

FLAVIA DE FREIRE CASSIA

**PSORÍASE E ARTRITE PSORIÁSICA:
ESTUDO DAS FREQUÊNCIAS HLA E DOS GENES KIR
EM UMA POPULAÇÃO MISCIGENADA**

Tese apresentada ao corpo docente do Curso de Pós-Graduação em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor. Área de concentração: Dermatologia.

Orientadores: Prof^a. Sueli Coelho da Silva Carneiro
Prof. Absalom Lima Filgueira

**Rio de Janeiro
Novembro de 2006**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FLAVIA DE FREIRE CASSIA

**PSORÍASE E ARTRITE PSORIÁSICA:
ESTUDO DAS FREQUÊNCIAS HLA E DOS GENES KIR
EM UMA POPULAÇÃO MISCIGENADA**

Orientadores: Prof^a. Sueli Coelho da Silva Carneiro
Prof. Absalom Lima Filgueira

Aprovado por:

Prof^a. Lucia Maria Soares de Azevedo (Presidente da banca)

Prof. José Marcos Telles da Cunha

Prof^a. Maria Clara Gutierrez Galhardo

Prof. João Carlos Regazzi Avelleira

Prof. Luis Cristóvão Moraes de Sobrino Porto

Rio de Janeiro, 06 de novembro de 2006

Cassia, Flavia de Freire

Psoríase e artrite psoriásica: estudo das frequências HLA e dos genes KIR em uma população miscigenada / Flavia de Freire Cassia. Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Medicina, 2006.

xiii, 133 p.il.

Orientadores: Sueli Coelho da Silva Carneiro e Absalom Lima Filgueira.

Tese (Doutorado) – UFRJ / Faculdade de Medicina/ Dermatologia, 2006.

Referências bibliográficas: f. 100-120.

1.Psoríase vulgar. 2. Artrite psoriásica. 3. Genes classe I do complexo HLA. 4. Genes classe II do complexo HLA. 5. Amplificação de genes. 6. Estudo populacional. – Tese. I. Carneiro, Sueli Coelho da Silva e Filgueira, Absalom Lima. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina. III. Título.

*Aos meus pais Maria Luiza e Umberto,
ao meu querido Eugenio,
e ao meu irmão Ricardo,
amores incondicionais.
Ao neném, amor de todos nós.*

Agradecimentos

À professora **Sueli Coelho da Silva Carneiro**, por seu exemplo de dedicação ao paciente, à pesquisa e aos alunos, pela orientação e pela valiosa amizade.

Ao professor **Luiz Cristóvão de Moraes Sobrino Porto** pelos ensinamentos, orientação e pela oportunidade de desenvolver este trabalho no Laboratório de Histocompatibilidade da UERJ.

Ao professor **Absalom Lima Figueira**, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Dermatologia, pela sua dedicação exemplar e por proporcionar a realização de inúmeros trabalhos como este.

Ao **Curso de Pós-Graduação em Dermatologia**, a **CAPES** e a **FAPERJ** pelo apoio financeiro dispensado para este trabalho.

À **Maria Teresa Queiroz Marques** pelo seu conhecimento técnico e dedicação ao trabalho, imprescindíveis para sua realização.

À **Luciane Faria de Souza Pontes** pelos seus ensinamentos e exemplo de vida.

A **Danielli Cristina Muniz de Oliveira** pela prestimosa colaboração e participação direta nesta pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de HLA **Ernesto de Abreu Lima**, **Mônica da Cruz Falci**, **Maria das Graças dos Santos Ferreira**, **Juliana Pessanha Rodrigues**, **Juliana Fernandes Cardoso**, **Gustavo Milson Fabrício da Silva**, **Elizabeth Mortagua Figueiredo Leal Domingues**, pela boa vontade, acolhimento e valiosa participação no trabalho.

Às professoras **Lucia Maria Soares de Azevedo** e **Maria Leide Wand Del Rey de Oliveira** pelos ensinamentos e grande incentivo.

Às secretárias **Gilsara Jaccoud da Costa** e **Deise Pereira da Cunha** por sua eficiência e pelo carinho com que sempre fomos tratados.

Aos amigos **Eduardo Henrique Jorge Lago**, **Fátima Pessanha Fagundes**, **Maria Augusta Castro Japiassu**, **Fabiola de Souza e Mello Pereira**, **Arles Martins Brotas**, **Joana Carvalho**, **Luiza Erthal Britto Kassuga**, **Ana Paula de Sá Earp**, **Clarice de Oliveira Martins**, **Márcia Maria Villa Nova da Silva**, pela força de sempre e sem igual.

Aos professores **João Carlos Regazzi Avelleira e David Rubem Azulay** pela amizade, convivência e cooperação durante esses anos de trabalho.

Às amigas **Maria de Lourdes Viegas, Ivone Rozembaun, Maria Shirley Chaves, Flora Infrator, Andréa Cabral Gurfinkel e Fernanda Valejo** pela compreensão e incentivo.

Agradecimento especial

Aos pacientes e aos doadores de medula óssea que generosamente concordaram em participar do estudo, pela paciência e confiança depositada no nosso grupo de pesquisa.

Sumário

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
3 REVISÃO DA LITERATURA	6
3.1 A PSORÍASE.....	6
3.1.1 <i>Definição</i>	6
3.1.2 <i>Aspectos epidemiológicos</i>	6
3.1.3 <i>Aspectos clínicos</i>	8
3.2 ASPECTOS IMUNOGENÉTICOS DA PSORÍASE	12
3.2.1 <i>Imunopatogenia</i>	12
3.2.2 <i>Genes de susceptibilidade</i>	23
3.2.3 <i>O sistema HLA</i>	27
3.2.4 <i>Psoríase e HLA</i>	34
3.2.5 <i>Artrite psoriásica e HLA</i>	48
3.2.6 <i>Os receptores tipo-imunoglobulina de células natural killer (KIR)</i>	51
3.2.7 <i>Psoríase vulgar, artrite psoriásica e KIR</i>	55
4 METODOLOGIA	58
4.1 DESENHO DO ESTUDO.....	58
4.2 CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL	58
4.3 PACIENTES.....	59
4.4 CONTROLES	60
4.5 MÉTODOS	61
4.5.1 <i>Pacientes e controles</i>	61
4.5.2 <i>Tipificação do HLA e dos receptores KIR</i>	62
4.5.3 <i>Análise estatística</i>	68
5 RESULTADOS	70
5.1 CASUÍSTICA.....	70
5.2 FREQUÊNCIA DOS GRUPOS ALÉLICOS HLA.....	75
5.3 HAPLÓTIPOS HLA.....	80
5.4 FREQUÊNCIA DOS GENES KIR	86
6 DISCUSSÃO	88
7 CONCLUSÕES	98
8 SUGESTÕES	99
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
10 ANEXOS	121

Lista de tabelas

Tabela 3-1: Loci de susceptibilidade não relacionados ao MHC descritos na literatura	26
Tabela 4-1: Parâmetros do termociclador para o programa de PCR-SSP.....	66
Tabela 5-1: Distribuição dos casos e controles em relação à idade, sexo e etnia.....	70
Tabela 5-2: Principais características clínico-epidemiológicas dos pacientes com psoríase vulgar .	72
Tabela 5-3: Características clínico-epidemiológicas dos pacientes com psoríase do tipo I e II	74
Tabela 5-4: Freqüência dos grupos alélicos HLA-A nos pacientes e controles	76
Tabela 5-5: Freqüência dos grupos alélicos HLA-B nos pacientes e controles	77
Tabela 5-6: Freqüência dos grupos alélicos HLA-Cw nos pacientes e controles	78
Tabela 5-7: Freqüência dos grupos alélicos HLA-DRB1 nos pacientes e controles.....	78
Tabela 5-8: Freqüência dos grupos alélicos HLA-DQB1 nos pacientes e controles.....	79
Tabela 5-9: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-B*	81
Tabela 5-10: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-Cw*	82
Tabela 5-11: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-DRB1*	82
Tabela 5-12: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-DQB1*	83
Tabela 5-13: Haplótipos envolvendo os loci HLA-B* e HLA-Cw*	83
Tabela 5-14: Haplótipos envolvendo os loci HLA-B* e HLA-DRB1*.....	84
Tabela 5-15: Haplótipos envolvendo os loci HLA-B* e HLA-DQB1*	84
Tabela 5-16: Haplótipos envolvendo os loci HLA-Cw* e HLA-DRB1*	85
Tabela 5-17: Haplótipos envolvendo os loci HLA-Cw* e HLA-DQB1*.....	85
Tabela 5-18: Haplótipos envolvendo os loci HLA-DRB1* e HLA-DQB1*	86
Tabela 5-19: Freqüência dos genes KIR nos grupos estudados	87

Lista de figuras

Figura 3-1: Representação esquemática da apresentação de antígenos às células T CD4+ e CD8+. Adaptado de Schwarz 2003.	20
Figura 3-2: Representação esquemática da molécula HLA classe I. Adaptado de Janeway et al 2005.	30
Figura 3-3: Representação esquemática da molécula HLA classe II. Adaptado de Janeway et al 2005.	31
Figura 3-4: Representação esquemática dos receptores KIR. Adaptado de Middleton et al 2002. ..	53
Quadro 3-1: HLA classes I e II associados à psoríase vulgar em estudos populacionais	45
Quadro 3-2: HLA classes I e II associados à psoríase vulgar do tipo I em estudos populacionais ...	46
Quadro 3-3: HLA classes I e II associados à psoríase vulgar do tipo II em estudos populacionais ..	47
Quadro 3-4: HLA classes I e II de proteção em relação à psoríase em estudos populacionais	47

Lista de abreviaturas

APC: “*antigen presenting cells*” (células apresentadoras de antígeno)

CDSN: corneodesmosina

CLA: “*cutaneous leukocyte antigen*” (antígeno cutâneo leucocitário)

CONEP: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

DNA: ácido desoxirribonucleico

HLA: “*human leukocyte antigen*” (antígeno leucocitário humano)

HUCFF: Hospital Universitário Clementino Fraga Filho

ICAM: “*intercellular adhesion molecule*” (molécula de adesão intercelular)

IFN: interferon

IL: interleucina

KIR: receptores tipo imunoglobulina de células natural killer

LFA: “*leukocyte function-associated antigen*” (antígeno associado à função do leucócito)

MHC: “*major histocompatibility complex*”(complexo principal de histocompatibilidade)

NK: “*natural killer*” (assassinas naturais)

PASI: “*Psoriasis Activity and Severity Index*”

PCR: reação em cadeia da polimerase

RNA: ácido ribonucleico

RSSO: oligonucleotídeos seqüência-específicos - reverso

SAPE: estreptavidina conjugada com R-ficoeritrina

SSO: oligonucleotídeos seqüência-específicos

SSP: iniciadores (*iniciadores*) seqüência-específicos

TCR: “*T cell receptor*” (receptor de células T)

TNF: fator de necrose tumoral.

Resumo

Introdução: A associação de moléculas HLA com a psoríase vulgar e artrite psoriásica está amplamente descrita na literatura. Estudos em populações de origens étnicas diversas mostram a freqüência aumentada de diferentes especificidades HLA nos pacientes com psoríase, quando comparados aos grupos controles. Estudos genéticos recentes correlacionaram determinados KIR com o aumento da susceptibilidade à psoríase vulgar e à artrite psoriásica.

Objetivos: Tipificar os loci das classes I (A, B e C) e II (DR e DQ) do HLA e os genes KIR de pacientes brasileiros com psoríase em placas, com ou sem artrite, acompanhados nos ambulatórios do HUCFF e compará-los com um grupo controle pareado quanto à origem étnica, sexo e idade. Correlacionar as tipagens HLA encontradas com aspectos epidemiológicos e evolutivos da doença.

Materiais e Métodos: Foram incluídos 55 pacientes com diagnóstico clínico e/ou histopatológico de psoríase vulgar, com pelo menos 5 anos de duração, com ou sem artrite. Eles responderam um questionário sobre origem étnica, história familiar, tempo de evolução da doença, história de eritrodermia, internação e tratamento. Foram avaliados clinicamente quanto à distribuição e morfologia das lesões cutâneas, comprometimento articular e atividade da doença e submetidos a exames laboratoriais. Como controles foram incluídos 134 indivíduos doadores de medula óssea, após consentimento informado. As tipificações dos alelos HLA e dos genes KIR foram obtidas por hibridização por PCR-SSO e PCR-SSP. As diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de qui-quadrado ou pelo teste exato de Fisher.

Resultados: A idade média dos pacientes foi de 42,4 anos. Houve 23 (41,8%) pacientes do sexo feminino e 32 (58,2%) do sexo masculino. O HLA-B*57 esteve presente em 13 (23,6%) pacientes e em 10 (7,5%) controles ($p=0,00200$, $OR=3,8381$) e o HLA-Cw*06, em 16 (29,1%) pacientes e em 22 (16,4%) controles ($p=0,04832$, $OR=2,0886$). O HLA-B*57 e o HLA-Cw*18 estiveram significativamente presentes no grupo de pacientes com artrite ($p=0,00104$, $OR=6,6769$ e $p=0,00269$, $OR=16,50$, respectivamente). O HLA-B*57 foi mais freqüente nos pacientes com história de psoríase eritrodérmica ($p=0,00548$, $OR=5,1059$), assim como o HLA-Cw*06 ($p=0,02158$, $OR=3,0545$). O HLA-B*57 foi mais freqüente também nos pacientes com história de internação pela psoríase ($p=0,00094$, $OR=7,8909$) e nos com história de uso de tratamento sistêmico para a doença ($p=0,00011$, $OR=5,3733$). O haplótipo HLA-A*02 B*57 Cw*06 DQB1*03 DRB1*07 foi o mais comum entre os pacientes ($p=0,00069$, $OR=3,528$). O KIR2DL2 esteve presente em 70 (53,0%) controles e em 16 (29,1%) pacientes ($p=0,00276$, $OR=0,3634$).

Conclusões: Os grupos alélicos HLA-B*57 e HLA-Cw*06 estiveram aumentados significativamente no grupo de pacientes, indicando risco. O HLA-B*57 manteve-se aumentado nos pacientes com história de eritrodermia, internação pela psoríase, tratamento sistêmico e artrite psoriásica. O HLA-Cw*18 esteve significativamente aumentado apenas nos pacientes com artrite psoriásica. O KIR2DL2 esteve significativamente aumentado no grupo de controles, indicando proteção. Os grupos alélicos HLA-B*57 e HLA-Cw*06 e o haplótipo HLA-A*02 B*57 Cw*06 DRB1*07 DQB1*03 encontrados no presente estudo já foram descritos anteriormente em associação com a psoríase. O HLA-Cw*18 e o KIR2DL2 ainda não foram descritos em outros grupos populacionais em associação com a psoríase.

Abstract

Introduction: The association of HLA with psoriasis vulgaris and psoriatic arthritis is widely described in the literature. Reports on populations of diverse ethnical origins show different HLA markers in patients with psoriasis when compared to controls. Recent genetic studies correlated some KIR with susceptibility to psoriasis and psoriatic arthritis.

Objectives: To type HLA classes I (A, B e C) and II (DRB1 e DQB1) and KIR genes of Brazilian patients with psoriasis vulgaris, with or without arthritis, from HUCFF outpatient unit, and compare them to controls pared in respect to ethnical origin, gender and age. To correlate HLA markers with epidemiological and evolutional aspects of psoriasis seen in our patients.

Materials and Methods: Fifty-five patients with clinical and/or histopathological diagnosis of psoriasis vulgaris, with at least 5 years of disease duration, and with or without arthritis, were included in the study. They answered a questionnaire on ethnic background, family history, duration of disease, history of erithroderma, hospital internment and treatment. They were clinically evaluated in respect to distribution and morphology of skin lesions, joint involvement and disease activity and were submitted to laboratorial tests. One-hundred thirty four bone marrow donors served as controls after informed consent. Allelic typing of class I and II and KIR genes were determined by PCR-SSP and PCR-SSO hybridization. Differences between the two groups were evaluated through chi-square or Fisher exact tests.

Results: The patients mean age was 42,4 years-old. There were 23 (41,8%) females and 32 (58,2%) males. HLA-B*57 was present in 13 (23,6%) patients and in 10 (7,5%) controls ($p=0,00200$, $OR= 3,8381$) and HLA-Cw*06, in 16 (29,1%) patients and in 22 (16,4%) controls ($p= 0,04832$, $OR=2,0886$). HLA-B*57 and HLA-Cw*18 were significantly present in patients with arthritis ($p=0,00104$, $OR=6,6769$ e $p=0,00269$, $OR=16,50$, respectively). HLA-B*57 was significantly present in patients with history of erithroderma ($p= 0,00548$, $OR= 5,1059$), as was HLA-Cw*06 ($p= 0,02158$, $OR= 3,0545$). HLA-B*57 was also frequent in patients with history of hospital internment because of psoriasis ($p= 0,00094$, $OR= 7,8909$) and in the ones with history of systemic treatment to the disease ($p= 0,00011$, $OR= 5,3733$). Haplotype HLA-A*02 B*57 Cw*06 DQB1*03 DRB1*07 was the most common among the patients ($p= 0,00069$, $OR= 3,528$). KIR2DL2 was present in 70 (53,0%) controls and in 16 (29,1%) patients ($p= 0,00276$, $OR= 0,3634$).

Conclusions: HLA-B*57 and HLA-Cw*06 were significantly high in the patients group, indicating risk. HLA-B*57 remained high in patients with history of erithroderma, hospital internment because of psoriasis, systemic treatment, and psoriatic arthritis. HLA-Cw*18 was significantly high only in patients with psoriatic arthritis. KIR2DL2 was significantly high in the control group, indicating protection. HLA-B*57 and HLA-Cw*06 and haplotype HLA-A*02B*57Cw*06DRB1*07 DQB1*03 seen in this study were already described before, associated to psoriasis. HLA-Cw*18 and KIR2DL2 were not described in other populations in association with psoriasis.

1 Introdução

A psoríase é uma doença inflamatória crônica mediada pelos linfócitos T. Caracteriza-se por lesões eritematoescamosas que configuram diferentes quadros clínicos, desde a forma vulgar crônica em placas, até a forma eritrodérmica, com artrite deformante e às vezes até mutilante. Considerada uma doença prevalente, atinge 2% da população nos países ocidentais.

A busca por novas modalidades terapêuticas tem possibilitado maior compreensão da sua patogênese, entretanto a etiologia permanece desconhecida. Admite-se hoje que um antígeno, ainda não identificado, deflagre a resposta imunológica celular do tipo Th1, que persiste cronicamente e mantém o processo da doença. Um componente genético que confere susceptibilidade à doença está envolvido, como mostram os estudos em gêmeos homozigóticos, os estudos familiares e a associação com as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC=*major histocompatibility complex*).

Os antígenos leucocitários humanos (HLA) classes I e II são fundamentais no processo de ativação dos linfócitos T durante a resposta imunológica celular. Tais moléculas participam da apresentação de antígenos às células T, os quais são reconhecidos por essas células na superfície das células apresentadoras de antígenos (APC=*antigen presenting cells*).

A associação de moléculas HLA com a ocorrência da psoríase vulgar está amplamente descrita na literatura. Estudos em populações de origens étnicas diversas mostram a frequência aumentada de diferentes especificidades HLA nos pacientes com psoríase, quando comparados aos grupos controles. Muitas vezes tal

frequência é ainda maior nos pacientes com psoríase de início precoce e com história familiar da doença.

Ao mesmo tempo, é possível que mecanismos da imunidade inata também estejam alterados e colaborem para a imunopatogenia da psoríase. As células natural killer (NK) são células efetoras da imunidade inata. Elas possuem na sua superfície receptores tipo-imunoglobulina (KIR). Os receptores KIR são específicos para as moléculas HLA classe I, sendo que alguns KIR têm ligantes MHC classe I bem definidos.

Alguns estudos genéticos recentes correlacionaram as combinações de genes KIR e HLA com o prognóstico de diversas doenças. Alguns dados sugerem que a doença pode ser modificada por interações específicas do KIR com seu ligante, mais do que a capacidade de resposta das células NK ou T. Associações com diferentes combinações HLA-KIR, envolvendo tanto KIR inibitórios quanto de ativação, têm sido descritas. Alguns trabalhos relatam a associação de determinados KIR e alelos HLA-C com o aumento da susceptibilidade à psoríase vulgar e à artrite psoriásica. Não existem trabalhos publicados com pacientes brasileiros.

A miscigenação de caucasóides, negros africanos e índios é a característica principal da população brasileira, que tem nos “mestiços” a sua maior representação. O estudo das especificidades HLA classes I e II, em pacientes brasileiros com psoríase, colabora para o melhor entendimento da associação destes com a doença, sobretudo quando comparados com os de outras populações de diferentes origens étnicas. A tipificação dos genes KIR destes pacientes complementa o estudo, por possibilitar a análise da interação HLA-KIR e a ocorrência da doença.

Nos últimos anos, as técnicas de biologia molecular, que permitem a identificação dos alelos HLA, têm substituído as técnicas sorológicas (microlinfocitotoxicidade dependente de complemento) na rotina laboratorial, devido a sua maior sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. A reação da polimerase em cadeia utilizando iniciadores seqüência-específicos (PCR-SSP) ou associada à hibridização com oligonucleotídeos (PCR-SSO) são métodos poderosos para definir o polimorfismo dos genes HLA, e provaram ser superiores a outras técnicas. Isto é particularmente verdade quando comparados aos métodos sorológicos, já que o mesmo antígeno HLA obtido por sorologia pode corresponder a diferentes alelos HLA determinados pelos métodos moleculares. Os métodos moleculares também são capazes de diminuir a freqüência de alelos não-identificados, “brancos” ou nulos, quando comparados aos métodos sorológicos.

Portanto, o estudo dos loci HLA classes I e II e dos genes KIR de pacientes brasileiros com psoríase vulgar, com ou sem artrite, por métodos moleculares, pode contribuir com novas informações em relação à imunopatogenia e susceptibilidade à doença neste grupo de pacientes.

A inserção deste projeto na linha de pesquisa “Imunopatologia Cutânea” do Curso de Pós-Graduação em Dermatologia da Faculdade de Medicina da UFRJ, bem como a parceria com o Laboratório de Histocompatibilidade do Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Biologia da UERJ, motivaram e viabilizaram este trabalho. Os estudos anteriores e atuais, desenvolvidos pelos orientadores, sobre psoríase e sobre imunopatologia das doenças cutâneas, assim como o estabelecimento e consolidação dos métodos moleculares de tipificação pelo laboratório, foram imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Os resultados parciais deste trabalho foram apresentados no Congresso da Academia Européia de Dermatologia e Venerologia (Rhodes, outubro de 2006), no Congresso Brasileiro de Dermatologia (Curitiba, setembro de 2006), no Congresso Brasileiro de Reumatologia (Campinas, setembro de 2006), no I Simpósio Brasileiro em HLA e Doenças (Rio de Janeiro, maio de 2006) e em duas Jornadas Científicas da UFRJ (Novembro de 2003 e de 2006).

A revisão da literatura foi aceita para publicação como artigo de revisão no Jornal da Academia Européia de Dermatologia e Venerologia (“PSORIASIS VULGARIS AND HLA IN DIFFERENT POPULATIONS” -. JEADV-2006-0267.R1), ainda em processo de edição.

2 Objetivos

Objetivo Geral

Determinar os grupos alélicos e os haplótipos dos antígenos leucocitários humanos (HLA) e os receptores tipo imunoglobulina de células natural killer (KIR) encontrados em um grupo de pacientes com psoríase caracterizado pela miscigenação étnica.

Objetivo Principal

Tipificar os grupos alélicos dos loci das classes I (A, B e C) e II (DR e DQ) do HLA (Human Leukocyte Antigen) e os genes KIR de pacientes brasileiros com psoríase em placas, com ou sem artrite, acompanhados nos ambulatórios do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho e compará-los com um grupo controle pareado quanto à origem étnica, sexo e idade.

Objetivo secundário:

Correlacionar as tipificações HLA encontradas com aspectos epidemiológicos e evolutivos da doença.

3 Revisão da literatura

3.1 A psoríase

3.1.1 Definição

A psoríase é uma doença inflamatória, crônica, cutâneo-articular, que pode apresentar diferentes fenótipos, tanto do ponto de vista das lesões da pele quanto das articulações. A forma cutânea chamada psoríase vulgar ou crônica em placas é a mais comum e caracteriza-se por lesões eritematoescamosas que acometem preferencialmente o couro cabeludo, superfícies extensoras (cotovelos, joelhos) e a região sacra. Existem ainda as formas gutata, invertida, pustulosa localizada e generalizada e a forma eritrodérmica. A psoríase pode ser uma doença incapacitante não só pelas lesões da pele como também pela doença articular concomitante e ter grande impacto na qualidade de vida dos pacientes. A artrite psoriásica é a única manifestação extracutânea reconhecida da doença (Christophers et al. 2003). O comprometimento articular pode ocorrer em 5 a 40% dos pacientes (Carneiro et al. 1994a, 1994b; Christophers 2001; Aslanian et al. 2005) e divide-se em 5 subtipos: oligo/poliartrite assimétrica, artrite das interfalangeanas distais, espondilite e sacroileite, artrite reumatóide-símile e artrite mutilante (Moll 1973).

