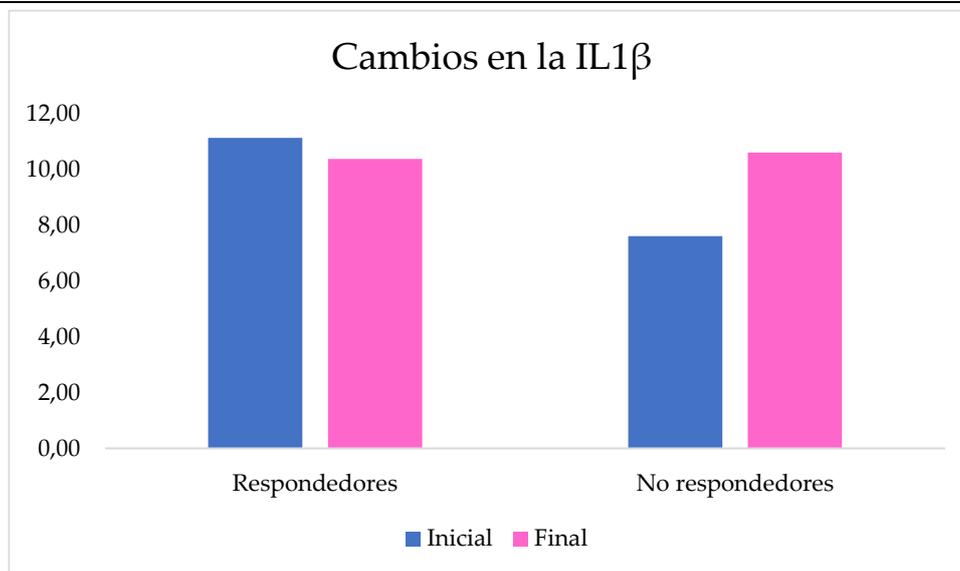


Gráfico 15. Cambios en la IL-1 $\beta$  en los pacientes respondedores y no respondedores.

### **Translocación bacteriana**

Se detectó presencia de translocación bacteriana en un número muy similar de pacientes en ambos grupos, al inicio y al finalizar el estudio clínico.

Tabla 19. Presencia de translocación bacteriana en ambos grupos.

	Visita de inicio	Visita final
Probiótico	7	6
Placebo	8	6

### **Microbiota intestinal**

Respecto a la composición de la microbiota, la distribución de los pacientes al inicio del estudio fue 49 pacientes (56,3%) con enterotipo 1, 7 pacientes (8,1%) con enterotipo 2 y 31 pacientes (35,6%) con enterotipo 3. No hubo diferencias entre los grupos analizados al inicio del estudio.

Comparando el porcentaje de pacientes que no cambiaron el enterotipo al final del estudio en el grupo probiótico y en el grupo placebo, no hubo diferencias estadísticamente significativas (enterotipo 1: 56,7% vs 46,2%; enterotipo 2: 0% vs

42,3% y enterotipo 3: 84,6% vs 53,3%). Los pacientes en el grupo probiótico tienen una tendencia a mantener un enterotipo 1 o una menor tendencia a cambiar al enterotipo 3.

Curiosamente, hay una desaparición total de los géneros *Micromonospora* y *Rhodococcus* y un aumento en *Collinsella* y *Lactobacillus* en el grupo probiótico tras la intervención. En el caso del grupo placebo no se detectó ninguna tendencia.

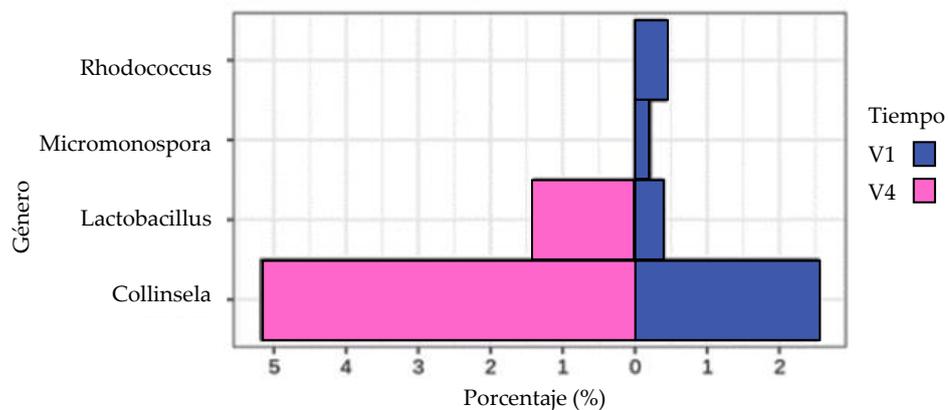


Gráfico 16. Cambios destacados en algunos géneros de la microbiota intestinal en el grupo probiótico.

Además, se detectó una diversidad bacteriana al final del estudio más similar a la población sana en el grupo probiótico, al comparar los resultados de este cambio entre ambos grupos de tratamiento.

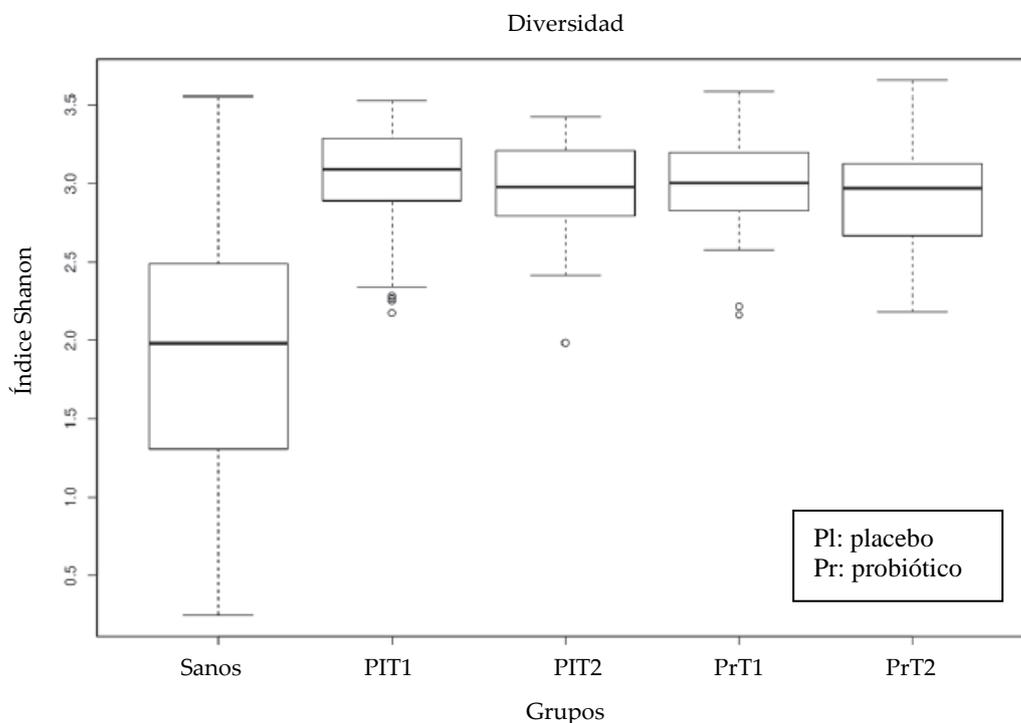


Gráfico 17. Diversidad de la microbiota intestinal antes y al final de la intervención para cada grupo de tratamiento.

#### 4.2.3.3 Análisis de seguridad. Acontecimientos adversos de la intervención.

Se cuantificaron los acontecimientos adversos que se produjeron en cada grupo con el fin de comprobar la seguridad y tolerabilidad del probiótico.

Para ello, se realizó una tabla de contingencia y la prueba de Chi-cuadrado.

Tabla 20. Acontecimientos adversos en cada grupo de intervención.

	Número de acontecimientos adversos		
	0	1	2
Probiótico	34	10	1
Placebo	32	9	4
TOTAL A. adversos	66	19	5

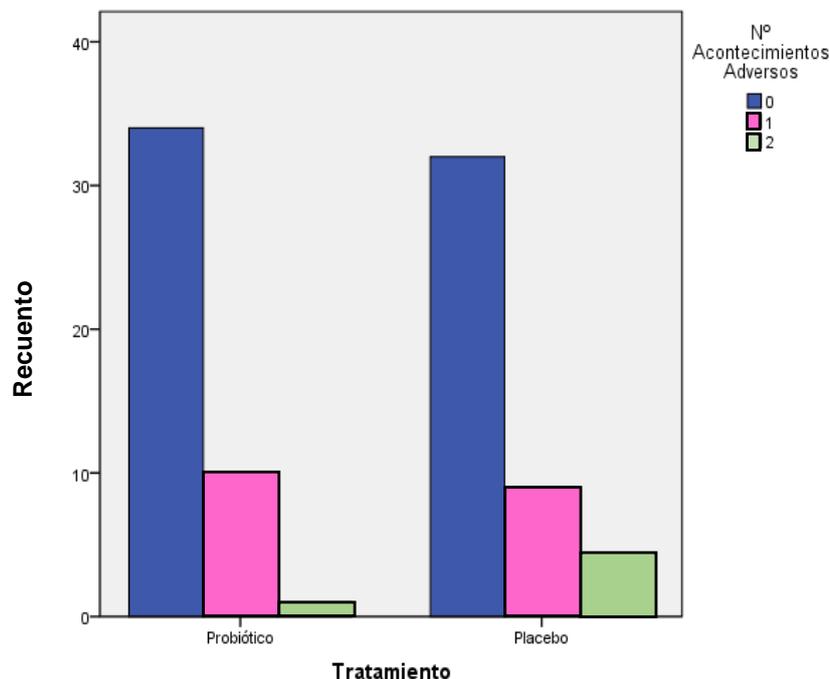


Gráfico 18. Acontecimientos adversos en cada grupo de intervención.

No se encontraron diferencias significativas respecto al número de acontecimientos adversos que se produjo en cada grupo. Por tanto, el probiótico a estudio es seguro, ya que no parece generar más acontecimientos adversos que el placebo ( $p = 0,384$ ).

#### 4.2.3.4 Cumplimiento terapéutico.

Todos los pacientes presentaron un alto cumplimiento terapéutico, comunicando al investigador que la dosis les parecía correcta y cómoda. En las anotaciones que se fueron realizando en la historia clínica y en el cuaderno del paciente a la entrega de nueva medicación, se correspondía fielmente al contaje del producto probiótico o placebo suministrado con respecto a los blísteres vacíos que el paciente entregaba en cada visita.

#### 4.2.3.5 Seguimiento posterior al estudio clínico.

Durante el seguimiento post intervención se produjeron 9 nuevos brotes de la enfermedad en los 45 pacientes incluidos en el grupo probiótico (20%), y 18 recaídas en los 43 pacientes asignados al grupo placebo (41,9%). La diferencia fue estadísticamente significativa ( $p = 0,027$ ).