3.1.2 Aspectos epidemiológicos

Considerada uma doença universal, a psoríase é mais freqüente em regiões de clima frio quando comparadas a regiões tropicais, e em certos grupos raciais, o que é explicado pela influência de fatores ambientais e genéticos (Raychaudhuri & Farber 2001). Nos Estados Unidos, a prevalência foi calculada em 2,2%, (Stern et al. 2004), na Espanha em 1,4% (Ferrandiz et al. 2001) e no Japão, China e Hong Kong

em 0,3% (Yip 1984). A incidência entre os caucasianos europeus variou de 2 a 3% (Christophers 2001). Não há estudos de prevalência e incidência no Brasil.

A psoríase ocorre com igual frequência nos homens e mulheres. Ela pode surgir em qualquer época da vida, principalmente entre os 20 e 30 anos e entre os 50 e 60 anos de idade (van de Kerkhof & Peter 2003). Farber e Nall (1974) analisaram 5600 pacientes norte-americanos com psoríase e observaram que em 10% deles as primeiras lesões surgiram antes dos 10 anos, em 35%, antes dos 20 anos e em 58% antes dos 30 anos de idade (Farber & Nall 1974). Lomholt (*apud* Farber & Nall, 1974) sugere que quanto mais cedo a psoríase surgir numa população, mais fortes serão os fatores ambientais que precipitam a doença. No seu estudo nas Ilhas Faroe, onde as condições climáticas são desfavoráveis para indivíduos com psoríase, o início da doença foi um dos mais precoces descritos na literatura: a idade média dos pacientes do sexo masculino foi de 13 anos e do sexo feminino, 12 anos. Farber e Nall (1974) mostraram que a história familiar também se correlaciona com a idade de início da doença, já que em 73% dos pacientes com história familiar positiva, a doença teve início antes dos 30 anos.

A artrite psoriásica ocorre em 5 a 40% dos pacientes com psoríase (Carneiro et al. 1994a, 1994b; Christophers 2001; Aslanian et al. 2005), e em torno de 80% dos pacientes, as lesões de pele surgem antes da artrite. A idade de início da artrite psoriásica é em torno dos 40 anos. Pacientes com formas graves podem manifestar a doença mais precocemente (Roberts et al. 1976). A distribuição entre os sexos é igual, entretanto nos subtipos em que há acometimento das interfalangeanas distais e da coluna vertebral (espondilite e sacroileite) os homens são mais numerosos. Por

outro lado, um quadro semelhante à artrite reumatóide é mais comum em pacientes do sexo feminino (Zachariae & Zachariae 1998).

3.1.3 Aspectos clínicos

Farber e Nall (1974) estudaram a história natural da psoríase por meio de um questionário enviado a 5600 pacientes norte-americanos. Trinta e seis por cento dos pacientes responderam que tinham um ou mais membros das suas famílias acometidos, incluindo parentes de primeiro, segundo e terceiro grau. Os sítios mais acometidos no início da doença foram o couro cabeludo, os cotovelos, o tronco e as extremidades inferiores, seguidos das extremidades superiores e dos joelhos, sendo a face o local menos afetado. A simetria na distribuição das lesões foi observada na maioria dos pacientes. Na época do estudo, as áreas afetadas eram maiores do que no início da doença, o que foi interpretado como progressão da doença. As unhas das mãos estavam afetadas em 50% dos pacientes e dos pés, em 35%. O “*pitting*” foi a alteração mais prevalente, seguido das alterações da cor das unhas. Em 61% dos pacientes a psoríase desapareceu completamente durante o seu curso, a duração da remissão variou de 1 a 54 anos (Farber & Nall 1974).

Segundo Farber e Nall (1974) em 80% dos pacientes, a psoríase pareceu melhorar com o sol ou com o tempo quente, enquanto em 89% a doença piorou com o tempo frio. A influência da gravidez e do stress emocional na evolução da doença, bem como o aparecimento das lesões nos locais de trauma (fenômeno de Koebner) não foram esclarecidos neste estudo. Entretanto sabe-se hoje que tanto o trauma físico, quanto as infecções pelo *Streptococcus pyogenes* e pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), o “stress emocional” e o uso de drogas tais como os corticóides orais (e às vezes tópicos), antimaláricos, lítio, beta-bloqueadores e

inibidores da enzima de conversão da angiotensina são fatores desencadeantes e/ou de exacerbação da doença (Christophers & Mrowietz 2003).

O trabalho de Henseler e Christophers publicado em 1985 que descreve dois tipos de psoríase, o tipo I ou de início precoce e o tipo II ou de início tardio, ressalta que o primeiro parece ter lesões mais extensas e mais episódios de recorrência do que o segundo (Henseler & Christophers 1985). Em 2001, Christophers reafirmou que pacientes com recaídas freqüentes têm tendência a desenvolver formas mais graves da doença, com lesões que aumentam rapidamente cobrindo regiões significativas da superfície corporal (Christophers 2001).

Do ponto de vista clínico, a psoríase pode ser considerada um espectro de diferentes manifestações cutâneas, e em um determinado momento variantes podem coexistir em um indivíduo em particular, mas todas as lesões de pele têm as mesmas características clínicas: eritema, aumento da espessura e descamação (van de Kerkhof & Peter 2003). As escamas são prateadas e não aderidas. Lesões eritematopapulodescamativas bem demarcadas caracterizam o subtipo mais comum de psoríase, a psoríase vulgar ou crônica em placas. O acometimento de mais de 90% da superfície corporal configura a psoríase eritrodérmica e numerosas pápulas e pequenas placas disseminadas caracterizam a psoríase gutata. Ocasionalmente há pústulas macroscópicas, como na psoríase pustulosa generalizada e na psoríase pustulosa localizada. A apresentação clínica da psoríase pode ser melhor compreendida quando se considera que a atividade da doença pode variar de um estado crônico estacionário para um processo em resolução ou para surtos da doença que podem estar associados com numerosas pústulas estéreis (Christophers & Mrowietz 2003).

O sinal de Auspitz é um achado específico da lesão eritematoescamosa da psoríase. É observado quando as escamas são retiradas mecanicamente das lesões com uma raspagem. Alguns segundos após a retirada das escamas, pequenas gotas de sangue são vistas na superfície eritematosa e brilhante da lesão. O sinal de Auspitz tem valor diagnóstico, porém ele não está presente na psoríase pustulosa nem na invertida.

As alterações ungueais são freqüentes na psoríase e podem variar de depressões puntiformes (*"pitting"*) a onicodistrofias extensas e até perda da lâmina ungueal quando as formas pustulosas da psoríase envolvem a matriz ou o leito ungueal. Manchas de cor amarelada que geralmente estendem-se distalmente até o hiponíquio são chamadas de manchas de óleo.

Comprometimento articular

Moll e Wright (1973) classificaram a artrite psoriásica em cinco subgrupos. A artrite oligoarticular assimétrica é o mais freqüente (70%). Em geral, as articulações dos dedos das mãos e dos pés são primeiramente envolvidas, com sinovite da bainha dos tendões dos flexores e artrite dos dedos, levando ao quadro de "dedos em salsicha". A progressão é lenta. O envolvimento simétrico pode ser difícil de distinguir da artrite reumatóide e ocorre em 15% dos casos de artrite psoriásica. Acomete articulações maiores como os joelhos e tornozelos, os punhos e as metacarpofalangeanas. A artrite das interfalangeanas distais, a artrite mutilante e a forma axial (espondilite e sacroileíte) correspondem a 5% dos casos cada uma. O curso clínico é variável, desde sintomas leves que não requerem nenhuma terapia até uma artrite grave incapacitante. Vários padrões de envolvimento axial podem ser

identificados. Alguns casos parecem ser indistinguíveis da espondilite anquilosante, com envolvimento simétrico da coluna, incluindo as articulações sacro-ilíacas. Esses pacientes são em geral HLA B27 positivos e queixam-se de dor e rigidez na coluna. Em outro grupo, o envolvimento axial é assimétrico e nem sempre acompanhado de sacroileite, que quando presente pode acometer apenas uma articulação. Alguns pacientes têm envolvimento apenas da coluna cervical (Blau & Kaufman 1987). Um número considerável de pacientes evolui com artrite erosiva e alterações funcionais, necessitando de tratamento sistêmico. O início é em geral insidioso, mas pode ser abrupto, às precedido por trauma articular (Winchester 2003). Tenosinovites e entesites também fazem parte do quadro de artrite psoriásica.

Em 74% dos casos, as lesões de pele precedem a artrite. O início simultâneo ocorre em apenas 10% dos casos. No restante dos casos (16%), a artrite surge antes das lesões de pele, causando dificuldades no diagnóstico (Roberts et al. 1976). A artrite psoriásica pode ser vista em todos os tipos de lesões de pele, entretanto há maior frequência e gravidade da artrite nos pacientes com lesões cutâneas disseminadas.

Um trabalho publicado em 2005 mostrou o perfil de 106 pacientes acompanhados no ambulatório de dermatologia do HUCFF: a idade média na época do diagnóstico foi de 48 anos, 24% dos pacientes tiveram o diagnóstico de artrite psoriásica, sendo os joelhos (57%) e as pequenas articulações das mãos (56%) e pés (50%) os locais mais acometidos. Em todos os pacientes com artrite, observaram-se alterações ungueais. A psoríase pustulosa foi observada em 41% dos pacientes com artrite e em 9% dos pacientes sem acometimento articular ($p=0,0007$) (Aslanian et al. 2005).

3.2 Aspectos imunogenéticos da psoríase

3.2.1 Imunopatogenia

Até os anos 90 a psoríase foi considerada uma doença causada pelo aumento da proliferação e pela diferenciação anormal dos queratinócitos, pois os achados clínicos e histopatológicos mais evidentes nas lesões de pele são expressões da hiperplasia epidérmica. Entretanto, estudos mais recentes indicam que as alterações epidérmicas presentes na psoríase decorrem de alterações imunológicas cutâneas. Atualmente acredita-se que a psoríase é uma doença inflamatória mediada por células T (Bowcock & Krueger 2005). Postula-se, ainda, que mecanismos da resposta imunológica inata também participem da fisiopatologia dessa doença (Gaspari 2006).

Estudos clínicos mostram a melhora da doença com substâncias inibidoras da ação das células T, como a ciclosporina (Ellis et al. 1986; Baker et al. 1987; Tigalnowa et al. 1989; Lago et al. 2006), o FK506 (Jegasothy et al. 1992), os anticorpos monoclonais anti-CD3 (Weinshenker et al. 1989) ou anti-CD4 (Prinz et al. 1991) e a proteína de fusão interleucina 2-toxina diftérica (Gottlieb et al. 1995). Tais estudos demonstraram que as células T presentes nas lesões de psoríase são fundamentais para a manutenção da atividade da doença. A psoríase é considerada uma doença do tipo 1 (Th1 e Tc1), com predominância de células T CD8+ na epiderme e células T CD4+ na derme, com produção principalmente de citocinas do tipo 1, como o interferon-gama (IFN- γ), a interleucina 2 (IL-2) e o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) (Austin et al. 1999).

Estudos em modelos animais também têm demonstrado a importância das células T no desenvolvimento da lesão de psoríase e possibilitado uma melhor

caracterização dessas células. Enxertos de pele normal de pacientes com psoríase em camundongos com imunodeficiência combinada grave (severe combined immunodeficiency = SCID), que não possuem células T ou B, evoluíram com lesões compatíveis com psoríase após a injeção direta de imunócitos do doador (Wrone-Smith & Nickoloff 1996). O mesmo grupo de pesquisadores, utilizando o mesmo modelo animal, demonstrou em pelo menos dois experimentos subsequentes, a presença de células T expressando receptores de células natural killer (células NKT) como o CD94, CD158 e CD161 nos enxertos de pele não afetada de pacientes com psoríase (Nickoloff et al. 1999; Nickoloff et al. 2000). Em camundongos AGR129, que além de não possuírem células T ou B, são deficientes em receptores para o interferon, a proliferação de células T e de células dendríticas residentes do próprio enxerto levou ao aparecimento das lesões (Boyman et al. 2004). No mesmo estudo, o aparecimento das lesões pôde ser evitado nestes camundongos pela administração de anticorpos específicos anti-CD3 (muromonab) e por antagonistas do fator de necrose tumoral-alfa (infliximab e etanercept), mostrando que as células T e o TNF-alfa têm importante papel na patogenia da doença.

O TNF-alfa é uma citocina predominantemente pró-inflamatória e é um dos principais mediadores do desenvolvimento da resposta imunológica inata (Bos et al. 2005). Do ponto de vista clínico, estudos mostram resposta significativa à terapia com inibidores do TNF-alfa (Chaudhari et al. 2001; Gottlieb et al. 2003; Gottlieb et al. 2004), uma diminuição do número de células natural killer no sangue periférico de pacientes com psoríase (Cameron et al. 2003) e um aumento de células NKT nas lesões de pele de psoríase (Cameron et al. 2002). Assim, sugerem que a psoríase

pode não estar apenas relacionada à resposta inflamatória adquirida mediada por células T, mas também a alterações na imunidade inata.

A imunidade inata é a primeira linha de defesa contra as infecções. Ela é rapidamente ativada por microrganismos antes do desenvolvimento da resposta imunológica adquirida. Consiste em barreiras epiteliais, células circulantes (células natural killer, neutrófilos e fagócitos mononucleares) e proteínas que reconhecem microrganismos ou substâncias produzidas em infecções.

As barreiras epiteliais são a pele e as superfícies mucosas dos tratos respiratório e gastrointestinal. Linfócitos T intra-epiteliais estão presentes na epiderme e nos epitélios das mucosas. Essas células são linfócitos T com receptores antigênicos como outras células T, sendo que alguns linfócitos T intra-epiteliais reconhecem antígenos glicolipídicos de microrganismos, os quais são exibidos ligados a moléculas CD1 expressas em certos epitélios. Algumas células T restritas ao CD1 pertencem à subpopulação celular NK-T. Assim, a natureza incomum dos receptores e dos antígenos que eles reconhecem coloca os linfócitos T intraepiteliais em uma categoria especial de células T que está mais afeita às células efetoras da imunidade inata do que às células da imunidade adaptativa (Abbas & Lichtman 2005). Na psoríase, a ligação dos receptores das células NK-T com a molécula CD1d, que é altamente expressa pelos queratinócitos, leva à produção de IFN-gama pelas células NK-T (Bonish et al. 2000; Gilhar et al. 2002); o IFN-gama é uma citocina que estimula a proliferação dos queratinócitos na psoríase (Bos et al. 2005).

As células NK-T representam uma linhagem diversa de células T CD3+ que apresentam receptores de células NK (incluindo as moléculas das famílias do tipo lectina e tipo imunoglobulina), têm um repertório restrito de receptores de células T e

são ativadas pelo reconhecimento de um antígeno glicolipídico apresentado por moléculas CD1d. Elas podem ser CD4+ ou CD4- e CD8- (duplamente negativas) e são reconhecidas como parte do sistema imunológico inato (Cerwenka & Lanier 2001).

As células NK são uma subpopulação de linfócitos que destroem as células infectadas e as células que perderam a expressão de moléculas MHC da classe I, e secretam citocinas, principalmente IFN-gama. Estas células podem ser identificadas pelos marcadores de superfície CD2, CD16, CD56, CD57, CD94, CD158 e CD161 (Lanier 1998). Elas desempenham vários papéis importantes na defesa contra os microrganismos intracelulares. Reconhecem células infectadas por vírus e pela ação de perforinas e granzimas, induzem a apoptose das células alvo. Além disso, o IFN-gama secretado pelas células NK estimula os macrófagos a destruírem os microrganismos fagocitados. A citocina derivada de macrófagos IL-12, por sua vez, é um potente indutor da produção de IFN-gama pelas células NK e da atividade citolítica. A ativação da célula NK é regulada por um balanço entre os sinais que são gerados a partir de receptores de ativação e de inibição. Os IFN tipo I, IFN-alfa e IFN-beta, também ativam o potencial citolítico das células NK, talvez por aumentarem a expressão de receptores de IL-12 e, deste modo, o potencial de resposta a essa citocina.

Os queratinócitos fazem parte do componente celular da imunidade inata da pele, já que são constituintes da barreira epitelial. O aumento do número de queratinócitos (basais e suprabasais) em expansão (Bata-Csorgo et al. 1993; McKay & Leigh 1995) a resistência à apoptose (Wrone-Smith et al. 1997) e um padrão de resposta exagerado do componente epidérmico ao sistema imunológico inato

(Nickoloff et al. 2000a) já foram descritos como mecanismos do aumento do “turnover” epidérmico na psoríase. Os queratinócitos funcionam como células pró-inflamatórias e produzem citocinas como TNF-alfa, IL-1, IL-6 e IL-8.

Os fagócitos, incluindo os neutrófilos e os macrófagos, são células cuja função primária é identificar, ingerir e destruir microrganismos. Eles expressam receptores de superfície (receptores de manose, receptores “scavenger”, receptores para opsoninas) que reconhecem microrganismos no sangue e nos tecidos e estimulam a fagocitose e a morte dos microrganismos. Outros receptores de fagócitos, tais como os receptores semelhantes ao Toll e os receptores acoplados à proteína G, apesar de ativá-los, não participam diretamente na ingestão de microrganismos (Abbas & Lichtman 2005).

Além das barreiras epiteliais e das células circulantes, fazem parte da imunidade inata o sistema do complemento, proteínas circulantes (lectina de ligação à manose, proteína C-reativa) e citocinas (IFN-alfa, beta e gama, TNF, IL-1, IL-12, IL-15, IL-10, IL-6).

A imunidade inata está associada com a produção de citocinas pró-inflamatórias. O TNF-alfa está aumentado nas lesões de pacientes com psoríase e na sinóvia dos pacientes com artrite psoriásica (Ritchlin et al. 1998; Bonifati et al. 1994). A fonte exata do TNF-alfa na psoríase ainda está indeterminada. Ele pode ser produzido por uma combinação de diferentes células presentes na lesão, incluindo queratinócitos, células dendríticas, células T, neutrófilos, monócitos, macrófagos e células NK-T (Schottelius et al. 2004).

A resposta imunológica inata serve como o sinal de alerta inicial para o sistema adaptativo montar uma resposta protetora para o hospedeiro. Moléculas

produzidas durante as reações da imunidade inata funcionam como segundo sinal para a ativação linfocitária, como os co-estimuladores, as citocinas e os produtos de degradação do complemento. Os co-estimuladores são proteínas de membrana expressas em células apresentadoras de antígenos, sendo o B7-1 (CD80) e o B7-2 (CD86) co-estimuladores para as células T.

Cinco passos são necessários para produzir uma resposta imunológica cutânea mediada pelas células T. O primeiro passo consiste na captura do antígeno por células de Langerhans imaturas na epiderme, o que leva à maturação e migração destas células para linfonodos regionais que drenam aquela área da pele. No linfonodo ocorrem interações moleculares entre as células de Langerhans maduras e células T “naive”, com ativação dos linfócitos T. Os linfócitos ativados adquirem um receptor específico para a pele (“cutaneous lymphocyte-associated antigen” = CLA) e diferenciam-se em linfócitos efetores do tipo 1 ou do tipo 2, com expansão dos clones de células T necessários para tal resposta. Células T de memória CLA+ entram na circulação e saem dos vasos sanguíneos cutâneos para as áreas de inflamação da pele. Por fim, os linfócitos T na derme ou na epiderme tornam-se ativos e liberam citocinas ao encontrar o antígeno.

Nas respostas imunológicas normais, os antígenos são eliminados pela ativação das células T na pele e então a resposta cessa. Na psoríase, a infiltração de células T e a resposta efetora persistem cronicamente. O acúmulo de linfócitos T e células dendríticas maduras em torno dos vasos da derme pode funcionar como um tecido linfóide secundário na pele e, portanto, perpetuar a resposta imunológica celular no local (Lew et al. 2004).

O tráfego de células T entre a circulação periférica e os linfonodos é mantido por um conjunto de moléculas de adesão. Células T naive expressam altos níveis de L-selectina, permitindo sua adesão e depois rolamento na superfície das vênulas endoteliais altas dentro dos linfonodos. Através do LFA-1 (*“leukocyte function-associated antigen”*) as células T tornam-se capazes de deixar essas vênulas e entrar nos linfonodos. As células T naive são mantidas neste padrão circulatório por não terem as combinações específicas de moléculas de adesão e receptores de citocinas necessários para entrar nos tecidos extranodais.

No coração da ativação das células T *“naive”* está o reconhecimento dos antígenos ligados às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) das classes I ou II na superfície de células dendríticas apresentadoras de antígenos (APCs), que migraram da pele via linfáticos aferentes para os linfonodos de drenagem daquela região. A pele contém grande quantidade de células dendríticas apresentadoras de antígenos na epiderme (onde são chamadas de células de Langerhans) e na derme (onde são chamadas de células dendríticas da derme). As células de Langerhans imaturas são aptas a capturar e processar os antígenos, porém são incapazes de ativar linfócitos T. Tem sido proposto que as macromoléculas, na pele são internalizadas pelas células de Langerhans, processadas enzimaticamente e apresentadas na sua superfície às células T naive. Após a captura do antígeno, ocorre um processo de maturação que se caracteriza pela habilidade em estimular a ativação dos linfócitos. A maturação está associada ao aumento da síntese de contra-receptores de superfície celular, incluindo o CD80 (B7-1), o CD86 (B7-2), o CD40 e a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM = intercelular adhesion molecule). A expressão de CD1a e langerina (ambos

marcadores de linhagem de células de Langerhans imaturas) diminui durante a maturação. As APCs ativadas migram via linfáticos aferentes para os linfonodos, onde células T naive estão concentradas.

A ativação das células T é um processo de muitos passos que requer a estimulação dos receptores de células T e de vários sinais acessórios gerados por receptores de superfície celular. A seqüência de ativação pode ser dividida em estimulação primária, coestimulação e estimulação mitótica. A interação inicial que deflagra a ativação das células T é o reconhecimento do peptídeo antigênico que está ligado ao MHC classe I (típico para antígenos intracelulares) ou ao MHC classe II (típico para peptídeos extracelulares) nas células apresentadoras de antígenos. Os peptídeos antigênicos apresentados junto com as moléculas MHC classe I são reconhecidos por um complexo do receptor de células T (*T cell receptor* = TCR) que contém cadeias α/β da proteína do receptor de células T, 5 subunidades de CD3 e cadeias α/β da molécula de CD8, enquanto os antígenos apresentados juntamente com as moléculas de MHC classe II são reconhecidos por um complexo TCR/CD3/CD4 (Trowsdale & Campbell 1992). Durante a apresentação dos peptídeos na superfície das células apresentadoras, os contra-receptores de superfície LFA-1 e o ICAM-1 mantêm a adesão entre a célula T e a APC. O reconhecimento do peptídeo por uma variante particular do TCR desencadeia um conjunto de sinais bioquímicos que levam ao aumento da síntese de RNA mensageiro (RNAm) para a ativação de genes associados como a IL-2 e a subunidade α do receptor de IL-2 (CD25).

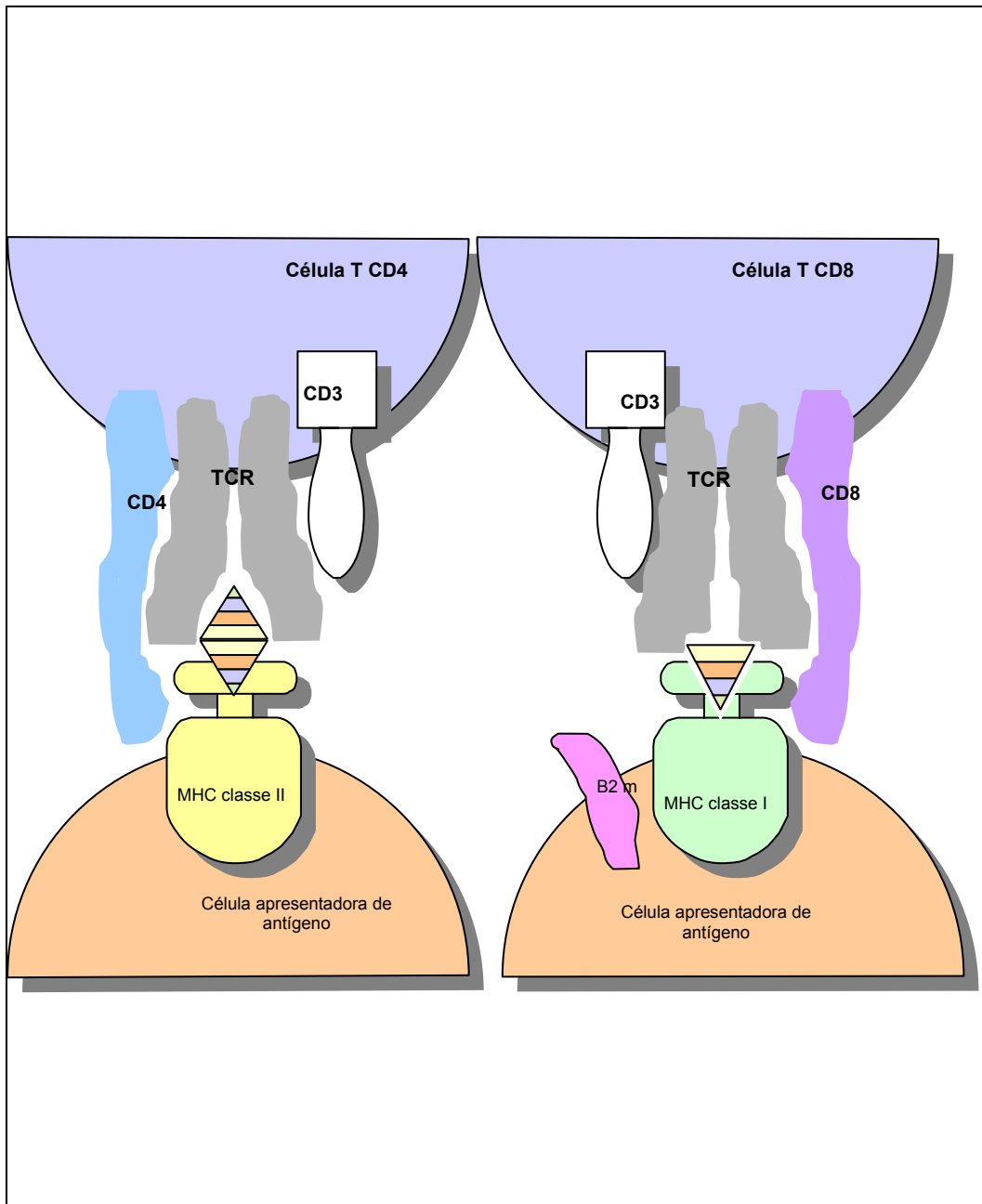


Figura 3-1: Representação esquemática da apresentação de antígenos às células T CD4+ e CD8+. Adaptado de Schwarz 2003.

Os sinais acessórios ou coestimulatórios também são importantes para a ativação das células T. Um dos sinais mais importantes ocorre através da glicoproteína CD28, localizada na superfície das células T, que se liga a duas moléculas B7 distintas, CD80 e CD86, na superfície das células apresentadoras de

antígenos. As moléculas B7 também interagem com o CTLA4 nas células T, e outros sinais acessórios incluem a interação entre ICAM-1/LFA-1, LFA-3/CD2 e CD40/CD40L.

O terceiro grupo de sinais que chegam às células T são das citocinas IL-2 (produzida pelas células T ativadas) e IL-12 (produzida pelas células de Langerhans). A ligação dessas citocinas aos receptores expressos na superfície das células T ativadas regula a atividade mitótica e determina a diferenciação das células T em células efetoras tipo 1.

As células T ativadas proliferam e diferenciam-se em várias células efetoras: células Th1 ou Tc1, células CD4+ ou CD8+ que produzem citocinas do tipo 1 como o IFN- γ , IL-2 e TNF- α , e células Th2 ou Tc2, células CD4+ ou CD8+ que produzem citocinas do tipo 2 como IL-4, IL-6, e IL-10 (Austin et al. 1999). Essas células têm papel regulatório, já que altas concentrações de citocinas tipo 2 suprimem as ações efetoras do tipo 1, enquanto aumentam a produção de imunoglobulinas pelas células B.

As células apresentadoras de antígenos podem ter um papel determinante na via de diferenciação das células T. Entretanto, a concentração local de citocinas provavelmente é o principal fator no equilíbrio das respostas do tipo 1 e 2. Por exemplo, altas concentrações de IL-12 favorecem a diferenciação do tipo 1, enquanto a IL-4 estimula a diferenciação do tipo 2. Portanto, a presença de IL-12 e de seu receptor nas células T presentes nas lesões de pele da psoríase (Yawalkar et al. 1998) poderia direcionar a diferenciação das células T para o tipo 1, tanto nas lesões de pele quanto na circulação periférica desses pacientes. A presença de células de Langerhans maduras, que produzem grande quantidade de IL-12, provém

um ambiente apropriado para a estimulação direta dos subgrupos de células Th1 e Tc1 na pele com lesões de psoríase.

Estudos mostram que células T intraepidérmicas estimulam a proliferação de queratinócitos e que aceleram o crescimento epidérmico que ocorre por uma via de regeneração. Algumas citocinas inflamatórias, como por exemplo a IL-1 e a IL-6, têm sido consideradas mitógenas diretas de queratinócitos, portanto a elaboração de citocinas pelos linfócitos T intraepidérmicos poderia estimular diretamente a proliferação de queratinócitos. Outro mecanismo sugerido para o estímulo da hiperplasia dos queratinócitos é o dano causado aos desmossomos pelos linfócitos que migram para a epiderme de maneira traumática. Esses defeitos transitórios na membrana dos queratinócitos e na membrana basal disparariam uma resposta regenerativa com produção de numerosas citocinas mitogênicas e de receptores nos queratinócitos como parte da resposta à cicatrização. A produção dessas citocinas e a migração contínua dos linfócitos para a epiderme seriam sinais para a hiperplasia epidérmica crônica nas lesões de psoríase (Krueger 2002).

Lesões crônicas de psoríase apresentam acúmulo de neutrófilos na epiderme, vasos sanguíneos ectasiados e alongados na derme papilar. A produção e liberação de IL-8 por queratinócitos maduros induzidos por linfócitos intraepidérmicos é o sinal quimiotático principal para o recrutamento de neutrófilos para a epiderme a partir da circulação periférica. Como os neutrófilos têm uma sobrevida curta, a migração continuada destas células para a epiderme funciona como mais uma fonte de injúria para a membrana basal e para as junções entre os queratinócitos. Parece que a liberação do fator de crescimento vascular endotelial estimulada pelos linfócitos T

regula o crescimento e remodelamento vascular que são vistos na psoríase vulgar (Krueger 2002).

3.2.2 Genes de susceptibilidade

A frequência aumentada entre gêmeos monozigóticos e a ocorrência de casos familiares sugere a existência de um componente genético na psoríase (Capon et al. 2004). Entretanto a psoríase parece acontecer nas famílias em um terço dos casos. Mesmo nestas famílias, não segue padrões simples de hereditariedade dominante ou recessiva (Traupe et al. 1995). O modelo para explicar esta observação assume que para o desenvolvimento da doença, são necessários alelos codificados por diferentes genes em diferentes loci espalhados no genoma, ou seja, herança poligênica.

Diversas evidências indicam que a psoríase é uma doença multifatorial causada por múltiplos genes e desencadeada por fatores ambientais (Elder et al. 2001). Até 2004, segundo Bowcock (2004), 10 estudos de ligação do genoma para pesquisar os loci de susceptibilidade à psoríase haviam sido conduzidos. Isto levou à identificação de 19 potenciais loci de susceptibilidade em 15 diferentes cromossomos. A associação mais forte foi descrita com o locus Psors 1 no cromossomo 6p21.3. O segmento do Psors 1 está contido em um bloco de DNA de 200kb na região do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I. (Burden 2000; Elder et al. 2001; Capon et al. 2002; Capon et al. 2004).

Esse intervalo contém vários genes, sendo a maior parte investigada como possíveis genes de susceptibilidade à psoríase. O HLA-C localiza-se neste intervalo, próximo ao centrômero, e há muito tempo tem sido considerado um provável gene

de susceptibilidade à psoríase; associações com o HLA-Cw6 foram repetidamente relatadas (Mallon et al. 1999). Apesar da significância e consistência dos trabalhos que mostram a associação, não se sabe se o HLA-Cw6 participa dos processos celulares que levam ao aparecimento da psoríase (Capon et al. 2004). Os autores acham ainda que na ausência de dados funcionais, há a possibilidade de que essa associação apenas reflita a proximidade do HLA-C a um gene de susceptibilidade ainda não identificado.

Além do HLA-C, a região do Psors 1 contém sete outros genes conhecidos. Destes, os genes da corneodesmosina (CDSN) e o “*α-helix coiled coil rod homolog*” (HCR) - que codifica uma proteína altamente polimórfica que está aumentada na psoríase - mostraram-se associados com a psoríase em estudos independentes (Tazi-Ahnini et al. 1999; Asumalahti et al. 2000; Capon et al. 2003; Chang et al. 2004; Ameen et al. 2005), apesar dessas associações poderem ser resultantes de um desequilíbrio de ligação com o Cw-6 (Jenish et al. 1999). O gene da corneodesmosina localiza-se na região final do Psors1 e codifica a corneodesmosina, uma proteína estrutural que participa do processo de adesão e descamação dos queratinócitos. O aumento dessa proteína e a sua degradação anormal na epiderme psoriásica têm gerado um interesse considerável nesse gene. Alguns trabalhos, entretanto, não conseguiram demonstrar essa associação (Enerback et al. 2000; Chang et al. 2003).

As controvérsias envolvendo análises de genes candidatos destacam as dificuldades dos estudos de associação onde vários fatores podem confundir os resultados, tais como o desequilíbrio de ligação entre os alelos em questão. Segundo Capon et al. (2004), análises haplotípicas envolvendo o HLA-C, o HCR e o

gene da CDSN originaram a hipótese de que ambos os genes HLA-C e CDSN poderiam contribuir para a susceptibilidade à psoríase. Especularam ainda que outros genes do MHC localizados fora do intervalo Psors 1 também poderiam contribuir ou modificar a susceptibilidade genética de um indivíduo. Outros trabalhos mostraram que genes localizados próximos ao HLA-C, como o TAP e o MICA (*“major histocompatibility complex (MHC) class I chain-related genes”* = gene relacionado ao MHC classe I) também poderiam estar associados à psoríase (Choi et al. 2000; Chue-Woo et al. 2003).

Diferentemente do Psors1, outros loci não relacionados ao MHC foram observados em poucos estudos, com exceção do Psors 2 (17q25) e do PSORS4 (1q), que foram demonstrados também em alguns estudos independentes. (Capon et al. 2002). A tabela 3-1 lista os loci de susceptibilidade à psoríase não-relacionados ao MHC já publicados.

A inconsistência desses achados mostra que doenças com traços complexos de heterogeneidade genética entre as populações afetam a reproductibilidade dos estudos de localização dos genes. Finalmente, alguns loci podem ser únicos de uma determinada população na qual eles foram identificados. Isso pode ser particularmente verdade para amostras originárias de populações geneticamente isoladas, como a coorte do sudoeste da Suécia na qual o intervalo de susceptibilidade Psors 5 foi identificado (Enlund et al. 1999).

Tabela 3-1: Loci de susceptibilidade não relacionados ao MHC descritos na literatura

Cromossomo (nome do locus)	<i>Origem da amostra</i>
1p (Psors 7)	Reino Unido (Veal et al. . 2001)
1q (Psors 4)	Itália (Capon et al. .1999) Estados Unidos (Bhalerao & Bowcock. 1998)
2p	Estados Unidos (Bhalerao & Bowcock. 1998) Reino Unido (Veal et al. . 2001)
2q	Reino Unido (Trembath et al. .1997)
3q (Psors 5)	Suécia (Enlund et al. . 1999)
4q13	Estados Unidos (Bhalerao & Bowcock. 1998) Suécia (Samuelsson et al. . 1999)
4q31	China (Zhang et al. . 2002)
4q34 (Psors 3)	Irlanda (Matthews et al. . 1996)
6q	Estados Unidos, Alemanha (Nair et al. .1997)
7	Reino Unido (Trembath et al. .1997)
8q	Reino Unido (Trembath et al. .1997)
10q	Estados Unidos, Alemanha (Nair et al. 1997)
14q	Reino Unido, Estados Unidos (Veal et al. . 2001) (Bhalerao & Bowcock. 1998)
15	Suécia (Samuelsson et al. . 1999)
16q	Estados Unidos, Alemanha, Islândia (Karason et al. . 2003) (Nair et al. . 1997)
17q25 (Psors 2)	Estados Unidos, Alemanha, Suécia, China (Enlund et al. .1999; Tomfohrde et al. . 1994; Nair et al. . 1997; Zheng et al. . 2003 ; Bhalerao & Bowcock. 1998)
19p13 (Psors 6)	Alemanha, Reino Unido (Lee et al. . 2000)
20p	Alemanha, Reino Unido, Estados Unidos (Trembath et al. .1997) (Lee et al. . 2000)
Adaptado de Capon et al. 2004.	

3.2.3 O sistema HLA

Alguns genes são representados somente por uma seqüência de ácidos nucléicos em todos os membros de uma espécie (exceto por mutações relativamente raras), presente nos dois cromossomos de um par. Estes genes são chamados de genes não-polimórficos. No caso dos genes polimórficos, formas alternativas, ou variantes, estão presentes em frequências estáveis nos diversos membros da população. Cada variante comum de um gene polimórfico é chamada de alelo. Para os genes polimórficos, um indivíduo pode ter o mesmo alelo naquele locus genético nos dois cromossomos do par sendo então chamado de homocigoto, ou pode ter dois alelos diferentes, um em cada cromossomo, quando é chamado de heterocigoto (Abbas & Lichtman 2005).

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) é um locus extenso com genes altamente polimórficos que codificam proteínas especializadas em apresentar antígenos associados a células para serem reconhecidos pelas células T. Os receptores de antígenos das células T são específicos para os complexos de peptídeos antigênicos e moléculas MHC do hospedeiro. As moléculas do MHC humano são chamadas de antígeno leucocitário humano (HLA). Dois tipos de genes MHC polimórficos codificam dois grupos de proteínas estruturalmente distintas, porém homólogas. As moléculas MHC da classe I apresentam peptídeos e são reconhecidos pelas células T $CD8^+$, enquanto as moléculas MHC da classe II apresentam peptídeos para as células T $CD4^+$ (Abbas & Lichtman 2005).

Os genes do MHC são os genes mais polimórficos do genoma. Foram identificados mais de 250 alelos para alguns loci do MHC. O sequenciamento molecular demonstrou que um único antígeno identificado sorologicamente pode, na

realidade, consistir em múltiplas variantes que apresentam diferenças mínimas. Os genes do MHC são expressos de forma co-dominante em cada indivíduo, ou seja, cada pessoa expressa ambos os alelos que são herdados dos pais. Para o indivíduo, isso maximiza o número de moléculas MHC disponíveis para ligar peptídeos para serem apresentados às células T (Campbell & Townsdale 1993). O conjunto de alelos do MHC presentes em cada cromossomo é chamado de haplótipo MHC. Todos os indivíduos heterozigotos possuem dois haplótipos HLA. Nos seres humanos, certos alelos HLA em diferentes loci são herdados em conjunto com uma frequência maior que a esperada pela distribuição aleatória, um fenômeno chamado de desequilíbrio de ligação.

Cada molécula do MHC possui uma fenda, ou sulco extracelular que liga os peptídeos, e um par de domínios semelhantes a imunoglobulinas, e está ancorada na membrana celular por meio de um domínio transmembrana. Os aminoácidos polimórficos das moléculas do MHC estão localizados na fenda de ligação de peptídeos e próximos a elas. Devido à variabilidade de aminoácidos nessa região, as diferentes moléculas do MHC se ligam e apresentam diversos peptídeos que são reconhecidos especificamente pelos receptores de antígenos das várias células T. Os domínios não polimórficos semelhantes a imunoglobulinas das moléculas do MHC contêm sítios de ligação para as moléculas CD4 e CD8 das células T, que são os co-receptores das células T e participam junto com os TCR do reconhecimento dos antígenos (Engelhard 1994).

Todo indivíduo normal (heterozigoto) expressa 6 diferentes tipos de moléculas da classe I em cada célula, que contêm cadeias alfa derivadas de dois alelos dos genes HLA-A, HLA-B e HLA-C, que são herdados dos pais.

As moléculas MHC da classe I consistem em duas cadeias polipeptídicas ligadas de forma não-covalente: uma cadeia alfa codificada pelo MHC e uma subunidade chamada de beta-2 microglobulina que não é codificada pelo MHC. Cada cadeia alfa está orientada de tal forma que três quartos de todo o peptídeo se estendem para o meio extracelular, um pequeno segmento hidrofóbico atravessa a membrana celular e os resíduos da região carboxiterminal estão localizados no interior do citoplasma. Os segmentos aminoterminais alfa-1 e alfa-2 da cadeia alfa, cada qual contendo cerca de 90 aminoácidos, interagem para formar uma plataforma de 8 lâminas beta pregueadas, na qual se apóiam duas alfa-hélices paralelas. Isso forma a fenda de ligação de peptídeos das moléculas da classe I, que têm as extremidades fechadas, restringindo a ligação de peptídeos maiores que 8 a 11 aminoácidos. Os resíduos polimórficos das moléculas da classe I estão confinados aos domínios alfa-1 e alfa-2, onde contribuem para as variações na ligação de peptídeos e o reconhecimento pelas células T dos diversos alelos da classe I. Os segmentos alfa-3 e beta-2 microglobulina são estruturalmente homólogos a um domínio de imunoglobulina e suas seqüências de aminoácidos são constantes em todas as moléculas da classe I. O segmento alfa 3 da cadeia contém uma alça que serve de sítio de ligação para o CD8. A interação da cadeia alfa com a beta-2 microglobulina é estabilizada pela ligação de antígenos peptídicos à fenda formada por alfa-1 e alfa-2. Por outro lado, a ligação do peptídeo é fortalecida pela interação da beta-2 microglobulina com a cadeia alfa (Parham & Otha 1996).

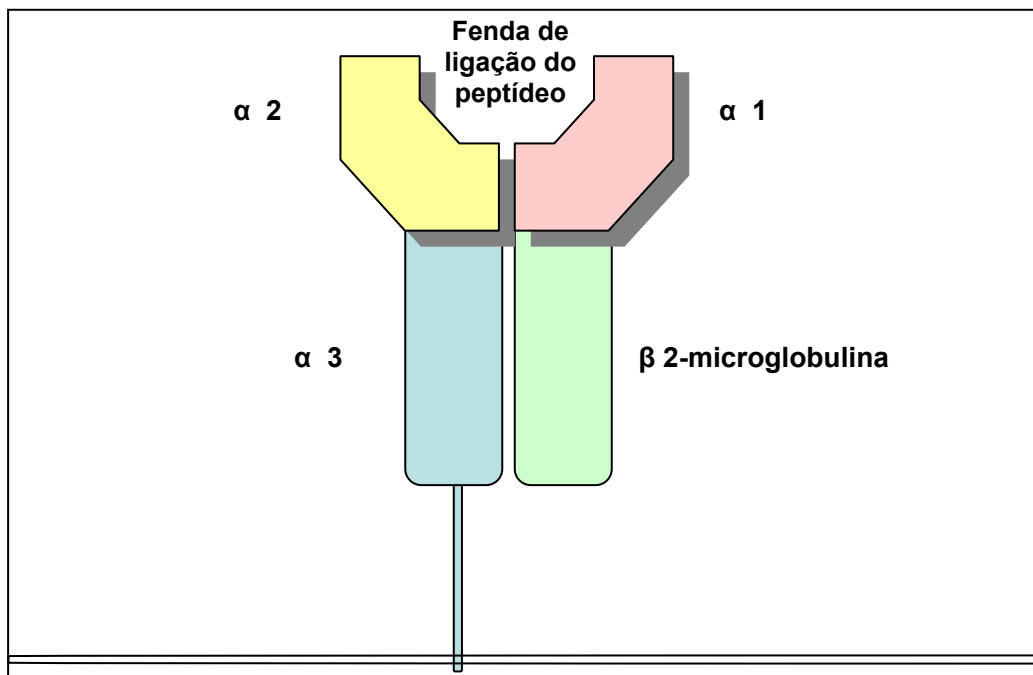


Figura 3-2:Representação esquemática da molécula HLA classe I.

Adaptado de Janeway et al 2005.

As moléculas MHC da classe II são compostas de duas cadeias polipeptídicas ligadas de forma não-covalente, uma cadeia alfa e uma cadeia beta, ambas codificadas por genes polimórficos. Os segmentos aminoterminais alfa-1 e beta-1 das cadeias da classe II interagem para formar a fenda de ligação de antígenos, que é estruturalmente semelhante à fenda das moléculas da classe I. Os resíduos polimórficos estão na fenda e próximos a ela, sendo que nas moléculas da classe II dos seres humanos, a maior parte do polimorfismo está na cadeia beta. As extremidades da fenda estão abertas, permitindo a ligação dos peptídeos com 10 a 12 aminoácidos, podendo chegar a 30 aminoácidos ou mais.

Os segmentos alfa-2 e beta-2 das moléculas da classe II se apresentam dobrados para formar os domínios de imunoglobulina e não são polimórficos entre os vários alelos de um gene em particular da classe II. Uma alça no segmento beta-2

da molécula da classe II é o local de ligação para o CD4. Um polipeptídeo não-polimórfico chamado de cadeia invariante está associado às moléculas da classe II recém sintetizadas e desempenha um papel importante no tráfego das moléculas da classe II e na determinação do local na célula em que os peptídeos irão se ligar a essas moléculas. A figura 3-2 mostra a representação esquemática da molécula HLA classe II.

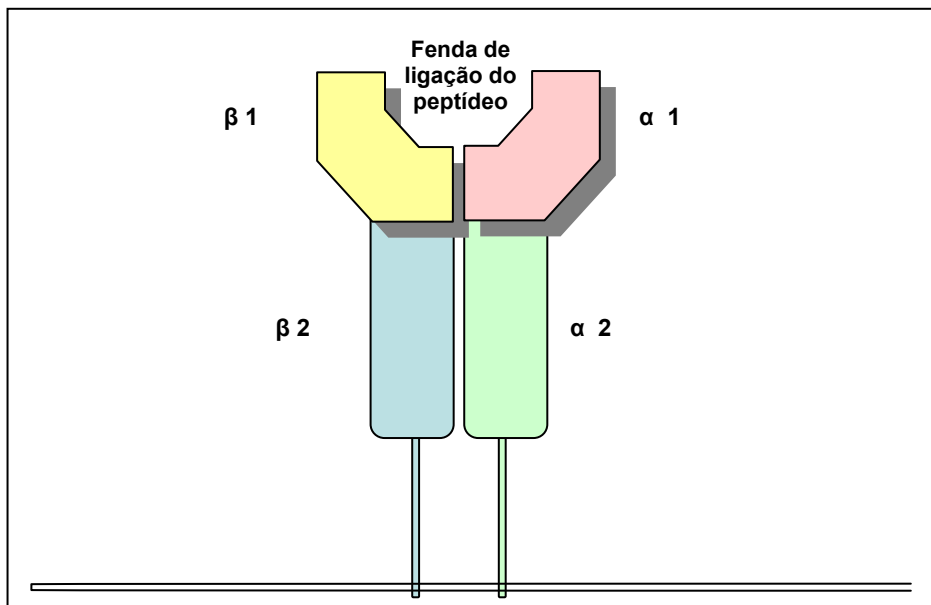


Figura 3-3: Representação esquemática da molécula HLA classe II. Adaptado de Janeway et al 2005.

A expressão estável das moléculas da classe II na superfície da célula requer a presença da cadeia alfa, da cadeia beta e de um peptídeo antigênico a elas ligado. Isso assegura que as moléculas MHC que acabam aparecendo na superfície celular sejam aquelas que estão desempenhando a função de apresentação de peptídeos (Hammer et al. 1997).

Seis alelos da classe II são herdados, três do pai e três da mãe (um conjunto de DP, DQ e DR). Entretanto, pode ocorrer algum pareamento heterozigótico (por exemplo, DQalfa de um cromossomo com DQbeta de outro). Conseqüentemente, o

número total de moléculas da classe II em uma pessoa heterozigota é de 10 a 20, mais do que os 6 alelos da classe II que são herdados dos pais.

Cada molécula da classe I ou da classe II possui uma única fenda de ligação de antígenos que pode acomodar vários peptídeos diferentes. Os peptídeos que se ligam às moléculas do MHC apresentam características estruturais em comum que promovem esta interação, como o tamanho e a natureza dos aminoácidos em determinadas posições da cadeia. A especificidade fina do reconhecimento dos antígenos reside principalmente nos receptores de antígenos de linfócitos T.

Os antígenos protéicos são clivados proteoliticamente nas células apresentadoras de antígenos para gerar os peptídeos que serão ligados e exibidos pelas moléculas MHC. Esses peptídeos ligam-se às fendas em sua conformação linear. Uma vez ligados, os peptídeos e as moléculas de água associadas a eles enchem as fendas, formando um íntimo contato com os aminoácidos das beta-lâminas (que formam a base das fendas) e das alfa-hélices (nos dois lados das fendas). “Bolsas” na base das fendas e âncoras (aminoácidos dos peptídeos que podem conter cadeias laterais) contribuem para a estabilidade das ligações entre os peptídeos e a molécula do MHC (Madden 1995).

Como muitos dos aminoácidos na fenda e próximos a ela são polimórficos, os diversos alelos apresentam uma propensão maior ou menor para determinados peptídeos. Somente os animais que expressam alelos do MHC que podem se ligar a determinados peptídeos e apresentá-los às células T podem responder àquele peptídeo.

Uma parte do peptídeo ligado ao MHC é exposta na parte superior da fenda, que é aberta, e os aminoácidos dessa região do peptídeo são reconhecidos por

receptores de antígenos das células T específicas. O mesmo receptor de antígenos da célula T interage com os aminoácidos polimórficos das alfa-hélices da molécula do MHC. Estes são responsáveis pela restrição MHC das células T (Klein & Sato 2000a).