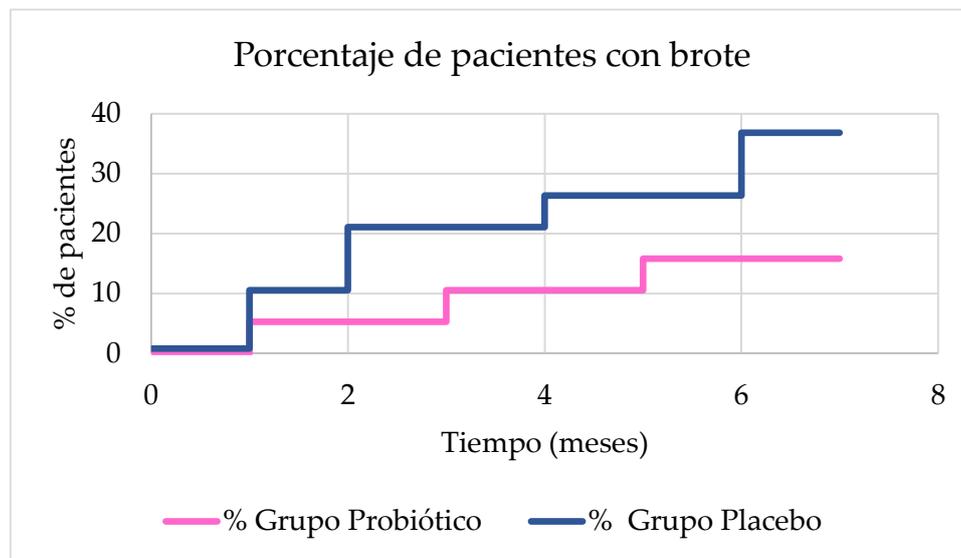


Gráfico 19. Porcentaje de pacientes con recaída en cada grupo de tratamiento.

## V -DISCUSIÓN



## V – DISCUSIÓN

La psoriasis, es una enfermedad crónica que puede ser tratada según su gravedad, mediante un escalonado de terapias para estabilizar los brotes, dejando periodos largos de blanqueamiento, aunque la remisión completa de las lesiones se ha podido observar solo en algunos casos.(126)

El paciente conoce su patología y en múltiples ocasiones evita ser tratado con fármacos complejos que puedan producirle efectos secundarios e influyan en su vida cotidiana. Por ello, la investigación dermatológica busca, en estos casos, terapias coadyuvantes que lo fidelicen y le den la tranquilidad que necesita, para evitar un estado de estrés, que pueda provocar brotes o exacerbación de la enfermedad.

En esta tesis doctoral, se evalúa el efecto de un preparado probiótico en pacientes con psoriasis leve moderada, como coadyuvante en su tratamiento habitual, para posibilitar el manejo de una nueva terapia segura y que sea eficaz, tanto en el control de la enfermedad como en la disminución de la frecuencia de los brotes.

En la metodología empleada en este estudio doble ciego, se dio prioridad a la seguridad de los pacientes participantes, se eliminaron sesgos de causalidad y se aleatorizaron los grupos de intervención, para su evaluación.

Los resultados obtenidos demuestran la eficacia de este preparado, con una mejor respuesta clínica en el grupo de intervención comparado con el grupo placebo. Tanto las variables principales como las secundarias muestran una tendencia similar. El tratamiento fue bien tolerado por los pacientes con apenas efectos secundarios y con alta adherencia al mismo durante el estudio.

Se escogieron dos variables primarias, siguiendo así la guía de la EMA "*Guideline on clinical investigation of medicinal products indicated for the treatment of psoriasis*", y su recomendación formal de utilizar dos *endpoints* para asegurar la eficacia de las variables. Según la EMA, el PASI se considera insuficiente para evaluar la severidad de la psoriasis cuando se utiliza en solitario. Sin embargo,

esto cambia cuando es utilizado junto con una escala validada y estandarizada, como es la PGA.(128).

En el PASI, el evaluador debe observar el eritema, infiltración (espesor), descamación y el porcentaje de área afectada de 4 regiones: cabeza/cuello, tronco, miembros superiores y miembros inferiores/nalgas. En las últimas actualizaciones recogidas por diversos autores, incluyendo una guía terapéutica en la que se seleccionaron 14 estudios de entre 984,(127) se concluye que la evaluación del PASI tiene una validez de contenido adecuado y una variación intraobservador moderada. A pesar de algunas limitaciones, recomendaron el PASI para la evaluación científica de la gravedad de la psoriasis en placas, como ya lo habían hecho otros previamente.

Como en cualquier ensayo clínico establecido y según las buenas prácticas clínicas para el tratamiento de la psoriasis, una de las variables primarias que se analizó fue el PASI 75. El resultado mostró una diferencia en el grupo tratado con probióticos, ya que 30 de 45 pacientes lo alcanzaron, un 66,7%, frente al 45,2% o 18 de 43 pacientes en el grupo tratado con placebo, tras las 12 semanas de tratamiento. Encontramos resultados similares si lo comparamos con otros fármacos que se emplean por vía oral para el tratamiento de la psoriasis, como el metrotexato, en dosis variables con ciclosporina, ambos con efectos secundarios, en los que se pone de manifiesto que el 25% de los pacientes alcanzan el PASI 75 con dosis bajas durante 12 semanas y con dosis más altas, el 60% de los pacientes.(129)

En cuanto a la duración de la intervención de 12 semanas, fue la misma que se empleó en estudios de fase I y II de fármacos biológicos a diferentes dosis en psoriasis moderada grave, para ver la evolución de la respuesta PASI 75;(130) no es así en los que utilizan el PASI 90 como variable, donde se alarga hasta las 24 semanas.(131) Por el contrario, en otros estudios con probióticos, el tiempo del tratamiento fue menos de 12 semanas.(132, 133)

En nuestros resultados, la diferencia en los pacientes que alcanzan el PASI 75 comienza a ser estadísticamente significativa a partir de la visita 3, a las seis semanas de la intervención, con una respuesta mayor en el grupo tratado con probióticos.

Al final del estudio, el porcentaje de pacientes que alcanzaron un PASI menor de 6 y que no precisaron tratamiento tópico fue más elevado en el grupo probiótico, con un 91%, a diferencia del grupo placebo, donde fue del 77%.

En la valoración de la otra variable primaria, la PGA, los pacientes del grupo probiótico mostraron mejores resultados a las 12 semanas de la intervención con una piel limpia o prácticamente limpia, 22 pacientes (48,9%) en el grupo probiótico y 13 (30,2%) en el grupo placebo.

La PGA sólo evalúa las características de la lesión midiendo el grado de eritema, descamación y grosor de las placas de psoriasis de todo el cuerpo en una escala de 6 puntos, no brinda información sobre la extensión de la enfermedad.(40)

Cuando se utilizan PASI y PGA para la evaluación terapéutica, PASI 75 y PGA limpia o prácticamente limpia, ambas variables muestran una correlación entre sí. A diferencia del PASI, la PGA tiene la ventaja de reflejar la experiencia del evaluador, que la utiliza en la práctica diaria, pero es más subjetiva.(53, 127)

Dentro de las variables secundarias, también se analizó la evolución del PASI 50 y el curso temporal de la respuesta en cada visita, siendo significativa su reducción a favor del grupo probiótico con el 91% de los pacientes, frente al 75% del grupo placebo, como se puede apreciar en el gráfico 9 de resultados. Los pacientes que no alcanzan el PASI 50 se consideraron no respondedores, al igual que se define en otros estudios,(134) y precisaron ser tratados con otros fármacos sistémicos o fototerapia.

En otra de las variables secundarias, como las pruebas analíticas, los resultados de la bioquímica no arrojaron diferencias entre grupos al finalizar el estudio. Los marcadores inflamatorios estudiados, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-6, IL-23 e IL-1 $\beta$ , no mostraron diferencias estadísticamente significativas al final de la intervención. Otros autores refieren niveles incrementados en plasma de IL-1 $\beta$  e IL-18 en sangre periférica en pacientes con psoriasis activa, lo que estaría ligado al incremento en la producción de IL-17 por las células T, en humanos y en modelos de investigación.(135, 136) Considerando que la familia de citoquinas IL-1, tiene un papel relevante en enfermedades inflamatorias agudas y crónicas,(137) se realizó un estudio de estos marcadores entre los pacientes al inicio y al final del

estudio, como se puede observar en la Tabla 18.

Hebert et al. refieren que los polimorfismos en el gen IL-1 pueden usarse para diferenciar a los pacientes con psoriasis de inicio temprano y tardío.(138) Otros autores, como Davide Ferrari et al. implican a la producción de IL-1 $\beta$  como amplificador de la respuesta inflamatoria, que conduce al desarrollo de la placa psoriásica.(139) Además, la familia de citoquinas IL-1 es dominante en los pacientes con psoriasis pustulosa generalizada.(140) Recientemente, se informó de un caso de psoriasis pustulosa grave que tratado con canakinumab (inhibidor de la IL-1 $\beta$ ), tuvo un aclaramiento completo.(141) De hecho, los inhibidores de la IL-1 $\beta$  ya se han probado en ensayos clínicos para el tratamiento de la psoriasis, como es el caso de Anakinra.(142, 143)

Hay evidencias emergentes de que, además del eje IL-23 / IL-17, la IL-1 $\beta$  aumenta significativamente en los pacientes con psoriasis y en las lesiones cutáneas.(144) A pesar de estos estudios, no se ha explicado la complejidad de la regulación de la producción de IL-1 $\beta$  en la piel sana y en la piel con lesiones psoriásicas.

Para terminar con el análisis de estas variables, es necesario nombrar algunas de las limitaciones encontradas. La gravedad de la psoriasis parece influir en el nivel mostrado de interleuquinas y resto de parámetros inflamatorios, por lo que esa sería una de las razones de que nuestra cohorte, al ser de gravedad leve-moderada, presente valores más reducidos que en otros estudios. De la misma forma, es necesario destacar que el diseño del estudio no es específico para encontrar diferencias en estos parámetros y que, una vez conocidos los rangos de IL en este tipo de pacientes, se podría reevaluar los kits de diagnóstico utilizados, buscando aquellos con mayor sensibilidad y rango más cercano a nuestros valores.

Con respecto a la translocación bacteriana, en nuestro estudio la presentaron un número muy similar de pacientes en ambos grupos, tanto al inicio como al final. Probablemente para reducir los mecanismos por los que se desencadena, se deberían realizar estudios más exhaustivos, aumentando la dosis de los probióticos y el tiempo de intervención.

Según algunos autores, el torrente sanguíneo se ha considerado un medio estéril, exento de microbios.(145-148) Otros sugieren que es posible la presencia

de bacterias sin capacidad de replicarse.(145, 149) Estas bacterias no estarían ni 'vivas ni muertas 'sino en estado latente, pudiendo ser "resucitadas" por determinadas moléculas. El factor infeccioso en la psoriasis es el desencadenante más conocido de la enfermedad. Las toxinas bacterianas son capaces de estimular al linfocito T y unirse a su receptor, actuando como superantígenos y activando así, hasta el 10% de las células T periféricas.