Nos seres humanos, o MHC está localizado no braço curto do cromossomo 6, sendo que a beta-microglobulina é codificada por um gene no cromossomo 15. O MHC humano estende-se por aproximadamente 3.500 quilobases (kb). Os genes da classe I, HLA-A, HLA-B e HLA-C estão próximos do telômero do cromossomo 6, enquanto os genes da classe II estão mais próximos do centrômero. Várias proteínas envolvidas no processamento de antígenos protéicos e na apresentação de peptídeos às células T são codificadas pelos genes localizados no MHC, tais como o transportador associado ao processamento de antígenos (TAP), os proteassomas e o HLA-DM. Estão também localizados no MHC genes que codificam vários componentes do sistema complemento, citocinas como o fator de necrose tumoral alfa e linfotoxinas e proteínas do choque térmico. Existem ainda genes e pseudogenes não-polimórficos (HLA-G), alguns com pouca função conhecida no sistema imunológico (HLA-H) e outros com função desconhecida (Campbell & Townsdale 1993).

As moléculas da classe I são expressas constitutivamente em quase todas as células nucleadas, enquanto as da classe II são em geral encontradas somente nas células dendríticas, nos linfócitos B, nos macrófagos e em alguns raros tipos celulares. Esse padrão de expressão do MHC pode ser explicado pelas próprias funções de apresentação e reconhecimento de antígenos de que participam (Klein & Sato 2000a).

As células T CD8⁺ eliminam células infectadas por microrganismos intracelulares, como os vírus. Já que os vírus podem infectar praticamente qualquer célula nucleada, os ligantes que as células T CD8⁺ reconhecem precisam ser exibidos por todas as células nucleadas. Por outro lado, a função dos linfócitos T CD4⁺ restritos à classe II requer que eles reconheçam antígenos apresentados por um número mais limitado de tipos celulares. As células T CD4⁺ reconhecem antígenos que são apresentados a elas pelas células dendríticas nos órgãos linfóides periféricos. Ativadas, estimulam linfócitos B para que produzam anticorpos e macrófagos, a eliminarem microrganismos extracelulares que foram fagocitados (Abbas & Lichtman 2005).

3.2.4 Psoríase e HLA

As primeiras publicações sobre a associação dos antígenos HLA com a psoríase datam dos anos 70, já consistindo em estudos populacionais em pacientes caucasianos (Russell et al. 1972; White et al. 1972; Svejgaard et al. 1973; Seignalet et al. 1974; Svejgaard et al. 1974;) e não-caucasianos com psoríase vulgar (Tsuji et al. 1976). Naquela época, a tipagem sorológica era o único método disponível e os antígenos HLA B17, HLA B13 e HLA-Cw6 mostraram-se associados com a psoríase vulgar nas populações caucasianas, principalmente na doença de início precoce (Woodrow et al. 1975; Karvonen 1975; Brenner et al. 1978; Gunn et al. 1979). Os antígenos da classe II também foram estudados e uma frequência aumentada de HLA DR-7 foi vista em associação com psoríase na época. (Tsuji et al. 1979). Nos anos seguintes, a frequência aumentada de HLA B13, HLA B17, HLA Cw6 e HLA DR7 foi confirmada em diferentes estudos por métodos sorológicos. (Tiilikainen et al.

1980; Laurentaci et al. 1982; Turowski et al. 1981; Murray et al. 1980; Turowski et al. 1980; Raffoux et al. 1980; Beaulieu AD et al. 1983; Tiwari et al. 1982).

Em 1985, Henseler e Christophers descreveram dois tipos de psoríase vulgar. (Henseler et al. 1985). Estudaram retrospectivamente 2.147 pacientes com psoríase e pesquisaram o antígeno HLA Cw6 em 112 pacientes, sendo que em 82 pacientes a doença teve início antes dos 40 anos de idade e em 30 pacientes, depois dos 40 anos. A forma de início precoce (antes dos 40 anos de idade), ou tipo I, mostrou-se associada com história familiar positiva para psoríase, recidivas freqüentes e altamente associada com o HLA-Cw6. Na forma de início tardio ou tipo II, (após os 40 anos de idade), os membros da família quase nunca eram afetados e a freqüência do HLA-Cw6 foi muito mais baixa.

No início dos anos 90, os primeiros estudos dos genótipos HLA na psoríase usando sondas de oligonucleotídeos seqüência-específicos foram publicados. Schmitt-Egenolf et al. relataram pela primeira vez a associação de alelos HLA classe II com a psoríase do tipo I por métodos moleculares. (Schmitt-Egenolf et al. , 1993) Encontraram o haplótipo estendido HLA-DRB1*0701/2, -DQA1*0201, -DQB1*0303 exclusivamente em pacientes alemães com psoríase do tipo I. Desde então, muitos estudos usando métodos moleculares e algumas vezes também métodos sorológicos foram relatados em diferentes populações. Muitos outros antígenos e alelos HLA foram identificados. Eles tendem a ser diferentes entre pacientes de origens raciais e étnicas diversas (Henseler 1997; Elder et al. 2001), mas permanece a dúvida sobre os próprios alelos HLA ou um locus próximo a eles conferirem predisposição à doença (Capon et al. 2004).

Os estudos a seguir relatam as especificidades HLA encontradas em associação com a psoríase em populações caucasianas e não-caucasianas, desde quando a tipificação molecular começou a ser usada. Eles revelam vários antígenos e alelos de susceptibilidade e de proteção à psoríase, bem como alguns haplótipos estendidos em diferentes populações.

Estudos populacionais

Schmitt-Egenolf et al. (1993) estudaram 89 pacientes alemães, que foram agrupados em dois tipos: 60 pacientes com história familiar positiva e início da doença antes dos 30 anos de idade (tipo I) e 29 pacientes sem história familiar e início após os 40 anos (tipo II). O HLA classe I foi analisado por sorologia nos 89 pacientes e o HLA classe II, por sondas de oligonucleotídeos seqüência-específicas (SSO), em 64 pacientes (47 pacientes do tipo I, e 17 do tipo II). Dados obtidos por Begovich et al. foram usados como controles (Bergovich et al. 1992). Os alelos HLA-DRB1*0701/02, -DQA1*0201 e -DQB1*0303 estiveram presentes de maneira estatisticamente significativa em pacientes com psoríase do tipo I e o haplótipo estendido HLA -DRB1*0701/02-DQA1*0201-DQB1*0303 foi exclusivamente encontrado nestes pacientes (Schmitt-Egenolf et al. 1993). Três anos mais tarde, o mesmo grupo relatou que o haplótipo estendido encontrado em caucasianos Cw6-B57-DRB1*0701- DQA1*0201-DQB1*0303, chamado de EH-57.1, segundo o antígeno B57, esteve altamente presente na psoríase do tipo I (RR=26). Uma análise subsequente dos alelos HLA revelou que no EH-57.1, os antígenos HLA da classe I (Cw6-B57) estiveram associados de maneira muito mais marcante com a psoríase do tipo I do que os alelos da classe II (Schmitt-Egenolf et al. 1996).

Ikäheimo et al. . realizaram a tipificação sorológica das especificidades HLA A, B, C e DR e a tipificação molecular dos alelos DQA1, DQB1, DPA1 e DPB1 usando a reação da polimerase em cadeia (PCR) e oligonucleotídeos seqüência-específicos (SSO) em 70 pacientes finlandeses com psoríase vulgar. Havia 200 controles e todos os indivíduos eram caucasianos. Os HLA- Cw6, DR7 e DQA1*0201 estiveram significativamente mais freqüentes em pacientes com psoríase (RR= 20.8, RR=3.7 e RR=6.7, respectivamente). Estes 3 alelos ocorreram como uma combinação haplotípica (HLA -Cw6 DR7 DQA1*0201) em 30% dos pacientes e em nenhum dos controles (RR=24.4). Os haplótipos HLA -A2-B13-Cw6 -DR7-DQA1*0201 e -A1-B17-Cw6-DR7-DQA1*0201 estiveram associados com a psoríase (RR=10.6 e 5.3, respectivamente) (Ikäheimo et al. 1996a). Entretanto, uma investigação subsequente mostrou que o alelo Cw6 por si só foi suficiente para indicar um risco significativo para a psoríase, já que ele se correlacionou fortemente com a história familiar positiva e doença de início precoce (Ikäheimo et al. 1996b).

Os antígenos HLA-A, -B, -C e DR foram sorologicamente determinados em 22 pacientes brasileiros brancos com psoríase e em 32 pacientes com glossite migratória benigna. O HLA-Cw6 esteve significativamente aumentado em pacientes com psoríase (RR=10.0) e nos com glossite migratória benigna (RR=5.4). O HLA-B17 e o B-13 também foram significativamente mais freqüentes em pacientes com psoríase (RR= 10.1 e 6.8, respectivamente) (Gonzaga et al. 1996). Em um estudo recente também realizado no Brasil, os alelos HLA-DRB3, -B4, -B5 e HLA-DQB1 foram determinados pelo método de PCR/SSP (ou tipificação genérica) enquanto os alelos HLA-DRB1 foram determinados por métodos específicos ou de alta resolução, em 60 pacientes psoriásicos e 100 controles sadios. Os alelos HLA-DRB3*02 e HLA-

DRB1*0102 estiveram significativamente aumentados (RR= 2.14 e RR= 5.44, respectivamente); enquanto o HLA DRB1*04 e o HLA DRB1*1302 foram menos freqüentes (RR= 0.33 e RR=0.23, respectivamente), indicando alelos protetores. Dois haplótipos estiveram positivamente associados com a psoríase: DRB1*0102-DQB1*05 (RR= 5.44) e DRB1*0701-DQB1*03 (RR=9.00). O haplótipo DRB1*0405-DQB1*03 esteve negativamente associado com a doença (RR=0.10) (Cardoso et al. 2005).

Em 1997 Enerback et al. examinaram 201 pacientes suíços com psoríase vulgar e 77 controles sadios em relação à presença de HLA-Cw*06, usando o método de PCR-SSP. Sessenta e sete por cento dos pacientes foram positivos para uma ou duas cópias do alelo, em contraste com 12% dos controles. Um pico de idade de início da doença significativo (21 anos) foi visto nos pacientes Cw*06 positivos ($p < 0.00001$) (Enerback et al. 1997).

Em Taiwan 76 pacientes com psoríase vulgar e 238 controles foram analisados quanto à freqüência dos alelos DRB1, DQA1, DQB1 e DPB1 por reação da polimerase em cadeia e hibridização por SSO. Cinquenta e três pacientes tinham psoríase do tipo I (início antes dos 40 anos) e 23 tinham psoríase do tipo II (início após os 40 anos). A freqüência de DRB1*0701 esteve aumentada nos tipos I e II (RR=6, 4). O HLA-DRB1*1401 esteve significativamente aumentado apenas nos pacientes com o tipo I (RR= 3, 5). O HLA-DQA1*0501 esteve diminuído nos pacientes estudados (RR=0, 4). Houve também uma associação positiva com os haplótipos DRB1*0701-DQA1*0201-DQB1*0201 (RR=5,8) e DRB1*1401-DQA1*0101-DQB1*0503 (RR=6, 46) e uma associação negativa com DRB1*1101-DQA1*0501-DQB1*0301 (RR=0, 39) (Shiou-Hwa et al. 1998).

Oitenta e quatro pacientes coreanos foram estudados sorologicamente em relação aos HLA-A e B e por métodos moleculares em relação aos alelos HLA-C, DRB1, DQA1, DQB1 e DPB1. As freqüências do HLA-A1, -A30, -B13, e -B37 estiveram significativamente aumentadas nos pacientes com psoríase comparadas com os controles. O HLA-Cw*0602 foi o alelo mais fortemente associado com a psoríase. Dois haplótipos, HLA-A30-B13-Cw*0602-DRB1*07-DQA1*02-DQB1*02-DPB1*17-01 e HLA-A1-B37-Cw*0602-DRB1*10-DQA1*01-DQB1*05 estiveram associados com a psoríase em coreanos. O haplótipo HLA-A33-B44-Cw*1401-DRB1*13-DQA1*01-DQB1*06 esteve negativamente associado. Como uma diferença significativa na freqüência do HLA-Cw*0602 foi vista entre pacientes com menos e mais de 30 anos ($p < 0.009$), os tipos I e II de psoríase foram propriamente divididos a partir desta idade. As freqüências de HLA-B37, -Cw*0602 e -DPB1*1701 estiveram significativamente aumentadas na psoríase do tipo I comparadas com as do tipo II. Os HLA-A30, -B13 e DQB1*02 estiveram presentes com maior freqüência nos pacientes do sexo feminino ($p < 0.05$). Os autores concluíram que o haplótipo HLA-A30-B13-Cw*0602-DRB1*07-DQA1*02-DQB1*02 poderia ser um marcador genético mais eficaz em mulheres, particularmente naquelas com psoríase do tipo I (Tai-Gyu et al. 2000).

Setenta e sete croatas com psoríase crônica e estável foram classificados como tendo psoríase do tipo I ou II e foram analisados em relação aos alelos HLA. Cinquenta pacientes com história familiar positiva e início da doença antes dos 30 anos foram classificados como tipo I, enquanto 27 pacientes com história familiar negativa e início da doença após os 40 anos de idade foram classificados com tipo II. Cento e quarenta indivíduos saudáveis foram usados como controles. Entre os 20

DRB1 alelos detectáveis, o DRB1*0701 foi o mais freqüente entre os pacientes do grupo I quando comparados aos do grupo controle. Para a região DQ, os alelos DQA1*0201, DQB1*0201 e DQB1*0303 mostraram uma correlação significativamente maior com a doença do tipo I enquanto o alelo DQA1*0102 teve uma freqüência diminuída. Em pacientes do tipo I, foi observado um aumento significativo do haplótipo HLA-Cw*0602-B57-DRB1*0701-DQA1*0201-DQB1*0201, que foi considerado um haplótipo de risco para a doença do tipo I na população croata. Os autores concluíram que o alelo DQB1 pareceu ser o principal alelo de susceptibilidade para a doença do tipo I (Kastelan et al. 2003). Um trabalho prévio realizado na Croácia estudou os antígenos HLA de 108 pacientes e 139 controles. O HLA-C foi analisado usando a reação da polimerase em cadeia e os outros antígenos HLA foram analisados sorologicamente. Baseados em dados de anamnese, 44 pacientes foram incluídos no grupo de pacientes do grupo I e 21, no grupo II. Pacientes com psoríase do tipo I (idade de início menor que 30 anos e história familiar positiva) mostraram uma associação altamente significativa com Cw*0602 (RR=14.45) e DR7 (RR= 15.09) (Kastelan et al. 2000).

Um total de 102 pacientes poloneses com diagnóstico de psoríase vulgar e 123 doadores de sangue saudáveis foram testados em relação ao HLA-C. Houve um aumento de 4,7 vezes na freqüência do HLA-Cw*06 e de 2,2 vezes na freqüência do HLA-Cw*07 nos pacientes psoriásicos comparados com os controles ($p < 0,05$). Os controles eram pareados pela idade, sexo e origem étnica. Quando foram considerados apenas os pacientes com idade de início de 0-20 anos, a associação com Cw*06 foi ainda mais forte (4 vezes maior do que em todos os pacientes e quase 80 vezes maior do que no grupo controle) (Luszczek et al. 2002). Em um

estudo mais recente na Polônia, foi analisada a associação do alelo HLA-Cw*06 (identificado por SSP), com determinados parâmetros clínicos da psoríase, sua extensão e gravidade. Setenta e oito pacientes com psoríase vulgar foram divididos em dois grupos: com início antes e depois dos 40. Cinquenta pacientes tinham psoríase crônica e estável e 28 tinham psoríase aguda ou eruptiva. Setenta controles foram incluídos. A frequência do alelo Cw*06 esteve significativamente aumentada em pacientes psoriásicos em relação ao grupo controle (RR=5.67). O PASI foi significativamente maior entre os pacientes Cw*06-positivos. A comparação da frequência alélica nos dois subtipos clínicos não mostrou diferenças estatísticas (Szczerkowska-Dobosz et al. 2004).

Um estudo da Turquia determinou sorologicamente os antígenos HLA classes I e II de 100 pacientes psoriásicos e 201 controles sadios. Os pacientes foram divididos em grupo I (idade de início menor que 40 anos) e grupo II (idade de início maior que 40 anos). Os HLA -A30, -Cw3, -Cw6, -DR7, -DR14, -DQ8 e -DQ9 estiveram significativamente aumentados nos pacientes psoriásicos comparados com os controles. Os HLA -A66, -Cw2, -Cw4, e -DR11 estiveram negativamente associados com a psoríase. A frequência de Cw6 foi significativamente maior nos pacientes psoriásicos (RC=14, 3). A expressão do HLA foi diferente entre os grupos I e II. Os HLA -A30, -B50, -Cw6 e -DR7 foram mais prevalentes nos pacientes com psoríase do tipo I, enquanto o Cw7 esteve presente de maneira estatisticamente significativa no tipo II. Não houve diferença entre os pacientes do sexo feminino e masculino. História familiar positiva e acometimento ungueal foram mais presentes nos pacientes do tipo I (Kundakçi et al. 2002).

Vejbaesya et al. em 1998 publicaram um estudo dos alelos HLA classes I e II em 90 pacientes tailandeses com psoríase vulgar (67 com o tipo I, 23 com o tipo II) e em 140 controles. Encontraram uma freqüência aumentada de HLA-A2, -B46, -B57 e DQB1*0303 na psoríase do tipo I comparada aos controles. A análise molecular dos alelos HLA-A2 mostrou uma freqüência aumentada de HLA-A*0207 e diminuída de HLA-A*0203 na psoríase do tipo I. O HLA-DQB1*0301 esteve significativamente diminuído na psoríase do tipo I comparada com os controles. Dois haplótipos de susceptibilidade para a psoríase do tipo I na população tailandesa foram demonstrados: HLA-A1-B57-DRB1*0701-DQA1*0201-DQB1*0303 (EH 57.1) e HLA-A2-B46-DRB1*0901-DQA1*0301-DQB1*0303 (EH 46.1) (Vejbaesya et al. 1998). Em 2002, Choonhakarn et al. estudaram 95 pacientes do norte da Tailândia com psoríase do tipo I, 45 com o tipo II e 300 controles para pesquisar o HLA classes I e II usando a reação da polimerase em cadeia. Na psoríase do tipo I, as freqüências dos alelos HLA-A*01, -A*0207, -A*30, -B*08, -B*13, -B*4601, -B*57, -Cw*01 e -DRB1*07 estiveram significativamente aumentadas. O HLA-Cw*0602 demonstrou a mais forte associação ($P_c < 0.00001$). As freqüências dos HLA-A*24, -A*33, e -Cw*04 estiveram significativamente diminuídas na psoríase do tipo I. Os alelos HLA-A*207, -A*30, -Cw*01 e -DRB1*1401 estiveram claramente associados com a psoríase do tipo II quando comparados aos controles. Os seguintes haplótipos estiveram particularmente aumentados na psoríase do tipo I: HLA -A*30- B*13- Cw*0602- DRB1*07- DQB1*02, HLA -A*0207 -B*4601 -Cw*01 -DRB1*0 -DQB1*0303, e HLA -A*01 -B*57 -Cw*0602 -DRB1*07 -DQB1*0303 (Choonhakarn et al. 2002).

Cento e sessenta pacientes chineses com psoríase vulgar e 204 controles sadios foram estudados em relação aos alelos HLA classe I. As freqüências de HLA-A*26, -B*13, -B*27 e -Cw*0602 estiveram significativamente aumentadas nos pacientes comparados com os controles, mostrando que esses alelos estavam positivamente associados com a psoríase. O HLA Cw*0602 foi o mais fortemente associado com essa dermatose, principalmente naqueles pacientes com início da doença antes dos 35 anos de idade (Xue-Jun et al. 2003). Com o objetivo de investigar se os alelos HLA-DQA1 e HLA-DQB1 estavam associados com a susceptibilidade genética à psoríase em chineses, o método de PCR-SSP foi empregado para analisar 189 pacientes e 273 doadores sadios. Dos 189 pacientes, 160 iniciaram a psoríase antes dos 40 anos (tipo I) e 29, após 40 anos de idade (tipo II). As freqüências dos HLA-DQA1*0104 e DQA1*0201 estiveram significativamente aumentadas (RC=2.33 e RC=3.36, respectivamente), assim como as dos HLA-DQB1*0201 e DQB1*0303 (RC= 1.64 e RC= 1.55, respectivamente). O HLA-DQA1*0501 esteve significativamente diminuído. A mesma distribuição alélica foi vista considerando apenas a psoríase do tipo I. No tipo II, os p valores estiveram acima de 0,05 (Xue-Jun et al. 2004). O mesmo grupo estudou 138 pacientes chineses com psoríase vulgar (113 do tipo I, início antes dos 40 anos e 25 pacientes do tipo II, início após os 40 anos) e 149 controles pareados para a idade e sexo, a fim de investigar a distribuição dos haplótipos associados com a psoríase vulgar em chineses. Os haplótipos HLA-A*26-B*27, A*26-Cw*0602, B*27-Cw*0602, DRB1*0701/02-B*27, DRB1*0701/02-DQA1*0104, DRB1*0701/02-DQB1*0303, DQA1*0201-DQB1*0303, A*26-DRB1*0701/02-DQA1*0201-DQB1*0303 foram identificados como de risco para psoríase. HLA A*26-B*27, DQA1*0201-DQB1*0303,

DRB1*0701/02-DQA1*0104, DRB1*0701/02-DQB1*0303 e A*26-DRB1*0701/02-DQA1*0201-DQB1*0303 foram encontrados em associação apenas com a psoríase do tipo I quando comparados com o grupo controle (Yang et al. 2004).

Os quadros a seguir resumem os principais resultados dos estudos populacionais descritos nesta seção.