Por otro lado, la disbiosis intestinal puede promover la translocación de microorganismos desde el intestino al torrente sanguíneo en determinadas condiciones.(150, 151) La translocación desde el intestino puede ocurrir por el papel que desempeñan las células dendríticas, la integridad de la barrera intestinal y las células M.(145) Las bacterias pueden no estar activadas, pero mantienen un bajo grado de inflamación continuada en el huésped y, si se activan, pueden llegar a liberar endotoxinas: lipopolisacáridos (LPS) liberados por bacterias Gram negativas y lipoproteínas ácidas (LTA) liberadas por las Gram positivas. Ambos inducirían la producción de citoquinas inflamatorias y quimiocinas, activando la inmunidad innata y adquirida.(152) Muchas evidencias se van conociendo que afianzan la interacción entre el intestino y la piel, el conocido como eje intestino-piel. Podemos sugerir que posiblemente la disbiosis del intestino puede alterar la inmunidad sistémica y, consecuentemente, producir un mecanismo de desregulación y daño en la piel, coincidiendo con lo descrito por Vaughn et al.(76)

Se discute sobre si la disbiosis intestinal y la de la piel se encuentran asociadas en la psoriasis. Una hipótesis señala que la disbiosis intestinal en algunos pacientes con psoriasis vulgar facilitaría la translocación de bacterias desde el intestino y la piel al torrente sanguíneo, provocando así una inflamación sistémica en estos pacientes.(153) Hay alguna evidencia que sostiene la presencia de translocación bacteriana en la psoriasis. Se ha detectado ADN bacteriano en monocitos aislados de pacientes con psoriasis vulgar. Otros autores comunican que la presencia de ADN bacteriano está significativamente aumentada en los pacientes con psoriasis, comparado con pacientes sanos. Munz et al.(154) encontraron *Streptococcus spp* en sangre periférica de pacientes con psoriasis en gotas y *Staphylococcus spp* en los que padecían psoriasis vulgar.(96, 97, 155)

En un estudio preliminar realizado por nuestro grupo (Ramirez Bosca et

al.),<sup>(86)</sup> movido por el interés de la relación entre translocación bacteriana y la psoriasis, se observó que la translocación estuvo presente en pacientes con psoriasis en comparación con los sanos. Se incluyeron 54 pacientes con psoriasis y 27 controles sanos. La translocación bacteriana fue positiva en 16 pacientes, todos dentro del fenotipo de psoriasis en placas, que presentaban mayor duración de la enfermedad e inicio más temprano. Puede que este hallazgo identifique a un número de pacientes con un curso más agresivo de la psoriasis. Por el contrario, no presentaron translocación los 6 pacientes con psoriasis en gotas, los 3 con psoriasis inversa y ningún paciente del grupo control. La secuenciación de la microbiota reveló que *Escherichia coli* era el microorganismo más frecuente (n= 9), de posible origen intestinal.

En este punto, coincidimos con estudios recientes que muestran la asociación de psoriasis con disbiosis de la microbiota intestinal,<sup>(83, 156)</sup> también la asociación entre disbiosis intestinal, translocación bacteriana y psoriasis, según Visser et al.<sup>(74)</sup> Asimismo, otros estudios también encontraron relación entre translocación bacteriana y psoriasis.<sup>(157, 158)</sup>

Estas experiencias pudieron servir para que en el momento actual haya una línea de investigación profunda entre la interacción translocación-microbiota y los efectos sobre la piel, para trabajar en nuevas terapias basadas en la regulación de la misma en pacientes con psoriasis.

La composición de la microbiota humana presenta una gran variación entre todos los seres humanos e individualmente,<sup>(159)</sup> por lo que ha sido imposible definir un microbioma “sano”.<sup>(160)</sup> No obstante, determinados microorganismos pueden promover la salud y la enfermedad.<sup>(161)</sup> Así el término “disbiosis”, referido a alteraciones de la composición de la microbiota, ha sido implicado en la etiología de varias enfermedades.<sup>(151, 162, 163)</sup> La disbiosis del microbioma del intestino y de la piel ha sido asociada con la psoriasis.<sup>(80, 81, 96, 97, 164)</sup> Nuestro grupo de investigación coincide con estas afirmaciones y con la línea de investigación publicada por Codoñer et al.<sup>(82)</sup>

Con respecto a la composición en los enterotipos de la microbiota, en nuestro estudio, la distribución inicial fue de 49 pacientes (56,3%) con enterotipo 1 (*Bacteroides*), 7 pacientes (8,1%) con enterotipo 2 (*Prevotella*) y 31 pacientes (35,6%) con enterotipo 3 (*Ruminococcus*). No hubo diferencias significativas entre ambos grupos.

En un estudio realizado en Kazajistán en un grupo de 20 pacientes con psoriasis encontraron más abundancia de enterotipo 2 (*Prevotella*) y estos tenían más afectación de síndrome metabólico, concluyendo que esta característica se debería a una composición diferente del metagenoma intestinal que la del resto de Europa y Asia del este.(165) Es reconocido en todo el mundo la potente influencia de factores medioambientales y étnicos en la composición del microbioma intestinal. En nuestro estudio no se recogieron estos datos sobre la dieta de los pacientes participantes. Otros autores, en su análisis de varios estudios, encontraron que sólo dos incluían información sobre esta (81, 166) y, curiosamente, no encontraron diferencias en la composición del microbioma con respecto a la dieta, entre pacientes con psoriasis y población sana.

En el trabajo publicado por Codoñer et al.(82) para evaluar si el microbioma de los pacientes psoriásicos era diferente al de la población sana, se investigaron a 52 pacientes de nuestro estudio. Se realizó un análisis intermedio tras la recogida de muestras, y antes de ningún tratamiento con probióticos. Los resultados mostraron una mayor biodiversidad bacteriana en los pacientes con respecto a la población sana y en la composición del microbioma había un incremento en *Faecalobacterium* y una disminución de *Bacteroides* y los géneros *Akkermansia* y *Ruminococcus* obtenían valores más altos, en los pacientes psoriásicos.

Otros autores, como Scher et al.,(79) describieron pequeños cambios como disminución de la diversidad microbiana en su estudio de 15 pacientes con psoriasis y disminución de los dos géneros bacterianos, anteriormente citados.

Cabe pensar, si este aumento de la diversidad como indica Codoñer et al.(82) pudiera estar relacionada con la gravedad de la enfermedad, ya que como se indica en el apartado de resultados, los pacientes tenían una media de PASI por encima de 10 y en el estudio referenciado de Scher et al.(79) eran solamente 15 pacientes, por lo tanto, un tamaño muestral muy pequeño, y con un PASI menor de 10.

El aumento de *Faecalobacterium* en la microbiota intestinal está relacionado con la regulación inmunológica. Hay diversos estudios sobre sus subespecies y su papel en eccemas, dermatitis atópica y enfermedad de Crohn.(167, 168)

Con respecto a la translocación bacteriana, sólo la presentaron un 25% de los pacientes incluidos en este estudio preliminar (13 pacientes de 52).

Posteriormente se compararon las diferencias halladas entre los tres enterotipos (1,2 y 3) y se comprobó que los pacientes psoriásicos del enterotipo 2, con predominio de *Prevotella*,(91) tenían una tendencia mayor a presentar translocación bacteriana y un incremento de *Faecalobacterium* y descenso de *Bacteroides*.

Codoñer et al.(82) sugieren que la translocación bacteriana en los pacientes con psoriasis, la promueve un desequilibrio entre los diferentes grupos microbianos del intestino, los cuales ejercen su inmunomodulación a través de distintas moléculas, que son capaces de influir de forma negativa en el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal y facilitando fenómenos de translocación bacteriana.

Se concluye que, con estos resultados preliminares, los pacientes con psoriasis tienen un microbioma característico que se diferencia de la población sana.

En nuestro estudio, al final de la intervención, en el grupo con probióticos desaparecieron los géneros *Micronospora* y *Rhodococcus* y se incrementaron los géneros *Collinsela* y *Lactobacillus* asociados con una buena salud intestinal.

Los estudios sobre psoriasis y microbioma intestinal son muy heterogéneos en cuanto a población, tipo de psoriasis, gravedad de la misma y tratamiento utilizado, incluidos los biológicos, como secukinumab o ustekinumab; por lo que los resultados obtenidos son ambiguos.(169) En 10 de 11 estudios los pacientes con psoriasis mostraron diferencias estadísticamente significativas al compararlos con controles sanos y, además, se demostraba la relación entre translocación bacteriana desde la luz intestinal y la composición microbiana.

Dei-Cas et al.(170) definen el microbioma de la psoriasis como un logaritmo del total de organismos más abundantes frente a los menos abundantes a nivel de género, que diferenciaría a pacientes psoriásicos de los controles, con un 78% de sensibilidad y 79% de especificidad.

Si tenemos en cuenta nuestros resultados, y comparándolos con otros estudios, podemos decir que los cambios en la microbiota en el grupo que tomó probióticos pudo tener consecuencia, al menos en parte en la evolución de la psoriasis, ya que al finalizar la intervención se encontraron géneros con acción antiinflamatoria.

Las terapias con mezclas de probióticos ya existen en el mercado como, por ejemplo, el tratamiento VSL#3 compuesto por 8 cepas y descrito por Cheng et al.(171) Con respecto a la composición, en nuestro caso, se eligió una mezcla de *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus rhamonosus*, con propiedades beneficiosas para el mantenimiento del intestino sano y que tenían, un número mínimo unidades formadoras de colonias (UFC) de  $10^9$ , siendo esta una dosis efectiva de tratamiento.(172)

En otros estudios con probióticos se utilizó una sola cepa probiótica, no obteniéndose los resultados esperados con respecto a la microbiota en pacientes con psoriasis.(132, 133)

Diversos autores referencian, al igual que nosotros, una buena evolución con el uso de probióticos en psoriasis y en otras patologías inflamatorias. Otros ofrecen evidencias de mejoría en modelos animales con Imiquimod como inductor de psoriasis en la piel de ratones, al administrarles *Lactobacillus pentosus* GMNL-77, con mejoras en eritema, descamación e hiperproliferación.(173) En el año 2012, en un caso de psoriasis pustuloso no respondedor a esteroides, dapsona y metotrexato, encontraron una gran efectividad al añadir *Lactobacillus sporogenes* como suplemento 3 veces al día, y biotina una vez al día, remitiendo a las 4 semanas.(133)

Atendiendo a la comorbilidad o paralelismo entre psoriasis y enfermedad de Crohn, hay muchas líneas de evidencia sobre una inflamación incontrolada debido a translocación de productos bacterianos en estos pacientes. Se acepta ampliamente que las interacciones huésped-bacteria influyen en el desarrollo de la misma. Si el equilibrio entre el huésped y la microbiota intestinal en los pacientes con enfermedad de Crohn se rompe, puede llegar a afectarse la respuesta inmune y los probióticos pueden mejorar este balance y llegar a ser un tratamiento efectivo.(174)

También tenemos que hablar de una influencia negativa de los mismos en un caso de enfermedad de Crohn y psoriasis palmo-plantar tratado con Ustekinumab, en el que a unos pocos días de su introducción apareció un exantema pustuloso generalizado.(175)

En cuanto a los efectos secundarios ligados a cualquier tratamiento no se detectó ninguno relevante en el grupo probiótico durante la intervención. En más

de 70 estudios clínicos con complementos alimentarios que contienen probióticos ha sido investigada la posibilidad de presentar efectos secundarios y no han detectado ninguno.(176)

La valoración del cumplimiento terapéutico se desarrolló, de una forma personalizada, quedando los datos referidos a cada paciente registrados. Nos basamos en escalas validadas para otras patologías, como la diabetes mellitus y la hipertensión arterial, siguiendo escala de adherencia a la medicación de Morisky-Green, con preguntas de respuesta sí/no.(177) En todos los casos, el cumplimiento fue muy alto y satisfactorio, asumiendo entonces que la dosis y la vía de administración son adecuadas.