Quadro 3-1: HLA classes I e II associados à psoríase vulgar em estudos populacionais

Autor e Ano	País	n	c	HLA classe I (RR)	HLA classe II (RR)	Haplótipo (RR)
<i>Ikäheimo et al. 1996</i>	Finlândia	70	200	Cw6 (20.8)	DR7 (3.7) DQA1*0201 (6.7)	A2B13Cw6DR7DQA1*0201 (10.6) A1B17Cw6DR7DQA1*0201 (5.3)
<i>Gonzaga et al. 1996</i>	Brasil	22	142	Cw6 (10.0) B17 (10.1) B13 (6.8)	-	-
<i>Enerback et al. 1997</i>	Suécia	201	77	Cw*06	-	-
<i>Shiou-Hwa et al. 1998</i>	Taiwan	76	238	-	DRB1*0701 (6.4)	DRB1*0701DQA1*0201 DQB1*0201 (5.8)
<i>Tai-Gyu et al. 2000</i>	Coreia	84	98	A1 (17.0) A30 (5.5) B13 (5.6) B37 (30.3) Cw*0602 (36.0)	DRB1*07 (5.9) DRB1*10 (26.4) DQA1*02 (6.2) DPB1*1701(24.6) DQB1*02 (2.5)	A30B13Cw*0602DRB1*07 DQA1*02DQB1*02 DPB1*1701(21.0) A1B37Cw*0602DRB1*10 DQA1*01DQB1*05 (17.7)
<i>Kundakçi et al. 2002</i>	Turquia	100	201	A30 (4.5) † Cw3 (2.7) † Cw6 (14.3) †	DR7 (3.16) † DR14 (2.18) † DQ8 (7.13) †	-
<i>Luszczek et al. 2002</i>	Polónia	102	123	Cw6* (18.73)	-	-
<i>Xue-Jun et al. 2003</i>	China	166	204	A*26 (2.36)† B*13 (2.34)† B*27 (3.49)† Cw*0602 (4.2)†	-	-
<i>Xue-Jun et al. 2004</i>	China	189	273	-	DQA1*0201 (3.36) † DQA1*0104 (2.33) †	-
<i>Szczerkowska et al 2004</i>	Polónia	78	70	Cw6* (5.67)	-	-
<i>Cardoso et al. 2005</i>	Brasil	60	100	-	DRB3*02 (2.14) DRB1*0102(5.44)	DRB1*0102 DQB1*05 (5.44) DRB1*0701 DQB1*03 (9.0)
<i>Yang et al. 2004</i>	China	138	149	A*26 (3.42) † B*27 (25.14) † B*57 (9.11) † Cw*0602 (4.04) †	DQA1*0104 (2.86) † DQA1*0201 (2.98) † DQB1*0303 (4.65) † DRB1*0701 (4.51) †	A*26 B*27 Cw*0602 DRB1*0701 DQA1*0201 DQB1*0701/02 A*26 DRB1*0701/02 DQA1*0201 DQB1*0303

N= número de pacientes; c= número de controles; RR= Risco relativo; † RC= razão de chances

Quadro 3-2: HLA classes I e II associados à psoríase vulgar do tipo I em estudos populacionais

Autores e Ano	País	n	c	HLA classe I(RR)	HLA classe II (RR)	Haplótipo (RR)
<i>Schmitt-Egenolf et al. 1993</i>	Alemanha	47	Ext.	-	DRB1*0701/02 DQA1*0201 DQB1*0303	DRB1*0701/02 DQA1*0201 DQB1*0303
<i>Schmitt-Egenolf et al. 1996</i>	Alemanha	90	147	Cw6 B57	DQB1*0303	Cw6B57 DRB1*0701/02 DQA1*0201 DQB1*0303 (26)
<i>Shiou-Hwa et al. 1998</i>	Taiwan	53	238	-	DRB1*1401(3.5)	DRB1*1401DQA1*0101 DQB1*0503 (6.4)
<i>Vejbaesya et al. 1998</i>	Tailândia	67	140	A*0207 B46 B57	DQB1*0303	A1B57DRB1*0701 DQA1*0201DQB1*0303 A2B46DRB1*0901 DQA1*0301DQB1*0303
<i>Tai-Gyu et al. 2000</i>	Coreia	62	98	B37 (42.8) Cw*0602 (58.5)	DPB1*1701 (33.7)	A30B13Cw*0602DRB1*07 DQA1*02DQB1*02 (19.2)
<i>Kastelan et al. 2000</i>	Croacia	44	139	Cw*0602 (14.45)	DR7 (15.09)	-
<i>Kastelan et al. 2003</i>	Croacia	50	140	-	DRB1*0701 (5.83) DQA1*0201 (6.12) DQB1*0201 (3.29) DQB1*0303 (7.51)	Cw*0602B57DRB1*0701 DQA1*0201DQB1*0201 (4.3)
<i>Choonhakarn et al. 2002</i>	Tailândia	95	300	A*01 (4.4) † A*0207 (4.3) † A*30 (8.0) † B*08 (4.3) † B*13 (2.5) † B*4601 (2.6) † B*57 (5.8) † Cw*01 (2.0) † Cw*0602 (9.7) †	DRB1*0701 (3.4) †	A*30 B*13 Cw*0602 DRB1*07DQB1*02 (16.1) † A*0207 B*4601 Cw*01 DRB1*09DQB1*0303 (3.9) † A*01 B*57 Cw*0602 DRB1*07DQB1*0303 (4.3)
<i>Kundakçi et al. 2002</i>	Turquia	68	201	A30 (1.17) † B50 (1.21) † Cw6 (15.6) †	DR7 (3.55) †	
<i>Xue-Jun et al. 2003</i>	China	123	204	Cw*0602 (5.21) †	-	-
<i>Yang et al. 2004</i>	China	113	149	-	-	A*26-B*27 DQA1*0201DQB1*0303 DRB1*0701/02DQA1*0104 DRB1*0701/02DQB1*0303 A*26DRB1*0701 DQA1*0201DQB1*0303

N=número de pacientes; c=número de controles; RR=Risco relativo; Ext=externo; †RC=razão chances

Quadro 3-3: HLA classes I e II associados à psoríase vulgar do tipo II em estudos populacionais

Autor e Ano	País	n	c	HLA classe I (RR)	HLA classe II (RR)	Haplótipo (RR)
<i>Shiou-Hwa et al. 1998</i>	Taiwan	23	238	-	DRB1*0701 (7.9)	-
<i>Choonhakarn et al. 2002</i>	Tailandia	45	300	A*0207 (3.10) † A*30 (5.6) † Cw*01 (2.86) †	DRB1*1401 (4.6) †	-
<i>Kundakçi et al. 2002</i>	Turquia	32	201	Cw7		

N= número de pacientes; c= número de controles; RR= Risco relativo; † RC= razão de chances

Quadro 3-4: HLA classes I e II de proteção em relação à psoríase em estudos populacionais

Autor e Ano	País	n	c	HLA classe I (RR)	HLA classe II (RR)	Haplótipo (RR)
<i>Cardoso et al. 2005</i>	Brasil	60	100	-	DRB1*04 (0.33) DRB1*1302 (0.23)	DRB1*0405-DQB1*03 (0.10)
<i>Tai-Gyu et al. 2000</i>	Coreia	84	98	-	-	A33B44Cw*1401DRB1*13 DQA1*01DQB1*06
<i>Xue-Jun et al. 2004</i>	China	189	273	-	DQA1*0501	-
<i>Vejbaesya et al. 1998</i>	Tailandia	67	140	-	DQB1*0301#	
<i>Shiou-Hwa et al. 1998</i>	Taiwan	76	238	-	DQA1*0501 (0.4)	DRB1*1101DQA1*0501 DQB1*0301 (0.39)
<i>Kundakçi et al. 2002</i>	Turquia	68	201	A66 Cw2 Cw4	DR11	
<i>Choonhakarn et al. 2002</i>	Tailandia	95	300	A*24# A*33# Cw*04#		
<i>Luszczek et al.</i>	Polonia	102	123	Cw*07		

N= número de pacientes; c= número de controles; RR= risco relativo; † RC= razão de chances; # na psoríase tipo I apenas.

3.2.5 Artrite psoriásica e HLA

Em relação à artrite psoriásica, os primeiros trabalhos também surgem na década de 1970. Em 1974 Karvonen et al. demonstraram uma frequência aumentada de HLA-B17 em 34 pacientes com psoríase vulgar e artrite em relação ao grupo controle. No mesmo ano, Zachariae et al. (1974) encontraram em pacientes com artrite periférica e sacroileite maior prevalência dos antígenos HLA-B13 e HLA-B27. Marcusson et al. (1975) também encontraram maior prevalência de HLA-B27 entre os pacientes com artrite psoriásica, assim como Karvonen (1975) e Lambert et al. (1976), que descreveram essa associação principalmente em pacientes com acometimento axial. Roux et al. (1977) estudaram 90 pacientes com artrite periférica e 18 com comprometimento central. Nestes, encontraram maior frequência de HLA-B27, enquanto naqueles, a associação com o HLA foi semelhante a dos pacientes com psoríase vulgar sem artrite. O HLA-B27 também foi encontrado em 40 pacientes com artrite periférica (de interfalangeanas distais) de maneira estatisticamente significativa, assim como nos pacientes com comprometimento axial por Eastmond et al. (1977), enquanto Espinoza et al. (1978) descreveram maior frequência de HLA-B38 em pacientes com artrite psoriásica e envolvimento periférico.

Em 1980 Murray et al. publicaram um trabalho mostrando o aumento da frequência de HLA-A26, -B38, -Cw6, -DR4 e -DR7 nos pacientes com artrite psoriásica. Alguns trabalhos de meados dos anos 80 confirmaram os achados anteriores, mostrando a maior prevalência de HLA-B27 e -DR7 (Armstrong et al. 1983; McHugh et al. 1987), enquanto outros descreveram antígenos diferentes, como o HLA-B57, -B39, -Cw6 e -Cw7, associados à artrite psoriásica (Beaulieu et al.

1983). Um estudo demonstrou a associação de HLA-B16 e envolvimento axial em pacientes italianos (Crivellato & Zacchi 1986).

Em 1990, Lopez-Larrea et al. estudaram 104 pacientes espanhóis com artrite psoriásica e demonstraram um aumento de HLA-B17, B27, B16 e Cw6 (Lopez-Larrea et al. 1990). Suarez-Almazor & Russel (1990) mostraram que a sacroileite na psoríase pode estar associada com a presença de artrite periférica e/ou a presença de HLA-B27. No mesmo ano Sakkas et al. estudaram por southern blot os alelos HLA classe II e os genes de receptor de células T de pacientes com artrite psoriásica. Eles denominaram de “subtipo” de DR7, o DR7a, que estava aumentado em pacientes com artrite psoriásica (Sakkas et al. 1990). Um grupo francês analisou o HLA-B de 193 pacientes com artropatia psoriásica e comparou-os com 2706 indivíduos saudáveis, mostrando uma associação com HLA-B27, B17 e B16, sem entretanto haver correlação destes antígenos com a topografia do acometimento articular (Fournie et al. 1991). Pacientes japoneses com artrite psoriásica foram estudados em relação ao HLA-A2 por métodos moleculares e o HLA-A*0207 esteve associado à doença neste grupo étnico (Muto et al. 1996). Gladman et al. demonstraram, também por métodos moleculares, a associação do HLA-Cw*0602 com a artrite psoriásica (Gladman et al. 1999).

Trabalhos recentes empregando métodos moleculares em diferentes populações revelaram algumas vezes a associação com alelos distintos dos já descritos anteriormente.

Quatro trabalhos foram publicados pelo mesmo grupo espanhol mostrando diferentes aspectos dos genes associados à artrite psoriásica. O primeiro estudou os alelos de HLA-B, Cw e DR, e o polimorfismo dos genes de TNF e do MICA de 52

pacientes judeus com artrite psoriásica e comparou-os com 73 controles pareados. As freqüências de HLA-B*5701, B*3801, B*39, B*27, Cw*0602, Cw*07, DRB1*0402 e DRB1*0701 não estiveram aumentadas nos pacientes com artrite psoriásica. O MICA-A9 esteve presente em maior freqüência nos pacientes estudados, entretanto estava em desequilíbrio de ligação com os alelos HLA-B*5701 e B*3801, descritos por estarem associados com artrite psoriásica em caucasianos (Gonzalez et al. 2001). No ano seguinte um novo trabalho mostrou que nos pacientes espanhóis estudados houve uma diversidade maior de alelos HLA-B*27 quando comparados a outros grupos de caucasianos. Foram identificados 6 alelos de HLA-B*27: B*2705, 2702, 2703, 2713, 2707 e 2708, sendo os dois últimos mais freqüentes em pacientes com artrite psoriásica (Gonzalez et al. 2002). Em 2003 publicaram um trabalho com 74 pacientes psoríase vulgar com artrite, 95 pacientes com psoríase sem artrite e 104 controles e mostraram a associação com Cw*0602 nos dois grupos de pacientes, porém em desequilíbrio de ligação com o alelo microsatélite 384, conseqüentemente tornando difícil dizer qual marcador está primariamente associado com a doença. Foi encontrada uma região telomérica ao HLA-C (entre o HLA-C e o OTF3) de 100 kb que poderia estar ligada à susceptibilidade à psoríase vulgar e à artrite psoriásica (Martinez-Borra et al. 2003). O quarto trabalho consistiu em um estudo sobre os antígenos HLA-DR, HLA-B27 e alelos HLA-Cw (por PCR-SSO) em 120 pacientes com artrite psoriásica e 170 controles. O HLA-DR7 mostrou associação com oligoartrite, enquanto o HLA-DR8 esteve relacionado com a poliartrite. O HLA-B27 relacionou-se com a espondilite (Queiro-Silva et al. 2004).

Os trabalhos descritos a seguir consistem em estudos populacionais recentes provenientes de diferentes países. Korendowvch et al. (2003) estudaram na

Inglaterra os alelos DRB1 de 150 pacientes e 250 controles e encontraram maior prevalência de HLA-DRB1*07 nos pacientes com artrite psoriásica (Korendowvch et al. 2003). Em Israel foram estudados 50 pacientes com artrite psoriásica, 32 com psoríase sem artrite e 255 controles sadios em relação aos antígenos HLA classe I (A, B e C) e alelos DRB e DQB. Foram encontradas freqüências aumentadas de HLA-A3, -B13 e -B38 nos pacientes com artrite quando comparados com os sem artrite. Os HLA-DRB1* 0101 e -DRB1*0301 estiveram aumentados nos pacientes com e sem artrite em relação ao grupo controle (Elkavam et al. 2004). Um grupo da Polónia estudou alelos HLA-C de 41 pacientes com artrite psoriásica e comparou-os a 80 controles, encontrando uma maior freqüência de HLA-Cw*06 nos pacientes em relação aos controles. Dentre os pacientes HLA-Cw*06 positivos, a idade de início da artrite foi significativamente menor em relação a dos pacientes negativos para esse alelo (Szczerkowska-Dobosz et al. 2005).

Um trabalho realizado recentemente no Brasil (Bonfiglioli et al. . 2006) estudou 101 pacientes com artrite psoriásica e demonstrou a positividade para HLA-B27 em 21 pacientes (20,79%), sendo que destes, 13 (61,90%) pacientes apresentavam comprometimento da coluna vertebral, mostrando a correlação entre esse marcador e a forma espondiloartropática da doença.

3.2.6 Os receptores tipo-imunoglobulina de células natural killer (KIR)

As moléculas do HLA classe I, HLA-A, HLA-B e HLA-C são expressas na superfície da maior parte das células do corpo humano e são reconhecidas por dois tipos de linfócitos citotóxicos: as células T citotóxicas e as células natural killer. As células natural killer humanas expressam duas classes de receptores

estruturalmente distintas: os receptores tipo-imunoglobulina de células natural killer (KIR) e os receptores tipo lectina (Rajalingam 2002).

Os primeiros KIR a serem descobertos foram receptores inibitórios. Na nomenclatura inicialmente usada, o acrônimo KIR correspondia a “killer-cell inhibitory receptor” (receptor inibitório de células natural killer), como sugerido por Long et al. em 1997. Com o entendimento de que esta família de moléculas incluía receptores inibitórios e também ativatórios, o termo KIR passou a ser a abreviatura para “killer-cell immunoglobulin-like receptor” (receptor tipo-imunoglobulina de células natural killer) (Marsh et al. 2002), nomenclatura amplamente utilizada nos dias atuais.

A família dos genes KIR está localizada no cromossomo 19q13.4 (Suto et al. 1998), e codifica receptores inibitórios e de ativação que são expressos por células natural killer (NK) e subtipos de células T $\gamma\delta^+$ e de células T $\alpha\beta^+$ de memória e efetoras. Os KIR contêm 2 ou 3 domínios tipo imunoglobulina com regiões citoplasmáticas longas (2DL, 3DL) ou curtas (2DS, 3DS) (André et al. 2001). Os receptores longos contêm 1 ou 2 motivos inibitórios do receptor de tirosina (ITIMs) em suas caudas citoplasmáticas, que contribuem para a sinalização inibitória. Receptores curtos não possuem os motivos inibitórios, mas têm um resíduo de lisina no seu domínio transmembrana que é um mediador da associação com o DAP12. O DAP12 contém um motivo de ativação baseado no imunorreceptor de tirosina (ITAM) e transduz sinais de ativação (Lanier et al. 1998).

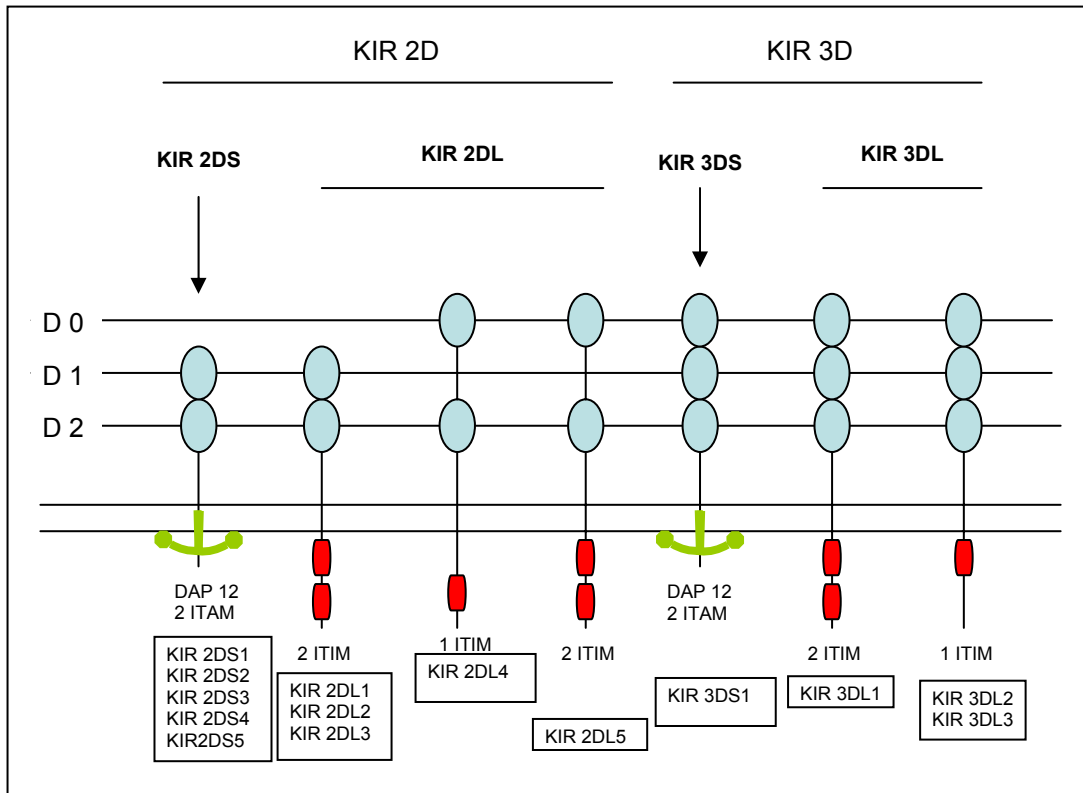


Figura 3-4: Representação esquemática dos receptores KIR. Adaptado de Middleton et al 2002.

Os receptores KIR são específicos para as moléculas HLA classe I, sendo que alguns KIR têm ligantes MHC classe I bem definidos. As moléculas HLA-C do grupo 1 ou C1 compreendem as especificidades HLA-Cw1, 3, 7, 8, 12, 13, 14, 1507, 1601 e são caracterizadas por apresentarem na posição 77 o aminoácido serina e na posição 80, a asparagina (Ser77/Asn80). Estas moléculas são ligantes para KIR2DL2, KIR2DL3 e KIR2DS2. As moléculas HLA-C do grupo 2 (HLA-Cw2, 4, 5, 6, 707, 12042, 15, 1602, 17) possuem Asn77/Lys80 e são reconhecidas por KIR2DL1 e KIR2DS1 (Borrego et al. 2002).

Com base no conteúdo genético, os haplótipos KIR podem ser divididos em dois grandes grupos. O grupo haplotípico “A” consiste em torno de 7 genes funcionais. Eles incluem genes KIR inibitórios e têm um ou dois genes de ativação

(KIR2DS2 e/ou KIR2DS4). O grupo “B” contém de 9 a 12 genes. É marcante pela presença do gene KIR2DL5 e a maior parte dos genes do haplótipo “B” são ativatórios. O grupo “B” pode não ter genes inibitórios para algumas especificidades HLA (Rajalingam 2002).

Os genes KIR são polimórficos (Steffens et al. 1998). As diferenças alélicas nos genes KIR estão espalhadas por toda a região decodificante, diferentemente dos genes HLA, onde as substituições estão primariamente concentradas na região que codifica a fenda de ligação dos peptídeos. As células natural killer de um indivíduo expressam diferentes números e combinações de KIR e de receptores do tipo lectina, o que contribui para uma maior complexidade no repertório de receptores de células natural killer. As células NK podem expressar 2 a 9 receptores KIR, com pelo menos um receptor inibitório para o HLA classe I (Rajalingam 2002).

A razão para a diversidade dos KIR e a contribuição individual dos KIR na sinalização para as células NK e para os linfócitos T ainda não é completamente entendida, mas sua importância tem sido sublinhada por vários estudos genéticos recentes, que correlacionaram as combinações de genes de KIR e HLA com o prognóstico de diversas doenças (Rajagopalan & Long 2005). A influência das interações KIR-HLA no curso de infecções virais como pelo vírus C da hepatite (Khakoo et al. 2004), pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Martin et al. 2002a) e pelo papilomavirus humano (HPV) (Carrington et al. 2005) já foram descritas. Combinações dos genes de KIR-HLA que parecem favorecer a inibição de células NK têm sido associadas com a pré-eclampsia (Hiby et al. 2004), enquanto as que parecem favorecer a ativação dessas células podem ter sido selecionadas para melhorar a resistência aos vírus e a doenças malignas (Naumova et al. 2005),

Noventa e seis pacientes com psoríase vulgar e 50 controles japoneses foram avaliados quanto à presença dos genes KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5 e KIR3DS1 (Suzuki et al. 2004). Os genes KIR2DS1 e KIR2DL5 estiveram significativamente aumentados nos pacientes com psoríase, bem como o haplótipo B dos genes KIR ($p < 0,05$).

Em relação à artrite psoriásica, foram publicados três trabalhos avaliando a associação com os genes KIR. O primeiro, publicado em 2002, estudou 366 pacientes com artrite psoriásica e 299 controles no Canadá (Martin et al. 2002b). O HLA-Cw*0602 ($p = 0,0005$) e o HLA-B*27 ($p = 0,0002$) foram mais comuns nos pacientes com psoríase. O KIR2DS1 esteve mais presente no grupo da artrite do que no grupo controle, e representou o gene com maior diferença entre os dois grupos ($p = 0,004$). Entretanto, a análise multivariada mostrou que a frequência de indivíduos positivos para o KIR2DS1 e para o ligante do KIR inibitório correspondente (KIR2DL1) foi semelhante nos dois grupos, enquanto indivíduos KIR2DS1 positivos, porém sem o ligante do KIR inibitório, têm maior susceptibilidade à artrite psoriásica ($p = 0,000001$). O mesmo aconteceu nos pacientes KIR2DS2 positivos, em relação à presença do ligante para o KIR inibitório correspondente, neste caso o KIR2DL2/3.

Em 2004, o mesmo grupo (Nelson et al. 2004) publicou um estudo usando a mesma casuística do anterior, porém considerando a presença não apenas de ligantes para os KIR inibitórios correspondentes, mas sim de ligantes de KIR inibitórios, já que qualquer combinação de KIR inibitório com o ligante HLA pode levar a um estado de inibição. Observaram que indivíduos homocigotos para um

grupo Cw (1 ou 2) e positivos para KIR2DS1 e/ou KIR2DS2 eram os mais susceptíveis a desenvolver a doença. O novo modelo propõe que a susceptibilidade para desenvolver a artrite psoriásica aumenta na medida em que o genótipo KIR confere um maior perfil de ativação, em detrimento do de inibição.

Williams et al. (2005) estudaram 75 pacientes com artrite psoriásica e 90 controles caucasianos e encontraram um aumento da frequência de KIR2DS1 no grupo de pacientes em comparação com os controles ($p = 0,023$).

4 Metodologia

4.1 Desenho do estudo

Estudo observacional, do tipo caso-controle, em que foram comparadas as tipificações dos antígenos leucocitários humanos (HLA) e dos receptores tipo imunoglobulina de células natural killer (KIR) de pacientes com psoríase vulgar, com ou sem artrite, com as de indivíduos sem a doença, pareados em relação à idade, sexo e origem étnica. Os pacientes estudados foram provenientes dos ambulatórios de dermatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho e foram avaliados quanto à elegibilidade de acordo com a ordem de chegada ao ambulatório.

O estudo foi aprovado pelo CONEP e pelos comitês de ética do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, do Hospital Universitário Pedro Ernesto e do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira de Cavalcanti (HEMORIO).

4.2 Cálculo do tamanho amostral

O tamanho amostral foi calculado utilizando-se o Programa Epi-Info 6 (módulo StatCalc), segundo os parâmetros: intervalo de confiança de 95%, poder do teste de 80%, tamanho da amostra de 2 : 1 (controles: casos), frequência esperada da exposição nos controles de 7,5% e nos casos, de 25,40%. O odds ratio calculado foi 4,2. Assim, o tamanho da amostra foi calculado em 54 pacientes e 108 controles. Devido ao caráter exploratório e gerador de hipóteses do estudo optou-se pela não realização do ajuste para múltiplos testes do valor de alfa (Rothman 1990; Bland & Altman 1995).

4.3 Pacientes

Cinquenta e cinco pacientes foram incluídos de abril a agosto de 2005 após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 1), de acordo com os seguintes critérios:

Critérios de inclusão:

1. Diagnóstico clínico e/ou histopatológico de psoríase vulgar, com ou sem artrite. O diagnóstico clínico foi baseado na presença de lesões eritematodescamativas localizadas principalmente nos cotovelos, joelhos, região sacra e/ou couro cabeludo, podendo acometer também qualquer outra área do tegumento. Contribuíram também para a caracterização do quadro alterações ungueais como *pitting* ungueal, onicólise e/ou espessamento da lâmina ungueal. O diagnóstico histopatológico de psoríase baseou-se na presença de acantose regular, papilomatose, adelgaçamento da porção suprapapilar da epiderme, hiperkeratose e parakeratose, hipogranulose, ectasia de capilares na derme papilar, infiltrado inflamatório perivascular superficial, microabscesso de Munro e pústula espongiiforme de Kogoj. A artrite foi caracterizada pela presença ou história pregressa documentada de dor, calor, rubor e edema nas articulações, presença de deformidades ou seqüelas (por exemplo, anquilose ou artrite mutilante) ou por alterações radiológicas compatíveis com a artrite psoriásica como erosões e diminuição da superfície e do espaço articular.
2. Ambos os sexos;
3. Maiores de 18 anos de idade;

4. História de mais de 5 anos de doença, acompanhados nos ambulatórios de dermatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho;
5. Não houve restrição em relação ao PASI (Psoriasis Activity and Severity Index);
6. Não houve restrição em relação ao tratamento prévio ou no momento da inclusão do paciente no estudo.

Critérios de exclusão:

Foram utilizados como critérios de exclusão fatores que interferissem no curso da doença ou pudessem agir como fatores de confusão, a saber:

1. História pregressa ou atual ou evidência clínica de doenças autoimunes, metabólicas e cardiovasculares, tais como hipertensão arterial sistêmica, diabetes tipos I e II, dislipidemias, hipo e hipertireoidismo e doença inflamatória intestinal;
2. Infecções pelos vírus de hepatite B ou C ou pelo HIV;
3. Uso de medicação sistêmica, que não para psoríase, como antidepressivos ou anti-hipertensivos.
4. História familiar de doenças autoimunes (lupus eritematoso, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal, diabetes mellitus tipo I).

4.4 Controles

Cento e trinta e quatro controles foram selecionados em três campanhas para cadastramento de doadores de medula óssea realizadas no estado do Rio de Janeiro em junho e agosto de 2005. Eram candidatos a doadores voluntários,

sadios, com idade maior que 18 anos e menor que 55 anos. Foram incluídos após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 2).

Critérios de inclusão:

1. Ambos os sexos;
2. Concordância em participar do estudo;
3. Ausência de história pregressa e atual de psoríase vulgar e de artrite de qualquer etiologia.

Critérios de exclusão:

1. História pregressa ou atual de psoríase vulgar;
2. História pregressa ou atual de doenças autoimunes, metabólicas e cardiovasculares, tais como hipertensão arterial sistêmica, diabetes tipos I e II, dislipidemias, hipo e hipertireoidismo e doença inflamatória intestinal;
3. História familiar de psoríase;
4. História familiar de doenças autoimunes (lupus eritematoso, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal, diabetes mellitus tipo I).

4.5 Métodos

4.5.1 Pacientes e controles

Pacientes e controles responderam a um questionário sobre a origem étnica (anexo 3), que incluiu dados sobre a cor e nacionalidade dos participantes, bem como de três gerações antecessoras (pais, avós e bisavós). Com isso, pacientes e

controles foram divididos posteriormente nas seguintes categorias: brancos, mestiços/brancos, mestiços/índios, mestiços/negros e negróides.

Os pacientes foram avaliados segundo o protocolo de investigação clínica e exames clínico, laboratorial e histopatológico de acordo com protocolo (anexo 4). Os critérios usados para avaliar a gravidade da doença (evolução desfavorável) foram a história prévia de internação, o uso de tratamento sistêmico, episódios de eritrodermia e/ou a presença de artrite. O PASI (Psoriasis Activity and Severity Index) não foi usado como parâmetro de gravidade, pois muitos pacientes encontravam-se em tratamento. A psoríase foi classificada como do tipo I quando o início da doença ocorreu até os 30 anos de idade e como tipo II quando o início ocorreu a partir dos 30 anos.

Casos e controles foram pareados em relação à idade, sexo e origem étnica.

4.5.2 Tipificação do HLA e dos receptores KIR

Foram coletados 15 ml de sangue periférico de cada indivíduo. O sangue foi distribuído em tubos com EDTA e levado no mesmo dia para o laboratório de HLA da UERJ, para as tipificações HLA classes I e II e determinação dos genes KIR pela técnicas de reação em cadeia da polimerase com iniciadores (*iniciadores*) seqüência-específica (PCR-SSP) e de reação em cadeia da polimerase associada à hibridização reversa com oligonucleotídeos seqüência-específicos (PCR-RSSO) com *kits* de baixa e média resolução.

Os concentrados leucocitários (*buffy coat*), obtidos a partir da centrifugação do sangue periférico, foram congelados a -20°C até o momento da extração do DNA.

4.5.2.1 Extração do DNA

Para o isolamento do DNA foi utilizado o kit *GFX Genomic Blood DNA Purification* (Amershan Biosciences, LTD, UK). O isolamento do DNA foi feito a partir do concentrado leucocitário segundo o manual de instruções do fabricante que acompanha o produto (Amershan Biosciences, 2005).

O procedimento inicia-se com a lise dos eritrócitos, utilizando um tampão de lise, que é adicionado ao concentrado leucocitário. Para a precipitação dos leucócitos, centrifugar a 13000 rpm por 1 min (Microcentrífuga Eppendorff modelo 5415C) e remover o sobrenadante. Ressuspender totalmente as células usando um agitador tipo vórtex, adicionar a solução de extração e incubar em temperatura ambiente por 5 min. Transferir a amostra para a coluna GFX e centrifugar a 9000 rpm (Microcentrífuga Eppendorff modelo 5415C) por 1 min. Descartar, por inversão, todo o líquido do tubo coletor. Adicionar a solução de lavagem na coluna GFX e centrifugar a 13000 rpm (Microcentrífuga Eppendorff modelo 5415C) por 3 min. Para a eluição do DNA, adicionar água ultra-pura pré-aquecida diretamente sobre a matriz de fibras de vidro da coluna GFX, incubar à temperatura ambiente por 1 min, centrifugar a 9000 rpm (Microcentrífuga Eppendorff modelo 5415C) por 1 min para recolher o DNA purificado.

4.5.2.2 PCR – SSP

Este exame consiste em um método para tipificação HLA classe I e/ou II pela reação em cadeia da polimerase com iniciadores seqüência-específica (PCR-SSP). A metodologia de PCR-SSP baseia-se no princípio de que iniciadores de oligonucleotídeos com correspondência completa são utilizados de forma mais eficaz para amplificar uma seqüência-alvo pela *Taq* DNA polimerase recombinante do que um iniciador de oligonucleotídeos sem correspondência. Os pares de iniciadores são concebidos para apresentar apenas correspondências perfeitas com um único alelo ou grupo de alelos.

confirmar a integridade da reação de PCR. Na presença de uma banda positiva (amplificação específica de um alelo ou grupo alélico de HLA), o produto do par de *iniciadores* de controle interno pode ser fraco ou estar ausente, dadas as diferenças de concentração e de temperaturas de fusão entre os pares de iniciadores específicos e o par de *iniciadores* de controle interno.

Os fragmentos de DNA amplificados dos pares de iniciadores de HLA específicos são menores do que o produto do par de iniciadores de controle interno, mas maiores do que a banda de iniciadores difusa e não incorporada. Por conseguinte, uma reação positiva para um alelo ou grupo de alelos de HLA específico é vista no gel como um fragmento de DNA amplificado entre a banda do produto do controle interno e a banda do iniciador não incorporado.

Para a preparação das amostras, a amostra de DNA para a análise de PCR-SSP deverá ser novamente suspensa em água ultra-pura estéril. Submeter as amostras de DNA ao agitador para misturar. Adicionar 1 µl de água ultra-pura ao tubo de reação com controle negativo na placa de conjuntos de iniciadores. Adicionar *Taq* polimerase ao tubo contendo uma mistura de desoxirribonucleotídeos e tampão. Pipetar 9 µl desta mistura (desoxirribonucleotídeos, tampão e *Taq* polimerase) para o tubo de reação de controle negativo. Adicionar a amostra de DNA ao tubo contendo os desoxirribonucleotídeos, tampão e a *Taq* polimerase. Usando uma micropipeta, colocar uma alíquota de 10 µl da mistura em cada tubo de reação, exceto no tubo de reação de controle negativo na placa de conjuntos de iniciadores. Acoplar a placa micro SSP ao termociclador (Perkin Elmer 9600). Inicia-se o programa de PCR. O número de ciclos, a temperatura e o tempo de cada passo de

acordo com o protocolo do fabricante (One Lambda, INC, CA, USA) estão na tabela 4-1.

<i>Número de Ciclos</i>	<i>Passo</i>	<i>Temperatura (C⁰)</i>	<i>Tempo (seg)</i>
1	1	96	130
	2	63	60
9	1	96	10
	2	63	60
20	1	96	10
	2	59	50
	3	72	30
Fim	1	4	---

Tabela 4-1: Parâmetros do termociclador para o programa de PCR-SSP.

Para a eletroforese em gel de agarose, adicionar uma solução com tampão e brometo de etídio para encher todos os poços do gel. Transferir 10 µl do material amplificado de cada poço para o gel de agarose a 2,5%. Submeter o material a uma corrida eletroforética a 150V por 3 a 5 minutos.

Na interpretação dos resultados, a banda de controle interno e a banda dos iniciadores não incorporados servem como marcadores de tamanho, sendo consideradas positivas quaisquer bandas visíveis entre os dois marcadores de tamanho. A ausência da banda de controle interno em uma reação aparentemente negativa invalida a interpretação do teste. A presença de banda positiva nas posições correspondentes aos controles negativos invalida o teste por indicar contaminação. A banda positiva encontra-se entre a banda de controle interno e a banda formada pelos *iniciadores* não incorporados.

O teste deve ser interpretado através da análise das bandas de tipificação positivas, que é feita com o auxílio das tabelas que acompanham os kits (worksheets) e com um software de interpretação (DNA LMT – One Lambda, INC, CA, USA).

4.5.2.3 PCR – RSSO

A técnica de PCR-RSSO (reação em cadeia da polimerase associada à hibridização reversa com oligonucleotídeos seqüência-específicos) permite a identificação dos alelos HLA e dos genes KIR pela utilização de sondas de oligonucleotídeos seqüência-específicos ligadas a microesferas fluorescentes específicas, no DNA genômico previamente amplificado utilizando *iniciadores* adequados. Após a etapa de amplificação, os fragmentos de DNA são separados por eletroforese em gel de agarose e visualizados por coloração com brometo de etídio e exposição à luz ultra-violeta.

O produto da PCR é desnaturado e neutralizado, permitindo assim a re-hibridização com sondas de oligonucleotídeos seqüência-específicas imobilizadas em microesferas e posteriormente marcadas com estreptavidina conjugada com R-ficoeritrina (SAPE). A análise é realizada em um citômetro de fluxo utilizando o analisador LabScan 100 (plataforma LUMINEX[®], One Lambda, INC, CA, USA), que identifica a intensidade de fluorescência da ficoeritrina em cada microesfera.

Amplificação do DNA

As amostras de DNA foram amplificadas pela reação da polimerase em cadeia, como já descrito anteriormente, para cada locus HLA específico (A, B, C, DRB1 e DQB1). Para os genes KIR, foram utilizadas três misturas de iniciadores: Exon 3 (grupo 1), Exon 5 (grupo 2), e Exon 7-9 (grupo 3).

Após a amplificação das amostras, os fragmentos de DNA foram separados por eletroforese em gel de agarose e visualizados por coloração com brometo de etídio e exposição a luz ultra-violeta.

Hibridização das amostras:

Transferir 3 µl de material amplificado de cada locus para uma placa de silicone de 96 poços. Adicionar sobre cada amostra 1,25 µl de tampão de desnaturação. Agitar a placa no agitador tipo vórtex por 20 segundos. Incubar o material por 10 minutos à temperatura ambiente. Adicionar 2,5µl de tampão de neutralização. Descansar a placa em suporte de gelo. Misturar a solução com as pérolas de hibridização (“*beads*”), referentes a cada locus, ao tampão de hibridização. Adicionar esta mistura em cada poço. Transferir a placa para o termociclador (Perkin Elmer 9600) pré-aquecido (60°C), após selecionar o programa referente à etapa de hibridização.

Para a lavagem do material hibridizado, adicionar um tampão de lavagem e removê-lo por inversão vigorosa, repetindo o procedimento até o total de 3 lavagens. Transferir o material para a placa de ELISA. Adicionar a mistura de SAPE à placa e acoplá-la ao termociclador Perkin Elmer 9600 por 5 minutos. Repetir a lavagem.

A intensidade fluorescente (IF) captada pelo software coletor de dados da plataforma Luminex contém a IF para cada pérola por amostra. A reação positiva é definida pelo percentual de valores positivos para a sonda, maiores que os da sonda com valores de *cut-off* pré-ajustados. A reação negativa é definida como o percentual dos valores positivos menores que o valor de *cut-off*.

4.5.3 Análise estatística:

Foram utilizadas proporções ou médias com seus respectivos desvio-padrões para descrição das características dos casos e controles.

Tabelas 2x2 foram criadas para a análise comparativa das proporções de cada grupo alélico determinado, em pacientes e controles. As diferenças entre os grupos foram avaliadas através do teste de *qui-quadrado* (χ^2) ou do teste *exato de Fisher*, considerando como significativo um $p < 0,05$. A análise da associação entre a presença dos grupos alélicos determinados e a presença ou não de doença foi feita através da estimativa da razão de chances (RC) e intervalo de confiança a 95%, pelo método de Mantel e Haenzel. Os mesmos métodos foram empregados para o cálculo das freqüências dos genes KIR.

Para a pesquisa dos haplótipos HLA foi usado um programa de análise estatística de genética em populações, o Arlequin versão 3.01. Os haplótipos mais comuns no grupo de pacientes foram comparados com os mesmos no grupo controle, utilizando o Programa Instat 3. Para a comparação das freqüências dos haplótipos nos dois grupos foi empregado o teste exato de Fisher. A razão de chances (RC), o intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e o nível de significância estatística (valor p) foram calculados para cada haplótipo presente em pelo menos 3 pacientes. O critério de determinação de significância foi de 5% e o poder do teste foi de 80%.

5 Resultados

5.1 Casuística

Foram incluídos 55 pacientes com psoríase vulgar e 134 controles. A idade média dos pacientes foi de 42,4 anos (dp 10,5262) enquanto a mediana foi de 43,0 anos (19,0 - 63,0 anos). A idade média dos controles foi de 40,5 anos (dp 8,5423) e a mediana 41,5 anos (22,0 - 59,0 anos). Houve 23 (41,8%) pacientes do sexo feminino e 32 (58,2%) do sexo masculino e no grupo controle, 65 (48,5%) do sexo feminino e 69 (51,5%) do sexo masculino. A tabela 5-1 mostra a distribuição dos casos e controles em relação à idade, sexo e etnia.

Tabela 5-1: Distribuição dos casos e controles em relação à idade, sexo e etnia.

	Psoríase vulgar (n=55)	Controles (n=134)	<i>p</i>
Idade média (dp)	42,4 anos (\pm 10,5262)	40,5 anos (\pm 8,5423)	0,2075
Mediana	43,0 anos (19,0-63,0)	41,5 anos (22,0-59,0)	
Sexo			
Masculino	32 (58,2%)	69 (51,5%)	0,4036
Feminino	23 (41,8%)	65 (48,5%)	
Etnia			
Branco	10 (18,2%)	36 (26,9%)	
Mestiço/Branco	18 (32,7%)	35 (26,1%)	
Mestiço/Índio	11 (20%)	19 (14,2%)	0,5028
Mestiço/Negro	7 (12,7%)	24 (17,9%)	
Negróide	9 (16,4%)	20 (14,9%)	

dp: desvio padrão.

Os grupos mostraram-se comparáveis ($p > 0,05$) em relação à idade, sexo e origem étnica.

Em relação aos pacientes, alguns aspectos clínicos podem ser descritos para melhor caracterizá-los. Dezesete (30,9%) tiveram história familiar positiva para psoríase, 18 (32,7%) já foram internados por causa da psoríase, 24 (43,6%) tiveram um ou mais episódios de eritrodermia (psoríase eritrodérmica) e 43 (78,2%) usam ou já usaram algum tratamento sistêmico para a doença. Dos 43 com história de tratamento sistêmico, 19 têm artrite e 23, história de eritrodermia, sendo que apenas 10 tinham história de eritrodermia e artrite. As principais características clínico-epidemiológicas dos pacientes com psoríase estão resumidas na tabela 5-2.

A idade média do início da doença foi de 26,56 anos e o tempo médio de evolução da doença foi de 16,90 anos. Em 33 (60,0%) pacientes a psoríase teve início antes dos 30 anos (psoríase do tipo I), sendo a idade média do início da doença de 19,09 anos. Nos outros 22 (40,0%), ela surgiu a partir dos 30 anos (psoríase do tipo II), com idade média do início da doença de 37,77 anos. A história familiar de psoríase foi positiva em 10 (30,3%) pacientes com psoríase do tipo I e em 7 (31,8%) pacientes com psoríase do tipo II ($p=0,90517$) (Tabela 5-3).

A artrite psoriásica foi encontrada em 20 (36,4%) dos pacientes incluídos no estudo, 11 do sexo masculino e 9 do sexo feminino. O tempo médio de evolução da artrite foi de 11,05 anos. Quanto à origem étnica, 7 (35%) eram mestiços/brancos, 7 (35%) mestiços/índios, 2 (10%) brancos, 2 (10%) mestiços/negros e 2 (10%) negróides. Dos 20 pacientes, 15 (75%) apresentaram acometimento periférico (13, poliartrite e 2, oligoartrite) e 5 (25%), comprometimento axial. Destes, 2 pacientes tiveram o diagnóstico de sacroileite e espondilite, 2 apenas de espondilite e 1 de espondilite e artrite erosiva. Nenhum paciente apresentou apenas artrite de interfalangeanas distais.

Tabela 5-2: Principais características clínico-epidemiológicas dos pacientes com psoríase vulgar

<i>Paciente</i>	<i>Sexo</i>	<i>Idade</i>	<i>Origem Étnica</i>	<i>Tipo Psoríase</i>	<i>Idade Início (anos)</i>	<i>Tempo Evolução (anos)</i>	<i>HF</i>	<i>Artrite</i>	<i>Eritrodermia</i>	<i>Internação</i>	<i>TTO Sistêmico</i>	<i>PASI</i>
1	F	46	mest/br	I	18	28	S	S	N	N	S	8,9
2	M	36	br	I	17	19	S	N	N	N	S	2,2
3	M	47	br	II	30	17	S	N	S	N	S	31,8
4	M	38	br	II	32	6	N	S	S	S	S	22,0
5	F	19	mest/neg	I	14	5	N	N	N	N	S	19,2
6	F	34	mest/neg	I	19	25	N	N	N	N	S	2,1
7	M	53	negróide	II	43	10	N	N	N	N	S	12,3
8	M	46	mest/ind	I	19	26	N	S	S	S	S	10,8
9	M	43	mest/ind	II	36	7	S	N	N	N	N	6,8
10	M	31	mest/br	I	10	21	S	N	N	N	N	16,6
11	M	37	mest/br	II	30	7	N	N	N	N	N	0,9
12	F	28	negróide	I	6	22	N	N	S	S	S	1,0
13	M	49	mest/neg	II	34	15	S	S	S	N	S	2,8
14	M	51	mest/br	I	25	26	N	N	S	N	S	18,4
15	F	50	br	II	33	17	N	N	N	N	N	0,6
16	F	53	mest/br	I	29	27	N	N	N	N	S	8,7
17	F	32	negróide	I	22	10	N	N	N	N	N	9,9
18	F	54	mest/br	II	34	20	S	S	S	N	S	16,4
19	F	42	mest/br	I	9	33	S	S	N	S	S	2,1
20	F	24	mest/ind	I	14	10	S	S	N	N	S	22,6
21	M	44	br	I	9	35	S	N	S	N	S	6,0
22	M	29	mest/br	I	20	9	N	N	S	S	S	4,6
23	M	60	mest/br	II	50	10	S	N	S	S	S	34,8
24	F	61	mest/ind	II	53	8	N	N	N	N	N	2,3
25	M	52	br	II	47	5	N	N	N	N	S	5,1
26	M	45	mest/neg	I	22	45	N	N	S	S	S	13,6
27	M	56	mest/br	II	32	24	S	N	S	S	S	12,8
28	M	41	mest/br	II	36	5	N	S	N	N	S	10,3
29	M	59	mest/ind	II	35	24	N	S	N	S	S	0,0
30	M	40	br	II	30	10	N	N	N	N	S	5,0
31	M	44	br	II	34	10	N	S	N	N	S	27,2

32	M	34	mest/br	I	21	13	N	N	S	N	S	20,0
33	F	38	negróide	I	20	18	N	N	N	N	S	1,5
34	M	43	mest/ind	II	30	13	S	S	N	N	S	3,0
35	M	30	negróide	I	25	5	N	N	S	S	S	15,2
36	F	48	br	II	40	8	N	N	N	N	N	1,8
37	M	35	mest/ind	I	25	35	N	S	S	S	S	9,6
38	F	56	mest/br	II	50	6	N	N	N	N	N	3,6
39	M	39	br	I	19	20	N	N	S	S	S	2,7
40	M	34	mest/ind	I	24	10	N	N	N	N	S	25,5
41	M	29	mest/br	I	19	10	N	N	S	N	S	15,0
42	F	46	mest/br	II	31	15	N	N	N	N	N	3,0
43	F	63	negróide	II	56	7	N	S	N	S	S	7,8
44	F	58	mest/br	I	24	35	S	S	S	N	N	3,3
45	F	33	mest/ind	I	27	6	N	S	N	N	S	4,8
46	F	40	mest/ind	I	20	20	S	S	N	N	S	12
47	M	63	mest/br	I	28	35	S	S	S	S	S	0,6
48	M	31	negróide	I	23	8	N	N	N	N	N	3,0
49	M	44	mest/br	I	6	37	N	S	S	S	S	17,4
50	M	43	mest/neg	I	25	18	N	S	S	S	S	12,8
51	F	30	mest/neg	I	24	6	S	N	N	N	S	21
52	F	40	mest/ind	II	35	5	N	N	S	N	S	3,0
53	M	28	mest/neg	I	14	14	N	N	S	S	S	10,8
54	F	38	negróide	I	18	20	N	N	N	N	N	2,8
55	F	45	negróide	I	15	30	N	S	S	S	S	0,0

HF: história familiar; TTO: tratamento; M: masculino; F: feminino; br: branco; mest: mestiço; ind: índio; neg: negro; S: sim; N: não.

Tabela 5-3: Características clínico-epidemiológicas dos pacientes com psoríase do tipo I e II

	<i>Tipo I (n= 33)</i>	<i>Tipo II (n=22)</i>	<i>p</i>	<i>RC (IC)</i>
Idade média do início da doença—anos (dp)	19,09 (6,1764)	37,77 (8,2285)	-	-
Tempo médio de evolução—anos (dp)	20,6363 (11, 019)	11,318 (5,987)	0,0007	-
História familiar	10 (30,3%)	7 (31,8%)	0,90604	1,0733 (0,3350-3,4394)
Artrite	12 (36,3%)	8 (36,3%)	1,0000	1,0000 (0,3258-3,0693)
Internação	13 (39,3%)	5 (22,7%)	0,20009	0,4525 (0,1339-1,5286)
Eritrodermia	17 (51,5%)	7 (31,8%)	0,15277	0,4392 (0,1423-1,3561)
Tratamento sistêmico	28 (84,8%)	15 (68,1%)	0,14629	0,3827 (0,1035-1,4151)

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

Os dois grupos mostraram-se semelhantes ($p > 0,05$) em relação à história familiar e aos critérios usados para avaliar a gravidade da doença.

5.2 *Freqüência dos grupos alélicos HLA*

De todos os grupos alélicos estudados, dois mostraram-se aumentados no grupo dos pacientes com psoríase em relação aos controles de maneira estatisticamente significativa. O HLA-B*57 esteve presente em 13 (23,6%) pacientes e em 10 (7,5%) controles ($p=0,00200$, $RC= 3,8381$ $IC=1,5673 -9,3988$) e o HLA-Cw*06 esteve presente em 16 (29,1%) pacientes e em 22 (16,4%) dos controles ($p= 0,04832$, $RC=2,0886$, $IC= 0,9965 -4,3773$).

O grupo alélico HLA-B*07 esteve presente com maior freqüência no grupo de controles, com significância estatística: foi positivo em 19 (14,2%) controles e em 2 (3,6%) pacientes ($p=0,02599$, $RC= 0,2284$, $IC=0,0513-1,0164$).

As tabelas 5-4 a 5-8 mostram as freqüências de todos os grupos alélicos estudados nos pacientes e controles.