En el seguimiento que se les hizo a los pacientes tras la intervención, se demostró que los pacientes del grupo probiótico tuvieron menos riesgo de recaídas con respecto a los del grupo placebo. Podemos decir que estos tuvieron una evolución mejor de la enfermedad. Este resultado, unido a los cambios que se produjeron en la microbiota intestinal, nos permite entender el factor preventivo que tuvo el preparado de probióticos y el beneficio terapéutico en la reducción de la severidad de la psoriasis, como coadyuvante en el tratamiento. No se han encontrado otros trabajos de autores donde se haya hecho un seguimiento posterior a la intervención con probióticos.

Nuestra experiencia de tratamiento con probióticos en psoriasis fue una de las primeras que se desarrolló con un número de pacientes mayor de las conocidas hasta entonces (año 2015). Podemos reseñar como limitaciones, que se realizó en un solo centro de investigación y se evaluaron pacientes con diferentes edades sin incluirse a niños, y que no se planteó una intervención ni seguimiento en la dieta. Se empleó una dosis de probiótico de 30 mg con una mezcla de 3 cepas, sin variaciones en las dosis y se realizó junto a tratamiento tópico; pero los resultados alientan a que esta intervención preliminar puede ser tenida en cuenta para el desarrollo de futuras investigaciones.

La relación entre psoriasis y la microbiota intestinal es compleja, pero todos los estudios realizados muestran alteraciones significativas en estos pacientes, si además tenemos presente la relación entre translocación bacteriana como inductor del mantenimiento de inflamación crónica, encontrar soluciones para su modulación nos ayudaría también en otras enfermedades crónicas como, obesidad, enfermedad inflamatoria intestinal y otras; con las que comparte

comorbilidades.

Los fármacos administrados en la psoriasis afectan a la composición del microbioma, incluidos los tratamientos biológicos, y de la misma forma, los estudios sobre administración de probióticos en psoriasis han concluido que tienen beneficios sobre la salud.

Todavía no hay protocolos suficientemente estandarizados para comparar las poblaciones de las comunidades bacterianas y, por lo tanto, no se pueden identificar con seguridad los cambios asociados con el estado de la enfermedad psoriásica, pero sabemos que el estilo de vida, los tratamientos tempranos y predictores de respuesta al tratamiento, las intervenciones psicológicas y educativas, así como las comorbilidades asociadas, plantean nuevos horizontes en nuevas terapias para esta enfermedad.

Por todo ello, es necesario seguir investigando en la evolución de la intervención microbiológica y la revisión de posibles marcadores, asociados a la aparición, transmisión, brote y gravedad de la enfermedad psoriásica. Estudios sucesivos en el esclarecimiento de las vías que conducen a la inflamación y las células implicadas en los mecanismos inmunológicos, que actúan sobre el aumento de proliferación de los queratinocitos y las recurrencias de la placa psoriásica; serán un interesante campo de investigación para el desarrollo de productos semejantes que ayuden a mejorar la enfermedad. De acuerdo con Bellone et al.(178) y Cicerone et al.(179) que, tras resaltar el papel del microbioma intestinal en la patogénesis de la psoriasis, concluyen que su restauración sería una estrategia preventiva, terapéutica y muy prometedora.

Los resultados de este estudio demuestran la eficacia del preparado probiótico utilizado como tratamiento coadyuvante en la psoriasis, administrado al mismo tiempo que una terapia tópica con corticosteroides, en la mejora de la composición de la microbiota intestinal. Comparado con el grupo placebo, el grupo de intervención, pasados seis meses, tuvo menos brotes.

Todo ello hace que este tratamiento pueda ser una opción de futuro como coadyuvante para el control de la psoriasis en placas leve moderada.



## **VI – CONCLUSIONES**



## VI - CONCLUSIONES

1. Existen diferencias significativas en la respuesta de los pacientes tratados con probióticos frente a los que reciben placebo (disminución del PASI 75 con respecto a la situación basal). Así pues, en el análisis comparativo se observa una mejoría de la respuesta terapéutica que se objetiva a partir de la segunda visita, siendo esta progresiva, continuada y significativamente mejor en el grupo que recibía probióticos.
2. Al finalizar la intervención, un mayor número de pacientes mejoró el valor de la PGA en el grupo tratado con probióticos, y en ninguno de los pacientes se encontraron placas calificadas como moderada a grave.
3. Como medida del fracaso terapéutico se analizaron los pacientes que no alcanzaron al menos, el PASI 50 en ambos grupos y esto supuso que un 16% más de pacientes en el grupo Placebo fueron candidatos a recibir otros tratamientos, debido a su falta de respuesta y/o empeoramiento.
4. En la comparación analítica de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 e IL-23 (comparación intragrupo) y (comparación intergrupo), no se encontraron diferencias entre los mismos, salvo una ligera disminución de la IL-1 $\beta$ , cuando se compararon los grupos de respondedores y no respondedores, como único dato con relevancia respecto a la inmunidad en la psoriasis.
5. Con respecto a la composición de la microbiota, los pacientes tratados con probióticos tienen mayor tendencia a mantener el enterotipo 1 al final del estudio.
6. En los pacientes tratados con probióticos desaparecen los géneros *Micromonospora* y *Rhodococcus* al final del estudio y aumentan los géneros *Collinsella* y *Lactobacillus*. La intervención con el preparado probiótico parece modular la composición de la microbiota hacia un intestino más sano.
7. Los datos de seguridad del tratamiento se confirman, sin acontecimientos adversos relevantes.
8. En el seguimiento que se realizó tras el tratamiento y que tuvo una duración de seis meses, recayeron el doble de pacientes en el grupo placebo que en el

grupo probiótico. Este resultado fue estadísticamente significativo y los pacientes lo refirieron como una mejoría en su calidad de vida.

Nuestra investigación permite concluir que una mezcla de probióticos determinados, añadida al tratamiento tópico convencional, en los pacientes con psoriasis leve-moderada, fue claramente beneficiosa para mejorar su patología.

Futuras investigaciones permitirán desarrollar nuevos productos que sirvan como tratamiento de la psoriasis y preventivo de sus brotes.

## **VII – BIBLIOGRAFÍA**



## VII - BIBLIOGRAFÍA

1. Parisi R, Symmons DP, Griffiths CE, Ashcroft DM, Identification, Management of P, et al. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence. *J Invest Dermatol.* 2013;133(2):377-85.
2. Bologna MD JL, Jorizzo MD, Joseph L., Rapini MD, Ronald P. *Dermatology Elsevier*; 2004.
3. Booth CC. Robert Willan MD FRS (1757–1812): Dermatologist of the Millennium. *Journal of the Royal Society of Medicine.* 1999;92(6):313-8.
4. Boehncke WH, Schon MP. Psoriasis. *Lancet.* 2015;386(9997):983-94.
5. Karpinska-Mirecka A, Bartosinska J, Krasowska D. The effects of selected biologics and a small molecule on Health-Related Quality of Life in adult plaque psoriasis patients: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2020;15(12):e0241604.
6. Farber EM, Nall ML. The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica.* 1974;148(1):1-18.
7. Albaghdadi A. Current and Under Development Treatment Modalities of Psoriasis: A Review. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2017;17(3):189-99.
8. Bin L, Leung DY. Genetic and epigenetic studies of atopic dermatitis. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016;12:52.
9. Hu SC, Lan CE. Psoriasis and Cardiovascular Comorbidities: Focusing on Severe Vascular Events, Cardiovascular Risk Factors and Implications for Treatment. *Int J Mol Sci.* 2017;18(10).
10. Owczarczyk-Saczonek A, Placek W. Interleukin-17 as a factor linking the pathogenesis of psoriasis with metabolic disorders. *Int J Dermatol.* 2017;56(3):260-8.
11. Egeberg A, Gisondi P, Carrascosa JM, Warren RB, Mrowietz U. The role of the interleukin-23/Th17 pathway in cardiometabolic comorbidity associated with psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34(8):1695-706.
12. Yates VM, Watkinson G, Kelman A. Further evidence for an association between psoriasis, Crohn's disease and ulcerative colitis. *Br J Dermatol.* 1982;106(3):323-30.
13. Ogawa E, Sato Y, Minagawa A, Okuyama R. Pathogenesis of psoriasis and development of treatment. *J Dermatol.* 2018;45(3):264-72.

14. Harden JL, Krueger JG, Bowcock AM. The immunogenetics of Psoriasis: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015;64:66-73.
15. Morizane S, Gallo RL. Antimicrobial peptides in the pathogenesis of psoriasis. *J Dermatol.* 2012;39(3):225-30.
16. Nestle FO, Conrad C, Tun-Kyi A, Homey B, Gombert M, Boyman O, et al. Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production. *J Exp Med.* 2005;202(1):135-43.
17. Gregorio J, Meller S, Conrad C, Di Nardo A, Homey B, Lauerma A, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense skin injury and promote wound healing through type I interferons. *J Exp Med.* 2010;207(13):2921-30.
18. Ortonne J, Chimenti S, Luger T, Puig L, Reid F, Trueb RM. Scalp psoriasis: European consensus on grading and treatment algorithm. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009;23(12):1435-44.
19. Hansel A, Gunther C, Ingwersen J, Starke J, Schmitz M, Bachmann M, et al. Human slan (6-sulfo LacNAc) dendritic cells are inflammatory dermal dendritic cells in psoriasis and drive strong TH17/TH1 T-cell responses. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):787-94 e1-9.
20. van der Fits L, Mourits S, Voerman JS, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J Immunol.* 2009;182(9):5836-45.
21. Eken A, Singh AK, Oukka M. Interleukin 23 in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(3):587-95.
22. Boutet MA, Nerviani A, Gallo Afflitto G, Pitzalis C. Role of the IL-23/IL-17 Axis in Psoriasis and Psoriatic Arthritis: The Clinical Importance of Its Divergence in Skin and Joints. *Int J Mol Sci.* 2018;19(2).
23. Sakkas LI, Bogdanos DP. Are psoriasis and psoriatic arthritis the same disease? The IL-23/IL-17 axis data. *Autoimmun Rev.* 2017;16(1):10-5.
24. Gaffen SL, Jain R, Garg AV, Cua DJ. The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol.* 2014;14(9):585-600.
25. Puig L, Julia A, Marsal S. The pathogenesis and genetics of psoriasis. *Actas Dermosifiliogr.* 2014;105(6):535-45.
26. Tokuyama M, Mabuchi T. New Treatment Addressing the Pathogenesis of Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20).
27. Ashall L, Horton CA, Nelson DE, Paszek P, Harper CV, Sillitoe K, et al. Pulsatile stimulation determines timing and specificity of NF-kappaB-dependent transcription. *Science.* 2009;324(5924):242-6.
28. Talotta R, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Masala IF. Psoriatic arthritis: From pathogenesis to pharmacologic management. *Pharmacol Res.* 2019;148:104394.