Tabela 5-4: Frequência dos grupos alélicos HLA-A nos pacientes e controles

<i>HLA-A*</i>	<i>Psoríase vulgar</i> <i>n = 110</i>	<i>Controles</i> <i>n = 268</i>	<i>p</i>	<i>RC (IC)</i>
01	10 (18,2%)	22 (16,4%)	0,76898	1,1313 (0,4964-2,5781)
02	27 (49,1%)	56 (41,8%)	0,35834	1,3431 (0,7151-2,5227)
03	9 (16,4%)	23 (17,2%)	0,89395	0,9442 (0,4061-2,1955)
11	5 (9,1%)	16 (11,9%)	0,57127	0,737 (0,2562-2,1229)
23	7 (12,7%)	20 (14,9%)	0,69486	0,8313 (0,3298-2,0952)
24	8 (14,5%)	22 (16,4%)	0,74898	0,8665 (0,3602-2,0849)
25	3 (5,5%)	6 (4,5%)	0,51538	1,2308 (0,2966-5,1067)
26	2 (3,6%)	10 (7,5%)	0,26665	0,4679 (0,0991-2,2088)
29	1 (1,8%)	10 (7,5%)	0,11805	0,2296 (0,0287-1,8387)
30	5 (9,1%)	15(11,2%)	0,66942	0,7933 (0,2736-2,3006)
31	4 (7,3%)	7(5,2%)	0,40329	1,4230 (0,3993-5,0707)
32	3 (5,5%)	10 (7,5%)	0,44464	0,7154 (0,1892-2,7056)
33	5 (9,1%)	9 (6,7%)	0,38443	1,3889 (0,4436-4,3487)
34	4 (7,3%)	3 (2,2%)	0,11051	3,4248 (0,7405-15,8407)
36	1 (1,8%)	0	0,29100	Indefinido
43	0	0	-	-
66	1 (1,8%)	5 (3,7%)	0,43711	0,4778 (0,0545-4,1864)
68	9 (16,4%)	14(10,4%)	0,25849	1,6770 (0,6793-4,1403)
69	0	1(0,7%)	0,35449	Indefinido
74	1 (1,8%)	7(5,2%)	0,26769	0,3360 (0,0404-2,7974)
80	1 (1,8%)	0	0,29100	Indefinido

RC: Razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-5: Frequência dos grupos alélicos HLA-B nos pacientes e controles

HLA-B*	Psoríase vulgar n = 110	Controles N = 268	p	RC (IC)
07	2 (3,6%)	19 (14,2%)	0,02599	0,2284 (0,0513-1,0164)
08	3 (5,5%)	8 (6,0%)	0,59670	0,9087 (0,2319-3,5605)
13	3 (5,5%)	2 (1,5%)	0,148511	3,8077 (0,6183-23,448)
14	10 (18,2%)	14 (10,4%)	0,14691	1,9048 (0,7894-4,5962)
15	11 (20,0%)	22 (16,4%)	0,55571	1,2727 (0,5699-2,8422)
18	3 (5,5%)	14 (10,4%)	0,21286	0,4945 (0,1363-1,7942)
27	1 (1,8%)	10 (7,5%)	0,06906	0,2296 (0,0287-1,8387)
35	11 (20,0%)	38 (28,4%)	0,23365	0,6316 (0,2954-1,3505)
37	3 (5,5%)	2 (1,5%)	0,14851	3,8077 (0,6183-23,4484)
38	5 (9,1%)	6 (4,5%)	0,18461	2,1333 (0,6229-7,3061)
39	1 (1,8%)	11 (8,2%)	0,08832	0,2071 (0,0261-1,6443)
40	3 (5,5%)	4 (3,0%)	0,33105	1,8750 (0,4055-8,6689)
41	0	3 (2,2%)	0,35405	0 (Indefinido)
42	1 (1,8%)	8 (6,0%)	0,20571	0,2917 (0,0356 -2,3894)
44	8 (14,5%)	23 (17,2%)	0,65876	0,8215 (0,3428-1,9683)
45	1(1,8%)	2 (1,5%)	0,64594	1,2222 (0,1085-13,7627)
47	0	0	-	-
48	0	1 (0,7%)	0,70899	0 (Indefinido)
49	5 (9,1%)	12 (9,0%)	0,58617	1,0167 (0,3405-3,0359)
50	1 (1,8%)	6 (4,5%)	0,34437	0,3951 (0,0464 -3,3605)
51	6 (10,9%)	23 (17,2%)	0,27846	0,5909 (0,2264-1,5423)
52	2 (3,6%)	4 (3,0%)	0,56288	1,2264(0,2180-6,8985)
53	4 (7,3%)	6 (4,5%)	0,32377	1,6732(0,4532-6,1773)
54	0	0	-	-
55	2 (3,6%)	2 (1,5%)	0,33186	2,4906 (0,3419 -18,142)
56	0	1 (0,7%)	0,70899	0 (Indefinido)
57	13 (23,6%)	10 (7,5%)	0,00200	3,8381 (1,5673 -9,3988)
58	6 (10,9%)	7 (5,2%)	0,13937	2,2216 (0,7111 -6,9406)
59	0	0	-	-
67	0	0	-	-
73	0	0	-	-
78	0	0	-	-
81	0	2 (1,5%)	0,50157	0 (Indefinido)
82	0	0	-	-

RC: Razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-6: Frequência dos grupos alélicos HLA-Cw nos pacientes e controles

<i>HLA-Cw*</i>	<i>Psoríase vulgar</i> <i>n = 110</i>	<i>Controles</i> <i>n = 268</i>	<i>p</i>	<i>RC (IC)</i>
01	3 (5,5%)	7 (5,2%)	0,59750	1,0467 (0,2606 -4,2044)
02	3 (5,5%)	19 (14,2%)	0,08936	0,3492 (0,0990 -1,2322)
03	9 (16,4%)	17 (12,7%)	0,50500	1,3465 (0,5602 -3,2367)
04	13 (23,6%)	47 (35,1%)	0,12491	0,5729 (0,2800 -1,1726)
05	5 (9,1%)	9 (6,7%)	0,38443	1,3889 (0,4436-4,3487)
06	16 (29,1%)	22 (16,4%)	0,04832	2,0886 (0,9965 -4,3773)
07	18 (32,7%)	49 (36,6%)	0,61618	0,8439 (0,4344 -1,6393)
08	10 (18,2%)	14 (10,4%)	0,14691	1,9048 (0,7894 -4,5962)
10	10 (18,2%)	23 (17,2%)	0,86706	1,0725 (0,4727 -2,4332)
14	4 (7,3%)	5 (3,7%)	0,24593	2,0235 (0,5224 -7,8384)
15	3 (5,5%)	14 (10,4%)	0,21286	0,4945 (0,1363 -1,7942)
16	3 (5,5%)	12 (9,0%)	0,31463	0,5865 (0,1589 -2,1655)
17	1 (1,8%)	10 (7,5%)	0,11805	0,2296 (0,0287 -1,8387)
18	4 (7,3%)	2 (1,5%)	0,06048	5,1765 (0,9196 -29,137)

RC: Razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-7: Frequência dos grupos alélicos HLA-DRB1 nos pacientes e controles

<i>HLA-DRB1*</i>	<i>Psoríase vulgar</i> <i>n = 110</i>	<i>Controles</i> <i>n = 268</i>	<i>p</i>	<i>RC (IC)</i>
01	12 (21,8%)	33 (24,6%)	0,68049	0,8541 (0,4031 -1,8099)
03	10 (18,2%)	24 (17,9%)	0,96480	1,0185 (0,4508 -2,3014)
04	12 (21,8%)	29 (21,6%)	0,97867	1,0104 (0,4723 -2,1619)
07	21 (38,2%)	42 (31,3%)	0,36499	1,3529 (0,7027 -2,6048)
08	5 (9,1%)	22 (16,4%)	0,19103	0,509 (0,1824 -1,4213)
09	0	4 (3,0%)	0,24936	0 (Indefinido)
10	4 (7,3%)	9 (6,7%)	0,55535	1,0893 (0,3210 -3,6972)
11	11 (20,0%)	28 (20,9%)	0,89009	0,9464 (0,4334 -2,0667)
12	2 (3,6%)	3 (2,2%)	0,45410	1,6478 (0,2677 -10,144)
13	15 (27,3%)	22 (16,4%)	0,08758	1,9091 (0,9027 -4,0377)
14	4 (7,3%)	5 (3,7%)	0,24593	2,0235 (0,5224 -7,8384)
15	6 (10,9%)	22 (16,4%)	0,33287	0,6234 (0,2379 -1,6331)
16	2 (3,6%)	12 (9,0%)	0,16879	0,3836 (0,0830 -1,7741)

RC: Razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-8: Freqüência dos grupos alélicos HLA-DQB1 nos pacientes e controles

<i>HLA-DQB1*</i>	<i>Psoríase vulgar</i> <i>n = 110</i>	<i>Controles</i> <i>n = 268</i>	<i>p</i>	<i>RC (IC)</i>
02	23 (41,8%)	54 (40,3%)	0,84685	1,0648 (0,5629-2,0141)
03	24 (43,6%)	62 (46,3%)	0,43361	0,8991 (0,4779 -1,6913)
04	4 (7,3%)	20 (14,9%)	0,15121	0,4471 (0,1454 -1,3745)
05	25 (45,5%)	55 (41,0%)	0,57729	1,1970 (0,6358 -2,2533)
06	20 (36,4%)	41 (30,6%)	0,44116	1,2962 (0,6693 -2,5102)

RC: Razão de chances; IC: intervalo de confiança

Em relação aos pacientes com artrite psoríásica, foram encontrados alguns alelos de susceptibilidade e outros de proteção. O HLA-B*57 esteve novamente presente de maneira estatisticamente significativa no grupo de pacientes ($p=0,0010493305$, $RC=6,6769$ $IC=2,1736 - 20,5099$). O HLA-Cw*18 também esteve aumentado de maneira significativa nos grupo de pacientes com artrite ($p=0,0026978977$, $RC=16,5000$, $IC=2,7967 - 97,3486$). O HLA-B*51 foi considerado como de proteção pois esteve presente em 23 (17,2%) controles e em nenhum paciente ($p=0,0309950651$, $RC= 0,0000$, $IC=Indefinido$). Apenas 1 paciente foi positivo para HLA-B*27; sendo ele um dos cinco pacientes com envolvimento axial (espondilite).

Quando os pacientes foram divididos em relação à idade do início da doença (antes e depois dos 30 anos), o HLA-B*57 e o HLA-Cw*06 mantiveram-se significativamente presentes nos pacientes com o tipo I em comparação aos controles ($p=0,0002958858$, $RC=5,3913$, $IC=2,0173-14,4083$ e $p=0,0108075985$, $RC=2,9091$, $IC=1,2511-6,7641$, respectivamente), ambos com significância maior do que a vista em todo o grupo de pacientes quando comparados aos controles. O

grupo alélico HLA-DRB1*13 esteve presente de maneira estatisticamente significativa nos pacientes com psoríase do tipo I apenas ($p=0,0108075985$, $RC=2,9091$, $IC=1,2511-6,7641$). Nos pacientes do tipo II, o grupo alélico HLA-B*14 esteve significativamente aumentado em relação aos controles ($p=0,0039573385$, $RC=4,8980$, $IC=1,7485-13,7203$), assim como o HLA-Cw*08 ($p=0,0134889571$, $RC=4,0000$, $IC=1,3939-11,4786$). Os grupos alélicos HLA-B*57 e HLA-Cw*06 não estiveram presentes de maneira estatisticamente significativa nos pacientes do tipo II. Nos pacientes com história familiar positiva, não houve nenhum grupo alélico estatisticamente significativo.

O HLA-B*57 foi mais freqüente nos pacientes com história de psoríase eritrodérmica ($p= 0,0054885048$, $RC= 5,1059$, $IC= 1,7153- 15,1990$), assim como o HLA-Cw*06 ($p= 0,0215894577$, $RC= 3,0545$, $IC= 1,1880- 7,8540$). O HLA-B*57 esteve aumentado também nos pacientes com história de internação pela psoríase ($p= 0,0009478272$, $RC= 7,8909$, $IC= 2,5087- 24,8200$) e naqueles com história de uso de tratamento sistêmico para a doença ($p= 0,0001128264$, $RC= 5,3733$, $IC= 2,1504- 13,4268$).

5.3 Haplótipos HLA

O haplótipo HLA-A*02 B*57 Cw*06 DRB1*07 DQB1*03 foi o mais comum, porém esteve presente em apenas 4 (3,6%) pacientes e em nenhum controle ($p= 0,0069$, $RC= 3,528$, $IC= 3,003-4,145$). Outros dois haplótipos estiveram presentes em 3 (2,7%) pacientes e em nenhum controle ($p=0,0242$, $RR= 3,505$, $IC= 2,986-4,114$): HLA-A*02 B*13 Cw*06 DRB1*07 DQB1*02 e HLA-A*02 B*14 Cw*08 DRB1*01 DQB1*05. Nove haplótipos foram encontrados em 2 (1,8%) pacientes e em nenhum controle ($p= 0,0841$, $RR = 3,481$, $IC= 2,969 - 4,083$): HLA-A*01 B*08 Cw*07

DRB1*03 DQB1*02, HLA-A*02 B*49 Cw*07 DRB1*04 DQB1*03, HLA-A*02 B*58 Cw*07 DRB1*03 DQB1*02, HLA-A*03 B*14 Cw*08 DRB1*03 DQB1*02., HLA-A*11 B*55 Cw*03 DRB1*14 DQB1*02, HLA-A*24 B*35 Cw*04 DRB1*11 DQB1*03, HLA-A*34 B*14 Cw*08 DRB1*11 DQB1*06, HLA-A*68 B*14 Cw*08 DRB1*01 DQB1*05 e HLA-A*74 B*35 Cw*04 DRB1*03 DQB1*04.

Também foram estudados haplótipos envolvendo 2 loci apenas. Alguns estiveram presentes de maneira estatisticamente significativa no grupo de pacientes. As tabelas 5-9 a 5-18 mostram os haplótipos presentes em no mínimo 3 dos 55 pacientes estudados (total de 110 haplótipos), comparados com o grupo controle (total de 268 haplótipos).

Tabela 5-9: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-B*

A*	B*	Pacientes n=110	Controles n=268	p	RC	IC
2	44	6	4	0,0695	2,123	1,247 – 3,613
2	35	6	9	0,3865	1,396	0,7355–2,650
2	15	4	8	0,7513	1,151	0,5088-2,604
3	14	4	0	0,0069	3,528	3,003-4,145
24	35	4	6	0,4854	1,389	0,6391-3,018
2	57	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
1	57	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
2	51	3	12	0,5681	0,6785	0,2435-1,891
2	58	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
33	14	3	5	0,6961	1,297	0,5225-3,218
2	38	3	1	0,0760	2,621	1,456-4,720
23	57	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-10: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-Cw*

A*	Cw*	Pacientes n=110	Controles N=268	p	RC	IC
2	7	8	16	0,6459	1,157	0,6418-2,085
2	12	6	2	0,0089	2,668	1,732-4,110
2	6	6	7	0,2125	1,620	0,8807-2,979
1	7	4	6	0,4854	1,389	0,6391-3,018
2	3	4	9	1,0000	1,060	0,4614-2,433
3	8	4	0	0,0069	3,528	3,003-4,145
24	6	4	2	0,0620	2,340	1,299-4,214
23	4	4	5	0,2915	1,547	0,7322-3,269
2	14	3	3	0,3628	1,738	0,7685-3,932
24	4	3	6	0,7233	1,150	0,4500-2,936
33	7	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
68	7	3	5	0,6961	1,297	0,5225-3,218

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-11: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-DRB1*

A*	DRB1*	Pacientes n=110	Controles n=268	p valor	RC	IC
2	7	11	4	0,004	2,689	1,898-3,810
2	13	7	2	0,0032	2,786	1,894-4,099
2	11	5	10	0,7731	1,152	0,5532-2,400
24	7	4	3	0,2006	2,000	1,032-3,876
2	3	3	6	0,7233	1,150	0,4500-2,936
1	10	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
24	1	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
31	4	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
33	1	3	3	0,3628	1,738	0,7685-3,932
34	11	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
68	3	3	2	0,1500	2,092	1,004-4,356

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-12: Haplótipos envolvendo os loci HLA-A* e HLA-DQB1*

A*	DQB1*	Pacientes n=110	Controles n=268	p	RC	IC
2	3	17	26	0,1124	1,424	0,9469-2,142
2	2	7	8	0,1486	1,645	0,9345-2,895
1	5	5	1	0,0090	2,952	1,993-4,373
68	3	5	1	0,0090	2,952	1,993-4,373
2	6	4	9	1,000	1,060	0,461-2,433
3	5	4	8	0,7513	1,151	0,5088-2,604
3	6	4	2	0,0620	2,340	1,299-4,214
24	5	4	5	0,2915	1,547	0,7322-3,269
23	5	4	0	0,0069	3,528	3,003-4,145
33	5	4	6	0,4854	1,389	0,6391-3,018
1	2	3	7	1,000	1,032	0,3949-2,696
11	5	3	5	0,6961	1,297	0,5225-3,218
30	2	3	5	0,6961	1,297	0,5225-3,218
34	6	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
68	6	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-13: Haplótipos envolvendo os loci HLA-B* e HLA-Cw*

B*	Cw*	Pacientes n=110	Controles n=268	p	RC	IC
#14	8	10	15	0,2544	1,412	0,8495-2,347
35	4	9	35	0,2177	0,6764	0,3693-1,239
57	6	6	8	0,2449	0,6764	0,8017-2,806
15	7	5	3	0,0494	2,202	1,257-3,859
38	12	5	6	0,3096	1,589	0,8151-3,097
58	7	5	1	0,0090	2,952	1,993-4,373
49	7	4	11	1,0000	0,9132	0,3885-2,146
51	14	4	5	0,2915	1,547	0,7322-3,269
57	18	4	0	0,0069	3,528	3,003-4,145
13	6	3	2	0,1500	2,092	1,004-4,356
15	3	3	9	1,0000	0,8551	0,3168-2,309
44	4	3	8	1,0000	0,9354	0,3517-2,488
53	4	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
37	6	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

#Nota: foi encontrado um desequilíbrio de ligação entre o HLA-B*14 e o HLA-Cw*08 no grupo de pacientes e no grupo controle.

Tabela 5-14: Haplótipos envolvendo os loci HLA-B* e HLA-DRB1*

<i>B*</i>	<i>DRB1*</i>	<i>Pacientes</i> <i>n=110</i>	<i>Controles</i> <i>n=268</i>	<i>p</i>	<i>RC</i>	<i>IC</i>
57	7	7	3	0,0080	2,501	1,614-3,874
14	1	6	11	0,5887	1,225	0,6307-2,380
15	7	6	6	0,1156	1,760	0,9765-3,171
44	4	5	5	0,1628	1,752	0,9234-3,326
35	1	4	10	1,000	0,9811	0,4220-2,281
8	3	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
14	11	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
35	3	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
38	13	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
49	13	3	1	0,0760	2,621	1,456-4,720
58	13	3	1	0,0760	2,621	1,456-4,720

Razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-15: Haplótipos envolvendo os loci HLA-B* e HLA-DQB1*

<i>B*</i>	<i>DQB1*</i>	<i>Pacientes</i> <i>n=110</i>	<i>Controles</i> <i>n=268</i>	<i>P</i>	<i>RC</i>	<i>IC</i>
35	3	7	17	1,000	1,002	0,5262-1,910
57	5	6	2	0,0089	2,668	1,732-4,110
14	5	6	12	0,7907	1,154	0,5885-2,262
15	3	5	9	0,5595	1,238	0,6019-2,547
44	2	4	9	1,000	1,060	0,461-2,433
58	6	4	3	0,2006	2,000	1,032-3,876
57	6	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
57	3	3	6	0,7233	1,150	0,4500-2,936
8	2	3	7	1,000	1,032	0,3949-2,696
13	2	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
14	2	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
18	2	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
35	2	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
38	6	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
49	6	3	2	0,1500	2,092	1,004-4,356
51	3	3	7	1,000	1,032	0,3949-2,696
58	2	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
15	6	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
15	5	3	5	0,6961	1,297	0,5225-3,218

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-16: Haplótipos envolvendo os loci HLA-Cw* e HLA-DRB1*

<i>Cw*</i>	<i>DRB1*</i>	<i>Pacientes</i> <i>n=110</i>	<i>Controles</i> <i>n=268</i>	<i>p</i>	<i>RC</i>	<i>IC</i>
6	7	8	7	0,041	1,898	1,150-3,133
12	13	6	7	0,2125	1,620	0,8807-2,979
6	4	5	0	0,0020	3,552	3,021-4,178
7	3	5	10	0,7731	1,152	0,5532-2,400
8	1	5	11	0,7858	1,077	0,5117-2,269
7	7	4	7	0,7367	1,259	0,5667-2,797
4	13	4	6	0,4854	1,389	0,6391-3,018
3	7	4	1	0,0267	2,815	1,765-4,491
4	3	3	6	0,7233	1,150	0,4500-2,936
4	11	3	8	1,0000	0,9354	0,3517-2,488
7	1	3	6	0,7233	1,150	0,4500-2,936
7	13	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548
8	11	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
7	4	3	4	0,4198	1,486	0,6223-3,548

Razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-17: Haplótipos envolvendo os loci HLA-Cw* e HLA-DQB1*

<i>Cw*</i>	<i>DQB1*</i>	<i>Pacientes</i> <i>n=110</i>	<i>Controles</i> <i>n=268</i>	<i>p</i>	<i>RC</i>	<i>IC</i>
6	3	8	10	0,1818	1,569	0,9122-2,698
7	5	8	10	0,1818	1,569	0,9122-2,698
7	2	6	13	0,7988	1,090	0,5514-2,155
12	6	6	13	0,7988	1,090	0,5514-2,155
6	2	5	7	0,3422	1,452	0,7293-2,892
8	6	5	1	0,0090	2,952	1,993-4,373
8	5	5	12	1,000	1,011	0,4757-2,149
4	2	4	7	0,7367	1,259	0,5667-2,797
7	3	4	15	0,6054	0,7130	0,2941-1,728
4	3	4	20	0,2446	0,5566	0,2243-1,381
3	5	4	3	0,2006	2,000	1,032-3,876
7	6	4	13	0,7868	0,8013	0,3351-1,917
5	2	4	2	0,0620	2,340	1,299-4,214
3	2	3	6	0,7233	1,150	0,4500-2,936
6	6	3	0	0,0242	3,505	2,986-4,114
1	3	3	2	0,1500	2,092	1,004-4,356
12	5	3	5	0,6961	1,297	0,5225-3,218
4	6	3	10	0,7637	0,7872	0,2880-2,151

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

Tabela 5-18: Haplótipos envolvendo os loci HLA-DRB1* e HLA-DQB1*

<i>DRB1*</i>	<i>DQB1*</i>	<i>Pacientes</i> <i>n = 110</i>	<i>Controles</i> <i>n = 268</i>	<i>p</i>	<i>RC</i>	<i>IC</i>
13	#6	15	16	0,0216	1,767	1,182-2,642
7	2	14	38	0,8695	0,9143	0,5666-1,475
4	3	12	29	1,000	1,006	0,6078-1,667
1	5	12	34	0,7303	0,8838	0,5285-1,478
3	2	10	21	0,6831	1,119	0,6547-1,914
7	3	8	7	0,041	1,898	1,150-3,133
11	3	6	25	0,3016	0,6458	0,3092-1,349
15	6	5	23	0,2006	0,5952	0,2646-1,339
10	5	4	9	1,000	1,060	0,461-2,433
14	5	4	2	0,0620	2,340	1,299-4,214
11	6	4	5	0,2915	1,547	0,7322-3,269
8	4	3	16	0,2988	0,5298	0,1852-1,515

RC: razão de chances; IC: intervalo de confiança

#Nota: foi encontrado um desequilíbrio de ligação entre o HLA-DQB1*06 e o HLA-DRB1*13 no grupo dos pacientes.

5.4 *Freqüência dos genes KIR*

Foram estudados os genes para os receptores KIR em todos os pacientes e em 132 controles. De todos os genes KIR estudados, nenhum mostrou-se mais freqüente de maneira estatisticamente significativa no grupo de pacientes quando comparado ao dos controles. O KIR 2DL2 esteve presente em 70 (53,0%) controles e em 16 (29,1%) pacientes ($p = 0,00276$, $OR = 0,3634$, $IC = 0,1850-0,7136$, $RR = 0,7542$, $IC = 0,6269-0,9072$). Os resultados podem ser vistos na tabela 5-19.

Tabela 5-19: Frequência dos genes KIR nos grupos estudados

<i>KIR</i>	<i>Psoríase vulgar</i> <i>n = 55</i>	<i>Controles</i> <i>n = 132</i>	<i>p valor</i>	<i>RC (IC)</i>
2DL1	50 (90,9%)	126 (95,5%)	0,19122	0,4762 (0,1390-1,6311)
2DL2	16 (29,1%)	70 (53,0%)	0,00276	0,3634 (0,1850-0,7136)
2DL3	48 (87,3%)	108 (81,8%)	0,36076	1,5238 (0,6146-3,7781)
2DL4	55 (100,0%)	130 (98,5%)	0,49715	Indefinido
2DL5	28 (50,9%)	74 (56,1%)	0,51916	0,8128 (0,4326-1,5270)
2DS1	18 (32,7%)	56 (42,4%)	0,21661	0,6602 (0,3410-1,2782)
2DS2	23 (41,8%)	76 (57,6%)	0,04917	0,5296 (0,2800-1,0017)
2DS3	14 (25,5%)	40 (30,3%)	0,50502	0,9338 (0,7689- 1,1342)
2DS4	46 (83,6%)	125 (94,7%)	0,01781	0,5985 (0,3408-1,0509)
2DS5	16 (30,2%)	49 (38,3%)	0,30173	0,9034 (0,7497-1,0887)
3DL1	48 (90,6%)	124 (96,9%)	0,08482	0,6165 (0,2952-1,2874)
3DL2	54 (98,2%)	130 (98,5%)	0,65064	

6 *Discussão*

A psoríase é uma doença cutânea crônica, com prevalência variável, porém comum em muitas populações. Apesar de não estar associada à diminuição da sobrevida, tem um impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes, principalmente quando há artrite associada.

É uma doença de etiopatogenia complexa, com interação de fatores desencadeantes ambientais e genes de susceptibilidade. Atualmente pode ser considerada uma doença geneticamente programada, na qual o processo inflamatório é desencadeado por estímulos ambientais (infecções, drogas, stress físico e/ou emocional) e está alterado em virtude de uma deficiência na sua regulação (Gaspari 2006). As complexas interações entre os genes de susceptibilidade, os mecanismos imunológicos efetores e os fatores desencadeantes ambientais são grandes desafios para os pesquisadores.