29. Chimenti MS, Triggianese P, De Martino E, Conigliaro P, Fonti GL, Sunzini F, et al. An update on pathogenesis of psoriatic arthritis and potential therapeutic targets. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(8):823-36.
30. Tateiwa D, Yoshikawa H, Kaito T. Cartilage and Bone Destruction in Arthritis: Pathogenesis and Treatment Strategy: A Literature Review. *Cells*. 2019;8(8).
31. Mallbris L, Larsson P, Bergqvist S, Vingard E, Granath F, Stahle M. Psoriasis phenotype at disease onset: clinical characterization of 400 adult cases. *J Invest Dermatol*. 2005;124(3):499-504.
32. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009;361(5):496-509.
33. Rendon A, Schakel K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6).
34. Ko HC, Jwa SW, Song M, Kim MB, Kwon KS. Clinical course of guttate psoriasis: long-term follow-up study. *J Dermatol*. 2010;37(10):894-9.
35. Navarini AA, Burden AD, Capon F, Mrowietz U, Puig L, Koks S, et al. European consensus statement on phenotypes of pustular psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31(11):1792-9.
36. Ahn C, Huang W. Clinical Presentation of Atopic Dermatitis. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1027:39-46.
37. Bardazzi F, Starace M, Bruni F, Magnano M, Piraccini BM, Alessandrini A. Nail Psoriasis: An Updated Review and Expert Opinion on Available Treatments, Including Biologics. *Acta Derm Venereol*. 2019;99(6):516-23.
38. Kim WB, Jerome D, Yeung J. Diagnosis and management of psoriasis. *Can Fam Physician*. 2017;63(4):278-85.
39. Camporro AF, Roncero-Riesco M, Revelles-Penas L, Nebreda DR, Estenaga A, Diaz de la Pinta J, et al. The n Sign: A Visual Clue for the Histopathologic Diagnosis of Psoriasis. *JAMA Dermatol*. 2022;158(4):451-2.
40. Walsh JA, McFadden M, Woodcock J, Clegg DO, Helliwell P, Dommasch E, et al. Product of the Physician Global Assessment and body surface area: a simple static measure of psoriasis severity in a longitudinal cohort. *J Am Acad Dermatol*. 2013;69(6):931-7.
41. Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica*. 1978;157(4):238-44.
42. Armstrong A, Puig L, Langley R, Tsai TF, Song M, Wasfi Y, et al. Validation of psychometric properties and development of response criteria for the psoriasis symptoms and signs diary (PSSD): results from a phase 3 clinical trial. *J Dermatolog Treat*. 2019;30(1):27-34.

43. Ihtatho D, Fadzil MH, Affandi AM, Hussein SH. Area assessment of psoriasis lesion for PASI scoring. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2007;2007:3446-9.
44. Fink C, Alt C, Uhlmann L, Klose C, Enk A, Haenssle HA. Intra- and interobserver variability of image-based PASI assessments in 120 patients suffering from plaque-type psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(8):1314-9.
45. Jacobson CC, Kimball AB. Rethinking the Psoriasis Area and Severity Index: the impact of area should be increased. *Br J Dermatol.* 2004;151(2):381-7.
46. Klaassen KM, van de Kerkhof PC, Bastiaens MT, Plusje LG, Baran RL, Pasch MC. Scoring nail psoriasis. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(6):1061-6.
47. Passeron T, Lacour JP, Fontas E, Ortonne JP. Probiotics and synbiotics: two promising approaches for the treatment of atopic dermatitis in children above 2 years. *Allergy.* 2006;61(4):431-7.
48. Henseler T, Schmitt-Rau K. A comparison between BSA, PASI, PLASI and SAPASI as measures of disease severity and improvement by therapy in patients with psoriasis. *Int J Dermatol.* 2008;47(10):1019-23.
49. Puig L. Shortcomings of PASI75 and practical calculation of PASI area component. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(1):180-1.
50. van de Kerkhof PC. On the limitations of the psoriasis area and severity index (PASI). *Br J Dermatol.* 1992;126(2):205.
51. Strober B, Ryan C, van de Kerkhof P, van der Walt J, Kimball AB, Barker J, et al. Recategorization of psoriasis severity: Delphi consensus from the International Psoriasis Council. *J Am Acad Dermatol.* 2020;82(1):117-22.
52. Mattei PL, Corey KC, Kimball AB. Psoriasis Area Severity Index (PASI) and the Dermatology Life Quality Index (DLQI): the correlation between disease severity and psychological burden in patients treated with biological therapies. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014;28(3):333-7.
53. Wu AG, Conway J, Barazani L, Roy B, Cline A, Pereira F. Is Clear Always Clear? Comparison of Psoriasis Area and Severity Index (PASI) and the Physician's Global Assessment (PGA) in Psoriasis Clearance. *Dermatol Ther (Heidelb).* 2020;10(5):1155-63.
54. Stojkovic T, Binic I, Todorovic J. [Evaluation of effect of local administration of desoximetasone and ditranol in psoriatic lesion by applying 20 MHz ultrasound]. *Med Pregl.* 2012;65(9-10):368-72.
55. Aschoff R, Martorell A, Anger T, Chayer D, Bewley A. Real-World Experience Using Topical Therapy-Calcipotriol and Betamethasone Dipropionate Foam in Adults with Beyond-Mild Psoriasis. *Dermatol Ther (Heidelb).* 2021;11(2):555-69.

56. Gisondi P, Talamonti M, Chiricozzi A, Piaserico S, Amerio P, Balato A, et al. Treat-to-Target Approach for the Management of Patients with Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis: Consensus Recommendations. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2021;11(1):235-52.
57. McCullough PJ, McCullough WP, Lehrer D, Travers JB, Repas SJ. Oral and Topical Vitamin D, Sunshine, and UVB Phototherapy Safely Control Psoriasis in Patients with Normal Pretreatment Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations: A Literature Review and Discussion of Health Implications. *Nutrients*. 2021;13(5).
58. Ye J, Huang H, Luo G, Yin L, Li B, Chen S, et al. NB-UVB irradiation attenuates inflammatory response in psoriasis. *Dermatol Ther*. 2020;33(4):e13626.
59. Brand N, Petkovich M, Krust A, Chambon P, de The H, Marchio A, et al. Identification of a second human retinoic acid receptor. *Nature*. 1988;332(6167):850-3.
60. Ho VC, Griffiths CE, Berth-Jones J, Papp KA, Vanaclocha F, Dauden E, et al. Intermittent short courses of cyclosporine microemulsion for the long-term management of psoriasis: a 2-year cohort study. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44(4):643-51.
61. Coates LC, Helliwell PS. Methotrexate Efficacy in the Tight Control in Psoriatic Arthritis Study. *J Rheumatol*. 2016;43(2):356-61.
62. Oehrl S, Olaru F, Kunze A, Maas M, Pezer S, Schmitz M, et al. Controlling the pro-inflammatory function of 6-sulfo LacNAc (slan) dendritic cells with dimethylfumarate. *J Dermatol Sci*. 2017;87(3):278-84.
63. Lucka TC, Pathirana D, Sammain A, Bachmann F, Rosumeck S, Erdmann R, et al. Efficacy of systemic therapies for moderate-to-severe psoriasis: a systematic review and meta-analysis of long-term treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26(11):1331-44.
64. Jung SW, Lim SH, Jeon JJ, Heo YW, Choi MS, Hong SP. Comparison of the Efficacy and Safety of Biologics (Secukinumab, Ustekinumab, and Guselkumab) for the Treatment of Moderate-to-Severe Psoriasis: Real-World Data from a Single Korean Center. *Biomedicines*. 2022;10(5).
65. Gniadecki R, Bang B, Bryld LE, Iversen L, Lasthein S, Skov L. Comparison of long-term drug survival and safety of biologic agents in patients with psoriasis vulgaris. *Br J Dermatol*. 2015;172(1):244-52.
66. Chan WSA, Wong Y, Oon HH, Theng CTS, Chong WS. Efficacy and safety of ustekinumab in the treatment of moderate to severe plaque psoriasis in Singapore. *Singapore Med J*. 2022.
67. Lynch M, Roche L, Horgan M, Ahmad K, Hackett C, Ramsay B. Peritoneal tuberculosis in the setting of ustekinumab treatment for psoriasis. *JAAD Case Rep*. 2017;3(3):230-2.

68. Blauvelt A, Papp KA, Griffiths CE, Randazzo B, Wasfi Y, Shen YK, et al. Efficacy and safety of guselkumab, an anti-interleukin-23 monoclonal antibody, compared with adalimumab for the continuous treatment of patients with moderate to severe psoriasis: Results from the phase III, double-blinded, placebo- and active comparator-controlled VOYAGE 1 trial. *J Am Acad Dermatol*. 2017;76(3):405-17.
69. foundation Np. *Current Psoriatic Disease Treatment Pipeline* 2018.
70. Rodríguez Cumplido D, Asensio Ostos C. [Biological and biosimilar drugs: Clarifying concepts]. *Aten Primaria*. 2018;50(6):323-4.
71. Coghlan J, He H, Schwendeman AS. Overview of Humira(R) Biosimilars: Current European Landscape and Future Implications. *J Pharm Sci*. 2021;110(4):1572-82.
72. Segal JP. Upadacitinib: The New Jak Inhibitor in Town. *Gastroenterology*. 2022.
73. Cohen S, Barer F, Itzhak I, Silverman MH, Fishman P. Inhibition of IL-17 and IL-23 in Human Keratinocytes by the A3 Adenosine Receptor Agonist Piclidenoson. *J Immunol Res*. 2018;2018:2310970.
74. Visser MJE, Kell DB, Pretorius E. Bacterial Dysbiosis and Translocation in Psoriasis Vulgaris. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:7.
75. Salem I, Ramser A, Isham N, Ghannoum MA. The Gut Microbiome as a Major Regulator of the Gut-Skin Axis. *Front Microbiol*. 2018;9:1459.
76. Vaughn AC, Cooper EM, DiLorenzo PM, O'Loughlin LJ, Konkel ME, Peters JH, et al. Energy-dense diet triggers changes in gut microbiota, reorganization of gut-brain vagal communication and increases body fat accumulation. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2017;77(1):18-30.
77. Mu Q, Zhang H, Liao X, Lin K, Liu H, Edwards MR, et al. Control of lupus nephritis by changes of gut microbiota. *Microbiome*. 2017;5(1):73.
78. Kell DB, Pretorius E. To What Extent Are the Terminal Stages of Sepsis, Septic Shock, Systemic Inflammatory Response Syndrome, and Multiple Organ Dysfunction Syndrome Actually Driven by a Prion/Amyloid Form of Fibrin? *Semin Thromb Hemost*. 2018;44(3):224-38.
79. Scher JU, Ubeda C, Artacho A, Attur M, Isaac S, Reddy SM, et al. Decreased bacterial diversity characterizes the altered gut microbiota in patients with psoriatic arthritis, resembling dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(1):128-39.
80. Egeberg A, Mallbris L, Warren RB, Bachelez H, Gislasen GH, Hansen PR, et al. Association between psoriasis and inflammatory bowel disease: a Danish nationwide cohort study. *Br J Dermatol*. 2016;175(3):487-92.

81. Eppinga H, Sperna Weiland CJ, Thio HB, van der Woude CJ, Nijsten TE, Peppelenbosch MP, et al. Similar Depletion of Protective Faecalibacterium prausnitzii in Psoriasis and Inflammatory Bowel Disease, but not in Hidradenitis Suppurativa. *J Crohns Colitis*. 2016;10(9):1067-75.
82. Codoner FM, Ramirez-Bosca A, Climent E, Carrion-Gutierrez M, Guerrero M, Perez-Orquin JM, et al. Gut microbial composition in patients with psoriasis. *Sci Rep*. 2018;8(1):3812.
83. Hidalgo-Cantabrana C, Gomez J, Delgado S, Requena-Lopez S, Queiro-Silva R, Margolles A, et al. Gut microbiota dysbiosis in a cohort of patients with psoriasis. *Br J Dermatol*. 2019;181(6):1287-95.
84. Ryan P, Kelly RG, Lee G, Collins JK, O'Sullivan GC, O'Connell J, et al. Bacterial DNA within granulomas of patients with Crohn's disease--detection by laser capture microdissection and PCR. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(8):1539-43.
85. Dicksved J, Halfvarson J, Rosenquist M, Jarnerot G, Tysk C, Apajalahti J, et al. Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease. *ISME J*. 2008;2(7):716-27.
86. Ramirez-Bosca A, Navarro-Lopez V, Martinez-Andres A, Such J, Frances R, Horga de la Parte J, et al. Identification of Bacterial DNA in the Peripheral Blood of Patients With Active Psoriasis. *JAMA Dermatol*. 2015;151(6):670-1.
87. Yoo JY, Groer M, Dutra SVO, Sankar A, McSkimming DI. Gut Microbiota and Immune System Interactions. *Microorganisms*. 2020;8(10).
88. Aya V, Florez A, Perez L, Ramirez JD. Association between physical activity and changes in intestinal microbiota composition: A systematic review. *PLoS One*. 2021;16(2):e0247039.
89. Lederberg J, and Alexa T. McCray. Ome Sweet `Omics--A Genealogical Treasury of Words. *The Scientist*. 2001;15(7):8.
90. Human Microbiome Project 2007 [<http://hmpdacc.org/>].
91. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174-80.
92. Sanchez B, Delgado S, Blanco-Miguez A, Lourenco A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res*. 2017;61(1).
93. Jung C, Hugot JP, Barreau F. Peyer's Patches: The Immune Sensors of the Intestine. *Int J Inflam*. 2010;2010:823710.
94. Bahrndorff S, Alemu T, Alemneh T, Lund Nielsen J. The Microbiome of Animals: Implications for Conservation Biology. *Int J Genomics*. 2016;2016:5304028.
95. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(3):143-55.

96. Fahlen A, Engstrand L, Baker BS, Powles A, Fry L. Comparison of bacterial microbiota in skin biopsies from normal and psoriatic skin. *Arch Dermatol Res.* 2012;304(1):15-22.
97. Gao Z, Tseng CH, Strober BE, Pei Z, Blaser MJ. Substantial alterations of the cutaneous bacterial biota in psoriatic lesions. *PLoS One.* 2008;3(7):e2719.
98. Miyoshi J, Chang EB. The gut microbiota and inflammatory bowel diseases. *Transl Res.* 2017;179:38-48.
99. Mercenier A, Pavan S, Pot B. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. *Curr Pharm Des.* 2003;9(2):175-91.
100. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science.* 1965;147(3659):747-8.
101. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012;380(9859):2163-96.
102. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol.* 2009;44(1):26-46.
103. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 1995;125(6):1401-12.
104. Flesch AG, Poziomyck AK, Damin DC. The therapeutic use of symbiotics. *Arq Bras Cir Dig.* 2014;27(3):206-9.
105. Orel R, Kamhi Trop T. Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(33):11505-24.
106. Sans M. Probiotics for inflammatory bowel disease: a critical appraisal. *Dig Dis.* 2009;27 Suppl 1:111-4.
107. Venkatesan T. Probiotic Prophylaxis in Predicted Severe Acute Pancreatitis: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutr Clin Pract.* 2008;23(6):662-3.
108. Faber WXM, Nachtegaal J, Stolwijk-Swuste JM, Achterberg-Warmer WJ, Koning CJM, Besseling-van der Vaart I, et al. Study protocol of a double-blind randomised placebo-controlled trial on the effect of a multispecies probiotic on the incidence of antibiotic-associated diarrhoea in persons with spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2020;58(2):149-56.
109. Moreno Marquez C, Fernandez Alvarez P, Valdes Delgado T, Castro Laria L, Arguelles Arias F, Caunedo Alvarez A, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial on the usefulness of probiotic *Lactobacillus reuteri* in bismuth-containing quadruple eradication therapy for infection with *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enferm Dig.* 2022;114(2):89-95.

110. Fatahi S, Hosseini A, Sohouli MH, Sayyari A, Khatami K, Farsani ZF, et al. Effects of probiotic supplementation on abdominal pain severity in pediatric patients with irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *World J Pediatr.* 2022;18(5):320-32.
111. Direct-to-consumer advertising of prescription drugs: European Commission persists in putting industry's interests first. *Prescrire Int.* 2013;22(134):24-5, 7.
112. Iliev ID, Kitazawa H, Shimosato T, Katoh S, Morita H, He F, et al. Strong immunostimulation in murine immune cells by *Lactobacillus rhamnosus* GG DNA containing novel oligodeoxynucleotide pattern. *Cell Microbiol.* 2005;7(3):403-14.
113. Iliev AI, Djannatian JR, Opazo F, Gerber J, Nau R, Mitchell TJ, et al. Rapid microtubule bundling and stabilization by the *Streptococcus pneumoniae* neurotoxin pneumolysin in a cholesterol-dependent, non-lytic and Src-kinase dependent manner inhibits intracellular trafficking. *Mol Microbiol.* 2009;71(2):461-77.
114. WMA DECLARATION OF HELSINKI – ETHICAL PRINCIPLES FOR MEDICAL RESEARCH INVOLVING HUMAN SUBJECTS, (2013).
115. Ley 25/1990 ddd, del Medicamento. [www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1990-30938](http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1990-30938). 1990.
116. Real Decreto 223/2004 ddf, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos. [www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2004-2316](http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2004-2316). 2004.
117. Real Decreto 1090/2015 ddd, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos. [www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2015-14082](http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2015-14082). 2015.
118. relativo IdRdCplpdlldhylddshcraladlBylMC. [www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1999-20638](http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1999-20638). 1997.
119. Ley 14/2007 ddj, de Investigación biomédica. [www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2007-12945](http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2007-12945). 2007.
120. Real Decreto 1344/2007 ddo, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano. [www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2007-18919](http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2007-18919). 2007.
121. Decreto 17/2012 dde, del Consell de la Comunitat Valenciana, por el que se modifica el Decreto 73/2009, de 5 de junio, del Consell, regulador de la gestión de estudios clínicos y estudios post autorización observacionales con medicamentos y productos sanitarios. [2012/707]. <https://dogv.gva.es/es/eli/es-vc/d/2012/01/20/17/>. 2012.

122. Ley 41/2002 ddn, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. [www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2002-22188](http://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2002-22188). 2002.
123. Ley Orgánica 3/2018 ddd, de Protección de datos personales y garantía de los derechos digitales. [www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2018-16673](http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2018-16673). 2018.
124. Yuan S, Cohen DB, Ravel J, Abdo Z, Forney LJ. Evaluation of methods for the extraction and purification of DNA from the human microbiome. *PLoS One*. 2012;7(3):e33865.
125. The Uppsala Monitoring Centre - SAFETY MONITORING of MEDICINAL PRODUCTS. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241503198>. 2008.
126. Maruani A, Samimi M, Stembridge N, Abdel Hay R, Tavernier E, Hughes C, et al. Non-antistreptococcal interventions for acute guttate psoriasis or an acute guttate flare of chronic psoriasis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;4:CD011541.
127. Arnone M, Takahashi MDF, Carvalho AVE, Bernardo WM, Bressan AL, Ramos AMC, et al. Diagnostic and therapeutic guidelines for plaque psoriasis - Brazilian Society of Dermatology. *An Bras Dermatol*. 2019;94(2 Suppl 1):76-107.
128. EMA Guideline on clinical investigation of medicinal products indicated for the treatment of psoriasis. 2004; [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-medicinal-products-indicated-treatment-psoriasis\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-medicinal-products-indicated-treatment-psoriasis_en.pdf).
129. Carretero G, Puig L, Dehesa L, Carrascosa JM, Ribera M, Sanchez-Regana M, et al. Guidelines on the Use of Methotrexate in Psoriasis. *Actas Dermosifiliogr*. 2010;101(7):600-13.
130. Krueger GG, Papp KA, Stough DB, Loven KH, Gulliver WP, Ellis CN, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study evaluating efficacy and tolerability of 2 courses of alefacept in patients with chronic plaque psoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 2002;47(6):821-33.
131. 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(21):2014-22.
132. Groeger D, O'Mahony L, Murphy EF, Bourke JF, Dinan TG, Kiely B, et al. *Bifidobacterium infantis* 35624 modulates host inflammatory processes beyond the gut. *Gut Microbes*. 2013;4(4):325-39.
133. Vijayashankar M. RN. Pustular psoriasis responding to probiotics – A new insight. *Our Dermatol*. 2012;3:326–9.
134. Imafuku S, Tada Y, Umezawa Y, Sakurai S, Hoshii N, Nakagawa H. Certolizumab Pegol in Japanese Patients with Moderate to Severe Plaque

- Psoriasis: Effect of Demographics and Baseline Disease Characteristics on Efficacy. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2022;12(1):121-35.
135. Guo L, Wei G, Zhu J, Liao W, Leonard WJ, Zhao K, et al. IL-1 family members and STAT activators induce cytokine production by Th2, Th17, and Th1 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(32):13463-8.
136. Shepherd J, Little MC, Nicklin MJ. Psoriasis-like cutaneous inflammation in mice lacking interleukin-1 receptor antagonist. *J Invest Dermatol*. 2004;122(3):665-9.
137. Singh AK, Misra R, Aggarwal A. Th-17 associated cytokines in patients with reactive arthritis/undifferentiated spondyloarthritis. *Clin Rheumatol*. 2011;30(6):771-6.
138. Hebert HL, Bowes J, Smith RL, McHugh NJ, Barker J, Griffiths CEM, et al. Polymorphisms in IL-1B distinguish between psoriasis of early and late onset. *J Invest Dermatol*. 2014;134(5):1459-62.
139. Ferrari D, Casciano F, Secchiero P, Reali E. Purinergic Signaling and Inflammasome Activation in Psoriasis Pathogenesis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(17).
140. Johnston A, Xing X, Wolterink L, Barnes DH, Yin Z, Reingold L, et al. IL-1 and IL-36 are dominant cytokines in generalized pustular psoriasis. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(1):109-20.
141. Skendros P, Papagoras C, Lefaki I, Giatromanolaki A, Kotsianidis I, Speletas M, et al. Successful response in a case of severe pustular psoriasis after interleukin-1beta inhibition. *Br J Dermatol*. 2017;176(1):212-5.
142. Campa M, Mansouri B, Warren R, Menter A. A Review of Biologic Therapies Targeting IL-23 and IL-17 for Use in Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2016;6(1):1-12.
143. El-Gharabawy RM, Ahmed AS, Al-Najjar AH. Mechanism of action and effect of immune-modulating agents in the treatment of psoriasis. *Biomed Pharmacother*. 2017;85:141-7.
144. Cai Y, Xue F, Quan C, Qu M, Liu N, Zhang Y, et al. A Critical Role of the IL-1beta-IL-1R Signaling Pathway in Skin Inflammation and Psoriasis Pathogenesis. *J Invest Dermatol*. 2019;139(1):146-56.
145. Potgieter M, Bester J, Kell DB, Pretorius E. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol Rev*. 2015;39(4):567-91.
146. Gosiewski T, Ludwig-Galezowska AH, Huminska K, Sroka-Oleksiak A, Radkowski P, Salamon D, et al. Comprehensive detection and identification of bacterial DNA in the blood of patients with sepsis and healthy volunteers using next-generation sequencing method - the observation of DNAemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(2):329-36.

147. Damgaard PB, Margaryan A, Schroeder H, Orlando L, Willerslev E, Allentoft ME. Improving access to endogenous DNA in ancient bones and teeth. *Sci Rep.* 2015;5:11184.
148. Kell DB, Pretorius E. The simultaneous occurrence of both hypercoagulability and hypofibrinolysis in blood and serum during systemic inflammation, and the roles of iron and fibrin(ogen). *Integr Biol (Camb).* 2015;7(1):24-52.
149. Thwaites GE, Gant V. Are bloodstream leukocytes Trojan Horses for the metastasis of *Staphylococcus aureus*? *Nat Rev Microbiol.* 2011;9(3):215-22.
150. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, et al. Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:189.
151. Kell DB, Pretorius E. No effects without causes: the Iron Dysregulation and Dormant Microbes hypothesis for chronic, inflammatory diseases. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2018;93(3):1518-57.
152. Kell DB, Pretorius E. On the translocation of bacteria and their lipopolysaccharides between blood and peripheral locations in chronic, inflammatory diseases: the central roles of LPS and LPS-induced cell death. *Integr Biol (Camb).* 2015;7(11):1339-77.
153. Zakostelska Z, Malkova J, Klimesova K, Rossmann P, Hornova M, Novosadova I, et al. Intestinal Microbiota Promotes Psoriasis-Like Skin Inflammation by Enhancing Th17 Response. *PLoS One.* 2016;11(7):e0159539.
154. Munz OH, Sela S, Baker BS, Griffiths CE, Powles AV, Fry L. Evidence for the presence of bacteria in the blood of psoriasis patients. *Arch Dermatol Res.* 2010;302(7):495-8.
155. Alekseyenko AV, Perez-Perez GI, De Souza A, Strober B, Gao Z, Bihan M, et al. Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. *Microbiome.* 2013;1(1):31.
156. Szanto M, Dozsa A, Antal D, Szabo K, Kemeny L, Bai P. Targeting the gut-skin axis-Probiotics as new tools for skin disorder management? *Exp Dermatol.* 2019;28(11):1210-8.
157. Jensen P, Skov L. Psoriasis and Obesity. *Dermatology.* 2016;232(6):633-9.
158. Carrascosa JM, Rocamora V, Fernandez-Torres RM, Jimenez-Puya R, Moreno JC, Coll-Puigserver N, et al. Obesity and psoriasis: inflammatory nature of obesity, relationship between psoriasis and obesity, and therapeutic implications. *Actas Dermosifiliogr.* 2014;105(1):31-44.
159. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science.* 2009;326(5960):1694-7.

160. Dave M, Higgins PD, Middha S, Rioux KP. The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions. *Transl Res.* 2012;160(4):246-57.
161. Blum HE. The human microbiome. *Adv Med Sci.* 2017;62(2):414-20.
162. de Oliveira GLV, Leite AZ, Higuchi BS, Gonzaga MI, Mariano VS. Intestinal dysbiosis and probiotic applications in autoimmune diseases. *Immunology.* 2017;152(1):1-12.
163. Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol.* 2018;9:1835.
164. Tett A, Pasolli E, Farina S, Truong DT, Asnicar F, Zolfo M, et al. Unexplored diversity and strain-level structure of the skin microbiome associated with psoriasis. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2017;3:14.
165. Yegorov S, Babenko D, Kozhakhmetov S, Akhmaltdinova L, Kadyrova I, Nurgozhina A, et al. Psoriasis Is Associated With Elevated Gut IL-1alpha and Intestinal Microbiome Alterations. *Front Immunol.* 2020;11:571319.
166. Chen L, Li J, Zhu W, Kuang Y, Liu T, Zhang W, et al. Skin and Gut Microbiome in Psoriasis: Gaining Insight Into the Pathophysiology of It and Finding Novel Therapeutic Strategies. *Front Microbiol.* 2020;11:589726.
167. Song H, Yoo Y, Hwang J, Na YC, Kim HS. Faecalibacterium prausnitzii subspecies-level dysbiosis in the human gut microbiome underlying atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(3):852-60.
168. Hansen R, Russell RK, Reiff C, Louis P, McIntosh F, Berry SH, et al. Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased Faecalibacterium prausnitzii and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2012;107(12):1913-22.
169. Polak K, Bergler-Czop B, Szczepanek M, Wojciechowska K, Fratzczak A, Kiss N. Psoriasis and Gut Microbiome-Current State of Art. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9).
170. Dei-Cas I, Giliberto F, Luce L, Dopazo H, Penas-Steinhardt A. Metagenomic analysis of gut microbiota in non-treated plaque psoriasis patients stratified by disease severity: development of a new Psoriasis-Microbiome Index. *Sci Rep.* 2020;10(1):12754.
171. Cheng FS, Pan D, Chang B, Jiang M, Sang LX. Probiotic mixture VSL#3: An overview of basic and clinical studies in chronic diseases. *World J Clin Cases.* 2020;8(8):1361-84.
172. Fabbrocini G, Bertona M, Picazo O, Pareja-Galeano H, Monfrecola G, Emanuele E. Supplementation with Lactobacillus rhamnosus SP1 normalises skin expression of genes implicated in insulin signalling and improves adult acne. *Benef Microbes.* 2016;7(5):625-30.

173. Chen YH, Wu CS, Chao YH, Lin CC, Tsai HY, Li YR, et al. Lactobacillus pentosus GMNL-77 inhibits skin lesions in imiquimod-induced psoriasis-like mice. *J Food Drug Anal.* 2017;25(3):559-66.
174. Linares R, Frances R, Gutierrez A, Juanola O. Bacterial Translocation as Inflammatory Driver in Crohn's Disease. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:703310.
175. Price KN, Hendricks AJ, Goodrich ME, Krase JM, Shi VY. Widespread pustular eruption following probiotic use. *Dermatol Online J.* 2020;26(11).
176. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis.* 2015;60 Suppl 2:S129-34.
177. Li-Wan-Po A, Peterson GM. Drug compliance and the Morisky Adherence Scale: An expression of concern and a warning. *J Clin Pharm Ther.* 2021;46(1):1-3.
178. Bellone M, Brevi A, Huber S. Microbiota-Propelled T Helper 17 Cells in Inflammatory Diseases and Cancer. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2020;84(2).
179. Cicerone C, Nenna R, Pontone S. Th17, intestinal microbiota and the abnormal immune response in the pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench.* 2015;8(2):117-22.

## **VIII – ANEXOS**



## VIII - ANEXOS

### ANEXO I: HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

#### TÍTULO DEL ESTUDIO:

"Estudio de investigación, unicéntrico aleatorizado y doble ciego de 12 semanas de duración para estudiar la eficacia y seguridad del uso del probiótico CBP-004023/B en pacientes con psoriasis"

#### INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Dra. Ana Ramirez Bosca. Unidades de Investigación Clínica y de Dermatología Pediátrica. Centro Dermatológico Estético de Alicante

Dr. Vicente Navarro López. Unidad de investigación clínica. Centro Dermatológico Estético de Alicante

#### CENTRO DE REALIZACIÓN:

Centro Dermatológico Estético de Alicante. C/ Alonso Cano, 51, 03014.

Alicante. 96514 04 60

#### INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio pretende estudiar la eficacia de un preparado probiótico en pacientes con psoriasis. Un probiótico se define como bacterias atenuadas (tipo *Lactobacillus*) que han sido probadas y están ya autorizadas para su consumo tanto en dietas como en riesgo cardiovascular con

diferentes marcas comerciales sobradamente conocidas) que se utilizan con la intención de mejorar y regular la flora de bacterias que tenemos en el intestino.

El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del Hospital General Universitario de Alicante, de acuerdo a la legislación vigente, y se lleva a cabo con respeto a los principios enunciados en la declaración del Helsinki y a las normas de buena práctica clínica.

Nuestra intención es que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y solicítenos cualquier aclaración a las dudas que le puedan surgir después de la aplicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno para recabar mayor información.

## **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA**

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico. Si usted decide revocar su consentimiento, no se recogerán nuevos datos, pero esta revocación no afectará a las investigaciones realizadas hasta ese momento y los responsables del estudio podrán seguir utilizando la información recogida sobre usted hasta entonces, a no ser que usted se oponga expresamente.

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO**

En este estudio se pretende estudiar un total de 90 pacientes con diagnóstico de psoriasis para examinar la eficacia de un **preparado probiótico** en pacientes con psoriasis. Mediremos que tenga el paciente menos brotes y/o menos duración de estos brotes y/o menos severidad de los mismos durante el estudio.

Una vez incluido en el estudio tras cumplir los criterios descritos se le dará el probiótico en estudio o un placebo, ambos en forma de capsula de apariencia exactamente igual que deberá de tomar una vez al día durante las 12 semanas que dure el estudio. La decisión de que tomar se realizará mediante la elección al azar para incluirle en uno de los dos grupos de tratamiento durante el tiempo de 12

semanas que dura el estudio. Además, se le hará una historia clínica que recoja los datos demográficos suyos (edad y sexo), el peso y talla, los antecedentes médicos más relevantes incluyendo la toma de medicación y si existe alguna enfermedad que disminuya sus defensas o tratamiento que pueda disminuirlas.

El promotor del estudio tiene contratada una Póliza de Seguros de Responsabilidad civil que cubre los daños y perjuicios que como consecuencia del estudio clínico pudieran resultar para la persona en que hubiere de realizarse, cubriendo, asimismo, la responsabilidad del promotor del estudio clínico, del investigador principal y sus colaboradores y del titular del Hospital y/o de los Centros en que se realice el estudio clínico bajo su tutela, en los términos establecidos en el Real Decreto 223/2004 de 6 de febrero. La póliza se ajusta en sus límites, garantías, coberturas, etc., a todo lo dispuesto en el citado Real Decreto 223/2004 y la Le 29/2006 de 26 de julio de garantías y uso racional de los medicamentos y a la normativa vigente en materia de seguros en España.

La fecha de efecto de esta póliza de seguro es la del comienzo del estudio previsto para el 1 de abril 2015, y garantiza que se prorrogará automáticamente hasta un año después, según las condiciones del artículo 8 del citado Real Decreto.

### **BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

En todos los casos incluidos se le realizará una determinación analítica de sangre para valorar parámetros analíticos básicos y otros que miden la inflamación sistémica y la posible existencia de restos bacterianos en la sangre. También se solicitará una muestra de heces para determinar las bacterias en esta, (se analizará en el laboratorio tanto la cantidad como la proporción de estas).

El probiótico a administrar, al igual que otros probióticos, no tienen prácticamente ningún efecto secundario, solo en algunas ocasiones los sujetos/pacientes que lo toman se han quejado de "malestar" del abdomen sin otros efectos y por lo general solo de manera excepcional lo han tenido que dejar de tomar por este motivo.

La extracción de la muestra será realizada por una enfermera titulada que participante en el estudio dentro del grupo de investigadores, que se encuentra

colegiada en el colegio de Enfermería de la Provincia de Alicante y que tiene con este Colegio de Enfermería firmando un seguro que cubra posibles complicaciones de la intervención (extracción de muestra sanguínea por punción venosa). Su participación en el estudio podría modificar las condiciones de las pólizas de seguro que pudiera tener contratadas previamente.

### **CONFIDENCIALIDAD**

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, y en su reglamento de desarrollo. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Sus datos serán tratados informáticamente y se incorporarán a un fichero automatizado de datos de carácter personal cuyo responsable es el investigador principal en el estudio.

Sus datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio y colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo en caso de urgencia médica, requerimiento de la administración sanitaria o requerimiento legal.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores, autoridades sanitarias, al Comité de Ética de la Investigación del Hospital General de Alicante y personal autorizado cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

### **COMPENSACIÓN ECONÓMICA**

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto ni remuneración.

**ANEXO II: CONSENTIMIENTO INFORMADO AL PACIENTE****Consentimiento informado al paciente**

Título del trabajo: "Estudio de investigación, unicéntrico aleatorizado y doble ciego de 12 semanas de duración para estudiar la eficacia y seguridad del uso del probiótico CBP-004023/B en pacientes con psoriasis"

D. ...., he sido informado por el  
Dr....., investigador del  
proyecto:

Y firmo este consentimiento informado para que los investigadores en el proyecto puedan utilizar los datos de las determinaciones analíticas que se me han realizado en muestras sanguíneas siempre que esta información sea confidencial y se utilice exclusivamente con fines científicos.

Su participación en el estudio es voluntaria. Este consentimiento puede ser revocado en cualquier momento del estudio si así lo solicita el paciente. Se entrega copia firmada para el paciente.

Alicante, (Fecha): .....

Firmado: D.....

Firmado Dr. ....  
Investigador

**ANEXO III: CONFORMIDAD DEL COMITÉ DE ÉTICA**

DATA/FECHA Alicante 7-04-2015  
S/REFERENCIA  
N/REFERENCIA 2015/017.1  
ASSUMPTO/ASUNTO Estudio  
PROTOCOLO: PSO/PRO-2

Dra. Ana Ramirez Bosca  
Unidad de Investigación Clínica  
Centro Dermatológico de Alicante  
C/Alonso Cano, 51  
03014-Alicante

Adjunto le remitimos la documentación una vez cumplimentada del estudio, al cual el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital General Universitario de Alicante, le ha dado su conformidad. Estando patrocinado éste estudio por Vds., correspondiente a "Estudio de investigación, unicéntrico aleatorizado y doble ciego de 12 semanas de duración para estudiar la eficacia y seguridad del uso del probiótico CBP-004023/B en pacientes con psoriasis", siendo el investigador principal la Dra. Ana Ramirez Bosca y Dr. Vicente Navarro López (Centro Dermatológico de Alicante).

Un cordial saludo.

  
Fdo: Mayte Domenech Varón  
Secretaria del CEIC

## ANEXO IV: FICHA TÉCNICA DEL PRODUCTO

	<b>FICHA DE SEGURIDAD</b>	Cod: MSDS-004023B ESP
	Formulado 004023 en base maltodextrina	Edición: Marzo 2015
		Revisión: 01

1. **IDENTIFICACIÓN DE SUSTANCIA/PREPARACIÓN Y COMPAÑÍA**  
Nombre de producto: Formulado 004023 en base maltodextrina  
Código de producto: CBP-004023/B  
Proveedor: Biopolis S.L. Calle Catedrático Agustín Escardino, 9. 46980, Paterna (España)  
Tel: +0034963160299. Fax: +0034963160367. E-mail: biopolis@biopolis.es
2. **COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN DE INGREDIENTES**  
Maltodextrina de tapioca, células de *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus rhamnosus* y azúcar.
3. **IDENTIFICACIÓN DE RIESGOS**  
No existen riesgos de acuerdo con Directiva 67/548/CEE
4. **MEDIDAS DE PRIMEROS AUXILIOS**  
Contacto con los ojos: Lavar con abundante agua  
Contacto con la piel: Lavar con agua  
Inhalación: Apartarse de la exposición. Desplazarse a un lugar con aire limpio
5. **MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIO**  
Medios de extinción adecuados: Agua, espuma  
Procedimientos especiales: No requeridos  
Peligros inusuales: No detectados
6. **MEDIDAS EN CASO DE VERTIDOS ACCIDENTALES**  
Precauciones para personal: No hay requisitos adicionales  
Precauciones medioambientales: Barrer, colocar en una bolsa y cerrar para eliminación de residuos. Evitar levantar polvo. Ventilar el área y lavar el sitio del derrame después de recogida de material.
7. **PRECAUCIONES DE MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO**  
Emplear protección contra el polvo para evitar el contacto con ojos o inhalación. Almacenamiento en un lugar seco y refrigerado (+2/+8°C)
8. **CONTROL DE LA EXPOSICIÓN/PROTECCIÓN PERSONAL**  
Equipamiento de protección personal: No requerido  
General: No respirar polvo. Evitar contacto con los ojos, piel y ropa. Lavar con agua después de la manipulación
9. **PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS**  
Apariencia: Polvo amarillento  
Olor: Característico  
Información química: Material no corrosivo, ni tóxico ni inflamable
10. **ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD**  
Condiciones evitables: Zonas húmedas y temperaturas de almacenamiento elevadas  
Incompatibilidades: Agua (durante el almacenamiento y la manipulación)
11. **INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA**  
Vías de exposición: Inhalación
12. **INFORMACIÓN ECOLÓGICA**  
No se esperan problemas ecológicos cuando el producto se manipula y utiliza con cuidado y precaución.
13. **CONSIDERACIONES DE ELIMINACIÓN**  
No hay consideraciones especiales
14. **INFORMACIÓN DE TRANSPORTE**  
Material clasificado como no peligroso en referencia con su transporte
15. **INFORMACIÓN DE REGULACIÓN**  
Ninguna
16. **OTRA INFORMACIÓN**  
Ninguna

La información suministrada en esta ficha de seguridad es correcta de acuerdo con nuestro conocimiento, información y creencia en la fecha de su publicación. La información proporcionada está diseñada sólo como guía para el manejo, uso, procesamiento, almacenamiento, transporte, eliminación y liberación; y no se considera una especificación de garantía o calidad. La información se refiere sólo al material específico señalado y puede no ser válida para tal material usado en combinación con cualquier otro material o en cualquier proceso a menos que esté especificado en el texto.

## ANEXO V: NORMAS DE CORRECTA FABRICACIÓN

	<b>POLÍTICA DE CALIDAD DE KOROTT</b>	<b>KOR-PCA-04</b>
		Pág. 1 de 2

La Dirección de KOROTT S.L. empresa dedicada a la fabricación de productos farmacéuticos en forma de sólidos orales, complementos nutricionales, productos cosméticos, derivados del algodón, biocidas e importación de preservativos, ha decidido impulsar y difundir a todos los niveles de la empresa una Política de Calidad que sea la guía de consecución de los siguientes objetivos:

- Asegurar una mejora continua del servicio prestado, satisfaciendo siempre tanto los requisitos solicitados por los clientes así como los reglamentarios y/o legales que sean de aplicación a cada producto.
- Que nuestros clientes perciban y aprecien nuestra mejora continuada, a través de un contacto continuo y personalizado.
- Alcanzar un elevado grado de inocuidad alimentaria de nuestros productos.
- Ofrecer productos que satisfagan las más altas exigencias de nuestros clientes.
- Garantizar a sus clientes calidad y servicio, manteniendo un buen equilibrio entre desarrollo y naturaleza (Medio Ambiente).
- Asegurar la preservación de la Confidencialidad, Disponibilidad e Integridad de la información gestionada en la empresa.

Para ello y tomando de referencia siempre los diferentes Sistemas de Gestión:

- FSSC 22000 Food Safety System Certification.
- Sistema de Gestión Ambiental (norma UNE EN ISO 14001:04).
- Sistema de Gestión de la Calidad (norma UNE EN ISO 9001:2008 (Administración)).
- Sistema de Gestión de Seguridad de la Información basado en la norma UNE ISO/IEC 27001:2005.
- Normas de Correcta Fabricación de medicamentos.
- Normas de Correcta Fabricación de productos cosméticos.

De los cuales están implantados en la empresa los siguientes:

- FSSC 22000 Food Safety System Certification.
- Sistema de Gestión Ambiental (norma UNE EN ISO 14001:04).
- Normas de Correcta Fabricación de medicamentos.
- Normas de Correcta Fabricación de productos cosméticos

La Dirección de la empresa asume el compromiso de:

- CUMPLIR la Política de Calidad y LIDERAR el desarrollo e implantación de los Sistemas de Gestión establecidos conforme a las normativas anteriormente mencionadas y buscar siempre el camino hacia la mejora continua de su eficacia, estableciendo para ello objetivos ambiciosos en dicha dirección.
- Asignar los medios técnicos y humanos necesarios para llevar a cabo el cumplimiento de dicha política de calidad.
- Producir productos de alta calidad, partiendo de materias primas que cumplan con las características y parámetros definidos, así como, con las especificaciones marcadas por las correspondientes legislaciones.
- Mantener un contacto continuo con nuestros clientes y mercado, para conocer sus necesidades y poder adaptarnos a las mismas.
- Velar por que el conjunto del personal cumpla con lo dispuesto en los manuales y procedimientos, actuando siempre con mentalidad preventiva.

NIVEL DE SEGURIDAD: **BAJO**

## ANEXO V: NORMAS DE CORRECTA FABRICACIÓN

	POLÍTICA DE CALIDAD DE KOROTT	KOIR-PCA-04
		Pág. 2 de 2

- Realizar controles exhaustivos y rigurosos de las materias primas y del producto acabado para:
  - o ofrecer al consumidor productos de calidad, garantizando su salubridad e inocuidad alimentaria
  - o ofrecer medicamentos, productos cosméticos, productos biocidas y productos sanitarios (preservativos), que cumplan con las premisas de calidad, seguridad y eficacia establecidas en la legislación vigente.
- Aumentar el grado de formación de nuestro personal que redunde en una mayor satisfacción personal, una mejora en el ambiente de trabajo y una mejora en la prestación de nuestros servicios e inocuidad alimentaria.
- Mantener una política ambiental, como marco de referencia en el establecimiento de los objetivos medioambientales.
- Revisar la presente política para adaptarla a los nuevos requisitos y su puesta a disposición de cualquier empresa o institución o parte interesada que la solicite.
- Desarrollar productos y servicios más sostenibles teniendo como fundamento, elevada calidad/mínimo impacto.
- Gestionar de una manera exigente y eficaz los recursos vitales: Agua, Energía, asignando los medios necesarios y viables.
- Desarrollar nuestras actividades minimizando la generación de residuos, vertidos y emisiones.
- Mantener un estricto control tanto de los aspectos medioambientales más significativos, para minimizar cualquier tipo de impacto.
- Asegurar la disponibilidad de los datos e información propiedad de nuestros clientes y nuestra misma.
- Aumentar en general la seguridad de la información que tratamos.
- Asegurar la confidencialidad de la información que por su naturaleza o importancia requiere una protección especial.
- Lograr que toda la organización se conciencie de la importancia de la seguridad de la información.
- Asegurar la continuidad del negocio frente a cualquier incidencia en cuanto a la Seguridad de la Información.
- Cumplimiento de la legislación pertinente en materia de seguridad y confidencialidad de la información: Ley Orgánica de Protección de Datos (LOPD), Ley de Seguridad de los Servicios de la Información y Comercio Electrónico (LSSI), etc.
- Asegurar la protección alimentaria frente a posibles actos intencionados de contaminación o alteración.

La Dirección de KOROTT, S.L firma la presente política y asume el compromiso de mantener y hacer extensivo al público en general el contenido de la misma.

Aprobado por Dirección:

Fecha:

NIVEL DE SEGURIDAD: BAJO