Muito antes dos estudos de genoma começarem a ser realizados, os primeiros relatos sobre a associação dos antígenos leucocitários humanos (HLA) com a psoríase foram publicados (Russell et al. 1972; White et al. 1972). Desde então, houve um grande progresso na identificação dos principais genes de susceptibilidade à psoríase. Dos 19 loci potenciais de susceptibilidade à psoríase identificados em 15 diferentes cromossomos, o locus que contém a região que codifica os antígenos HLA (PSORS 1) é o mais comumente reproduzido em trabalhos de grupos independentes (Bowcock 2004). A comparação entre diferentes populações com perfis HLA diferentes pode ser importante na identificação dos genes candidatos envolvidos na psoríase.

Os estudos populacionais são heterogêneos não apenas em relação aos resultados, mas também em relação à metodologia. Os antígenos e alelos estudados variam de um trabalho para o outro, assim como os métodos empregados para a tipificação. A reação em cadeia da polimerase com iniciadores (iniciadores) sequência específica (PCR-SSP) e com oligonucleotídeos sequência-específicos (PCR-SSO) são métodos muito eficazes na detecção do polimorfismo do HLA e são superiores aos métodos sorológicos.

Os estudos populacionais sobre a associação da psoríase com o HLA muitas vezes selecionam previamente os pacientes para inclui-los nos tipo I ou II de psoríase. Os parâmetros usados para tal seleção variam de um trabalho para o outro, como a idade do início da doença (antes e depois dos 25, 30, 35 ou 40 anos de idade) e a história familiar, que apenas ocasionalmente é incluída como critério. Quando Christophers e Henseler (1985) descreveram os dois padrões de psoríase, eles dividiram a maior parte dos 2.147 pacientes em tipo I (idade de início da doença antes dos 40 anos, história familiar positiva e Cw6+) e em tipo 2 (idade de início após os 40 anos, história familiar negativa e Cw6-). Um terceiro grupo de pacientes apresenta características dos dois grupos. Estes pacientes são excluídos dos estudos que os classificam previamente como tendo psoríase do tipo I ou II. No trabalho de Ikaheimo et al (1996b), 64 pacientes não selecionados foram estudados e apenas 26 puderam ser classificados como tendo psoríase do tipo I (história familiar positiva e início da doença até os 25 anos de idade) e 9, como tendo o tipo II (história familiar negativa e início após os 35 anos de idade). Os outros 29 não puderam ser classificados nos grupos I ou II, e foram considerados como fazendo parte de uma “área cinzenta”, na qual características dos dois grupos são

encontradas. Muitos outros estudos selecionam previamente os pacientes que são classificados em um dos dois tipos de psoríase. Isso provavelmente interfere os com resultados destes estudos de associação entre a psoríase e o HLA.

No presente estudo foram incluídos 55 pacientes com psoríase vulgar e 134 controles pareados quanto à origem étnica, sexo e idade, tornando os grupos comparáveis em relação a essas variáveis. Houve um discreto predomínio de pacientes do sexo masculino (58,2%) e de mestiços/brancos (32,7%), porém os outros subtipos étnicos também foram representados (branco: 18,2%; mestiço/índio: 20%; mestiço/negro: 12,7% e negróide: 16,4%). Os pacientes e controles foram divididos e pareados desta maneira na tentativa de minimizar as diferenças entre os grupos e ao mesmo tempo garantir uma amostra representativa da população, isto é, de caráter miscigenado.

Dos pacientes estudados, 18 (32,7%) já haviam sido internados devido a psoríase, 24 (43,6%) tiveram um ou mais episódios de eritrodermia (psoríase eritrodérmica), 43 (78,2%) usam ou já usaram algum tratamento sistêmico imunossupressor para a doença e 20 (36,4%) tiveram o diagnóstico de artrite psoriásica. Tais parâmetros adotados neste estudo indicam que grande parte dos pacientes apresentou um ou mais critérios de gravidade, provavelmente refletindo as características da amostra, que foi proveniente de um hospital terciário. É possível que o tempo médio de evolução da doença de 16,90 anos também tenha contribuído para a observação desses aspectos, entretanto não houve diferença entre os pacientes com psoríase do tipo I e II.

A história familiar para psoríase foi positiva em dezessete (30,9%) dos pacientes, sendo 10 pacientes com psoríase do tipo I e 7, com psoríase do tipo II. Se

os critérios adotados neste estudo para caracterizar os dois tipos de psoríase considerassem também a presença (psoríase do tipo I) ou ausência (psoríase do tipo II) de história familiar para a doença, apenas estes 10 pacientes com psoríase do tipo I e os outros 15 com o tipo II poderiam ser incluídos no estudo. Os outros 30 pacientes não seriam estudados por não preencherem os critérios, que na verdade podem não corresponder à realidade.

A artrite psoriásica foi encontrada em 20 (36,4%) dos pacientes, com pequeno predomínio do sexo masculino (11/20). A distribuição da origem étnica foi semelhante à de todo o grupo de pacientes, com discreto aumento da artrite no grupo de mestiços/índios, que corresponderam a 35% dos pacientes com artrite e a 20% da amostra total. A poliartrite periférica foi a forma mais frequentemente vista, em desacordo com a literatura, que cita o acometimento oligoarticular como o mais freqüente (Winchester 2003). Entretanto, sabe-se que o acometimento que inicialmente é oligoarticular pode evoluir com o acometimento de outras articulações, o que pode ter ocorrido nos pacientes estudados, já que o tempo médio de evolução da artrite foi de 11,05 anos.

No presente estudo, dois grupos alélicos mostraram-se mais freqüentes no grupo dos pacientes com psoríase em relação aos controles de maneira estatisticamente significativa: o HLA-B*57 e o HLA-Cw*06. Ambos estiveram presentes de maneira ainda mais significativa nos pacientes com psoríase do tipo I. Estes resultados estão de acordo com a literatura. Em todos os trabalhos nos quais o HLA classe I foi tipificado, o HLA-Cw6 ou Cw*0602 esteve presente com uma freqüência estatisticamente significativa nos pacientes psoriásicos (Ikäheimo et al. 1996; Gonzaga et al. 1996; Enerback et al. 1997; Tai-Gyu et al. 2000; Kundakçi et

al. 2002; Luszczek et al. 2002; Xue-Jun et al. 2003; Szczerkowska et al. 2004; Yang et al. 2004). Na Alemanha, Tailândia, China, Suécia e Croácia o HLA-Cw6 foi um marcador apenas na psoríase do tipo I. (Schmitt-Egenolf et al. 1996; Enerback et al. 1997; Kastelan et al. 2000; Choonhakarn et al. 2002; Xue-Jun et al. 2003). O HLA-B*57 também mostrou-se aumentado em pacientes chineses com psoríase vulgar (Yang et al. 2004) e foi visto nos pacientes com psoríase do tipo I na Alemanha (Schmitt-Egenolf et al. 1996) e Tailândia (Vejbaesya et al. 1998; Choonhakarn et al. 2002). O estudo brasileiro de Gonzaga et al. (1996) usou métodos sorológicos para estudar 22 pacientes com psoríase vulgar e mostrou uma frequência aumentada de HLA-Cw6 e B17. Os HLA-B57 e B58 correspondem aos splits sorológicos de HLA-B17 e em termos da análise do DNA, aos alelos B*5701, B*5702 ou B*5801.

Neste estudo, os grupos alélicos HLA-B*14 e HLA-Cw*08, significativamente aumentados nos pacientes do tipo II, porém em desequilíbrio de ligação, ainda não foram descritos na literatura como de susceptibilidade à psoríase. O HLA-Cw7 e o HLA-Cw*01 estiveram significativamente aumentados nos pacientes do tipo II na Turquia e na Tailândia, respectivamente (Kundakçi et al. 2002; Choonhakarn et al. 2002).

Em relação ao HLA classe II, o grupo alélico HLA-DRB1*13 esteve presente de maneira estatisticamente significativa apenas nos pacientes com psoríase do tipo I, fato ainda não descrito na literatura. Pelo contrário, Cardoso et al. (2005) publicaram um trabalho com brasileiros e detectaram o alelo HLA-DRB1*1302 como sendo um alelo protetor, porém não há a descrição da origem étnica do grupo estudado. Estudos sorológicos na Croácia e Turquia mostraram uma frequência aumentada de HLA-DR7 nos pacientes do tipo I (Kastelan et al. 2000; Kundakçi et

al. 2002), e em ambos os grupos de pacientes filandeses (Ikaheimo et al. 1996a). O estudo por métodos moleculares mostrou que o HLA-DRB1*0701 esteve presente com maior frequência nos pacientes do tipo I na Alemanha (Schmitt-Egenolf et al. 1993), Croácia (Kastelan et al. 2003) e Taiwan (Shiou-Hwa et al. 1998) e em todos os pacientes, sem relação com o subtipo, na Coreia (Tai-Gyu et al. 2000). O HLA-DRB1*0701 esteve presente também quando pacientes do tipo II em Taiwan foram analisados separadamente (Shiou-Hwa et al. 1998).

O grupo alélico HLA-B*07 esteve presente com maior frequência no grupo de controles em relação aos pacientes, indicando ser um alelo de proteção, entretanto ainda não descrito na literatura como tal. Os antígenos e alelos HLA classe I já descritos como de proteção foram o HLA-A66, -Cw2 e Cw4 (Kundakçi et al. 2002), HLA-A*24, -A*33 e Cw*04 (Choonhakarn et al. 2002) e o Cw*07 (Luszczek et al. 2002).

O HLA-B*57 manteve-se significativamente aumentado nos pacientes com história de psoríase eritrodérmica, nos pacientes com história de internação pela psoríase e naqueles com história de uso de tratamento sistêmico para a doença em comparação ao grupo controle. Comparando os pacientes HLA-B*57 positivos com os negativos, essa diferença só se repetiu quando foram analisados os pacientes com história de tratamento sistêmico. Com exceção deste parâmetro, esses resultados mostram apenas que nos pacientes mais graves a frequência do HLA-B*57 manteve-se significativa em relação aos controles. É possível que o tamanho da amostra não seja suficiente para demonstrar essa associação. Outro trabalho publicado recentemente (Gudjonsson et al. 2006) correlacionou o HLA-Cw*0602 com parâmetros clínicos. Gudjonsson et al. (2006) tipificaram 1.019 pacientes da Islândia

e destes, 654 (64.2%) foram positivos para Cw*0602. Comparados com os pacientes Cw*0602 negativos, os pacientes positivos tiveram o início da doença mais precocemente, além de acometimento cutâneo mais extenso, recaídas mais frequentes com infecções de orofaringe, ou o desenvolvimento das lesões nos locais de trauma.

Nos pacientes com artrite psoriásica, o HLA-Cw*18 mostrou-se significativamente aumentado, em comparação ao grupo controle. A diferença significativa manteve-se quando comparados os pacientes com e sem artrite. O HLA-Cw*18 ainda não foi descrito na literatura como de susceptibilidade à artrite psoriásica. Por outro lado, o HLA-B*57 já foi descrito como de susceptibilidade (Beaulieu et al. 1983) e no presente estudo, manteve frequência significativa neste subgrupo de pacientes em relação ao grupo controle. Outros estudos também destacam o HLA-B17 em associação com a artrite (Karvonen et al. 1974; Lopez-Larrea et al. 1990; Fournie et al. 1991), especificidade que por métodos moleculares pode corresponder ao HLA-B*57. O HLA-B*27 é o mais encontrado em associação com a artrite psoriásica (Zachariae et al. 1974; Marcusson et al. 1975; Armstrong et al. 1983; Mc Hugh et al. 1987; Gonzalez et al. 2002) e muitas vezes foi mais fortemente associado à artrite axial (Karvonen et al. 1975; Lambert et al. 1976; Roux et al. 1977; Eastmond et al. 1977; Querio-Silva et al. 2004; Bonfiglioli et al. 2006). Um trabalho brasileiro (Bonfiglioli et al. 2006) realizado em Campinas encontrou 20,79% de positividade para HLA-B*27 com predomínio de comprometimento da coluna vertebral nestes pacientes. No presente estudo, 5 (25%) dos 20 pacientes com artrite apresentaram comprometimento axial. De todos os pacientes estudados, apenas 1 foi positivo para HLA-B*27; sendo ele um dos cinco pacientes com

envolvimento axial (espondilite). Portanto, a associação HLA-B*27 e artrite axial não se confirmou nesta amostra de pacientes, talvez pelo pequeno número de pacientes com esse tipo de acometimento.

Schmitt-Egenolf et al. (1996) e Choonhakarn et al. (2002) relataram haplótipos semelhantes em pacientes alemães e tailandeses com psoríase do tipo I: HLA-B57 Cw6 DRB1* 0701 DQA1*0201 DQB1* 0303, o haplótipo EH-57.1, assim denominado por causa do antígeno B57. Kastelan et al. encontraram um haplótipo semelhante em pacientes croatas com psoríase do tipo I, com uma única diferença no alelo DQB1*: B57 Cw6 DRB1* 0701 DQA1*0201 DQB1* 0201 (Kastelan et al. 2003). O mesmo trabalho da Tailândia encontrou outros dois haplótipos, HLA -A*0207 - B*4601 -Cw*01 -DRB1*0 -DQB1*0303 (EH-46.1) e HLA -A*30- B*13- Cw*0602- DRB1*07- DQB1*02 (EH-13.1), o último semelhante ao encontrado em pacientes coreanos (HLA -A*30- B*13 -Cw*0602 -DRB1*07 -DQA1*02 -DQB1*02) (Tai-Gyu et al. 2000), com uma única diferença no alelo DQA1, que não foi tipificado por Choonhakarn et al. (2002). No presente estudo o haplótipo mais freqüente entre os pacientes foi o HLA-A*02 B*57 Cw*06 DRB1*07 DQB1*03, semelhante aos descritos por Schmitt-Egenolf et al. (1996) e Choonhakarn et al. (2002). Outro haplótipo também encontrado de maneira significativa foi o HLA-A*02 B*13 Cw*06 DRB1*07 DQB1*02, semelhante ao encontrado por Tai-Gyu et al. (2000), com uma única diferença, o alelo HLA-A*30.

O KIR2DL2, que é um receptor de inibição, esteve presente em 70 (53,0%) controles e em 16 (29,1%) pacientes, mostrando que este pode representar um gene de proteção. De certa maneira está de acordo com os trabalhos já publicados na literatura que indicam que o KIR2DS1, que é um receptor de ativação, está

associado com a ocorrência da psoríase (Luszczek et al. 2004; Suzuki et al. 2005). Em 2004 Nelson et al. publicaram um trabalho revendo os achados de um estudo anterior do mesmo grupo (Martin et al. 2002b) e propuseram que a susceptibilidade para desenvolver a artrite psoriásica aumenta à medida em que o genótipo KIR confere um maior perfil de ativação, em detrimento do de inibição. Sabe-se, entretanto, que a presença do gene KIR não representa, necessariamente, a expressão do receptor na superfície das células NK, portanto novos estudos são necessários para esclarecer a real contribuição individual dos receptores KIR na sinalização para as células NK e para os linfócitos T.

Estudos populacionais e familiares sobre antígenos e alelos HLA e psoríase vulgar mostram marcadores diferentes dependendo da origem étnica dos pacientes. Entretanto, não está claro se os próprios alelos HLA seriam fatores predisponentes para a psoríase. Sabe-se que os alelos localizados próximos de uma mutação tendem a estar em desequilíbrio de ligação com ela (Capon et al. 2004). Neste caso, alelos cuja frequência está aumentada em coortes de pacientes poderiam ser usados para ajudar a localizar os genes de susceptibilidade. Aliado a isso, alguns resíduos polimórficos nas especificidades HLA mais comuns podem ter a capacidade de se ligar e apresentar antígenos relacionados à psoríase, pelas fendas que eles formam na molécula de HLA, determinando o tamanho e a carga do peptídeo antigênico (Roitberg-Tambour et al. 1994; Shoiu-Hwa et al. 1998; Klein et al. 2000). O estudo dos antígenos HLA associados com a psoríase pode não apenas apontar genes de susceptibilidade à doença, mas também esclarecer aspectos da sua patogênese. Um estudo realizado na Itália (Brazzelli V et al. 2000) identificou uma seqüência de 4 aminoácidos (Ala 73, Asn 77, Lis 80 e Asp 90) na fenda de

ligação das moléculas HLA-Cw*0602 e Cw*04 em 77,5% dos pacientes com psoríase e em 50,8% dos controles ($p = 0,0031$). Essa seqüência foi característica também em nos pacientes do sexo feminino (80%), nas formas familiares (89,5%), na psoríase do tipo I (81,8%) e na psoríase artropática (88,8%). A natureza das fendas de ligação dos peptídeos varia de uma molécula para outra, afetando a afinidade da ligação do HLA com peptídeos endógenos (Matsumura et al. 1992). Além disso, as posições Asn 77 e Lis 80 constituem locais de reconhecimento dos receptores tipo imunoglobulina das células natural killer (KIR), o que também pode interferir na ativação ou inibição destas células. O estudo das fendas de ligação das moléculas HLA mais frequentemente encontradas nos pacientes com psoríase pode contribuir para a definição dos peptídeos patogênicos que participam do desencadeamento da resposta imunológica alterada na psoríase (Brazzelli V et al. 2000).

7 Conclusões

1. Os grupos alélicos HLA-B*57 e HLA-Cw*06 foram significativamente mais freqüentes no grupo de pacientes, indicando risco.
2. O KIR2DL2 esteve significativamente mais freqüente no grupo de controles, indicando proteção.
3. O HLA-B*57 manteve-se significativamente mais freqüente nos pacientes com história de eritrodermia, internação pela psoríase, tratamento sistêmico e artrite psoriásica.
4. O HLA-Cw*18 esteve significativamente mais freqüente apenas nos pacientes com artrite psoriásica.
5. Os grupos alélicos HLA-B*57, HLA-Cw*06 e o haplótipo HLA-A*02 B*57 Cw*06 DRB1*07 DQB1*03 encontrados no presente estudo já foram descritos anteriormente, diferentes do HLA-Cw*18 e do KIR2DL2, que não foram descritos em outros grupos populacionais.

8 Sugestões

1. Utilizar métodos de biologia molecular de alta resolução para identificar, nos pacientes e nos controles, os alelos referentes aos grupos alélicos encontrados com frequência estatisticamente significativa.
2. Aumentar a casuística com os objetivos de aprofundar o estudo das associações HLA com os subtipos de artrite psoriásica e com os subgrupos étnicos.
3. Estudar os genes KIR em um maior número de pacientes com psoríase com a finalidade de detectar marcadores de risco, podendo associá-los aos alelos HLA da classe I encontrados.
4. Pesquisar o grupo alélico HLA-B*57 em um maior número de pacientes com diagnóstico de psoríase vulgar a fim de confirmá-lo como fator de pior prognóstico.
5. A definição dos tipos de psoríase (I e II) não deverá incluir a história familiar para a doença e sim apenas a idade do início da doença, a fim de evitar a exclusão de um grande número de pacientes nos estudos futuros.

9 Referências bibliográficas

Abbas AK e Lichtman AH, editores. *Imunologia Celular e Molecular*. 5ª. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 580 p.

Ameen M, Allen MH, Fisher SA et al. Corneodesmosin (CDSN) gene association with psoriasis vulgaris in Caucasian but not in Japanese populations. *Clin Exp Dermatol* 2005; 30: 414-8.

Amersham Biosciences. *Manual GFX Genomic Blood DNA Purification Kit*. London, 2005. 44 p. Disponível em <http://www.amershambiosciences.com>. Acesso em: 19 out 2006.

André P, Biassoni R, Colonna M, Cosman D, Lanier LL, Long EO, Lopez-Botet M, Moretta A, Moretta L, Parham P et al. New nomenclature for MHC receptors. *Nat Immunol* 2001; 2: 661.

Armstrong RD, Panavi GS, Welsh KI. Histocompatibility antigens in psoriasis, psoriatic arthropathy and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 1983; 42 (2): 142-6.

Aslanian FM, Lisboa FF, Iwamoto A, Carneiro SC. Clinical and epidemiological evaluation of psoriasis: clinical variants and articular manifestations. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19: 141-2.

Asumalahti K, Laitinen T, Itkoven-Vatjus R et al. . A candidate gene for psoriasis near HLA-C, HCR (Pg8), is highly polymorphic with a disease-associated susceptibility allele. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1533-42.

Austin LM, Ozawa M, Kikuchi T, Walters IB, Krueger JG. The majority of epidermal T cells in psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines,

interferon-gama, interleukin-2 and tumor necrosis factor-alfa, defining T_C 1 (cytotoxic T lymphocyte) and T_H 1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 752-9.

Baker BS, Griffiths CE, Lambert S et al. . The effects of cyclosporin A on T lymphocyte and dendritic cell sub-populations in psoriasis. *Br J Dermatol* 1987; 116:503-10.

Bata-Csorgo Z, Hammerberg C, Voorhees JJ, Cooper KD. Flow cytometric identification of proliferative subpopulations within normal human epidermis and the localization of the primary hyperproliferative population in psoriasis. *J Exp Med* 1993; 178: 1271-81.

Beaulieu AD, Roy R, Mathon G et al. . Psoriathic arthritis: risk factors for patients with psoriasis – a study based on histocompatibility antigen frequencies. *J Rheumatol* 1983; 10 (4): 633-6.

Bergovich AB, McClure GR, Suraj VC et al. . Polymorphism, recombination, and linkage disequilibrium within the HLA class II region. *J Immunol* 1992; 148: 249-58.

Bhalerao J, Bowcock AM. The genetics of psoriasis: a complex disorder of the skin and immune system. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1537-45.

Bland JM, Altman DG. Multiple significance tests: the Bonferroni method. *BMJ* 1995; 310: 170.

Blau RH, Kaufman R. Erosive and spondyloarthropathy of the cervical spine disease in patients with psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 1987; 14: 111-7.

Bonfiglioli R, Bértolo MB, Sampaio-Barros PD et al. . Características da artrite psoriásica nos serviços de reumatologia da FCM-UNICAMP e HMCP-PUCCAMP. *Rev Bras Reumatol* 2006; 46 (2): S135.

Bonifati C, Carducci M, Cordiali Fei P et al. . Correlated increases of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 6, and granulocyte monocyte-colony stimulating factor levels in suction blister fluids and sera of psoriatic patients – relationships with disease severity. *Clin Exp Dermatol* 1994; 19: 383-7.

Bonish B, Jullien D, Dutronc Y et al. . Overexpression of CD1d by keratinocytes in psoriasis and CD1d-dependent IFN-gamma production by NK-T cells. *J Immunol* 2000; 165: 4076-85.

Borrego F, Kabat J, Kim DK, et al. . Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells. *Mol Immunol* 2002; 38: 637-660.

Bos JD, de Rie MA, Teunissen MBM, Piskin G. Psoriasis: dysregulation of innate immunity. *Br J Dermatol* 2005; 152: 1098-1107.

Bowcock AM, Krueger JG. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nature Reviews* 2005; 5: 699-711

Bowcock AM. Psoriasis genetics: the way forward. *J Invest Dermatol* 2004; 122: xv-xvii.

Boyman O, Hefti HP, Conrad C, Nickoloff BJ, Suter M, Nestle FO. Spontaneous development of psoriasis in a new animal model shows an essential role for resident T cells and tumor necrosis factor-alfa. *J Exp Med* 2004; 199: 731-6.

Brazzelli V, Quaglini M, Martinetti M et al. A peculiar sequence motif in the alpha-1-domain of the HLA-C molecule in psoriasis. *Dermatology* 2000; 200: 99-103.

Brenner W, Gschnait F, Mayr WR. HLA B13, B17, B37, and Cw6 in psoriasis vulgaris: Association with the age of onset. *Arch Dermatol Res* 1978; 262:337-9.

Burden AD. Identifying a gene for psoriasis on chromosome 6 (*Psors1*). *Br J Dermatol* 2000; 143: 239-41.

Cameron AL, Kirby B, Fei W, Griffiths CEM. Natural killer and natural killer-T cells in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2002; 249: 363-9.

Cameron AL, Kirby B, Griffiths CEM. Circulating natural killer cells in psoriasis. *Br J Dermatol* 2003; 149: 160-4.

Campbell RD e Townsdale J. Map of the human MHC. *Immunology Today* 1993;14: 349-52.

Capon F, Munro M, Barker J, Trembath R. Searching for the major histocompatibility complex psoriasis susceptibility gene. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 745-51.

Capon F, Novelli G, Semprini S et al. . Searching for psoriasis susceptibility genes in Italy: genome scan and evidence of a new locus on chromosome 1. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 32-5.

Capon F, Toal IK, Evans JC et al. . Haplotype analysis of distantly related populations implicates corneodesmosin in psoriasis susceptibility. *J Med Genet* 2003; 40: 447-52.

Capon F, Trembath RC, Barker JN. An update on the genetics of psoriasis. *Dermatol Clin* 2004; 22: 339-47.

Cardoso CB, Uthida-Tanaka AM, Magalhães RF, Magna LA, Kraemer MHS. Association between psoriasis vulgaris and MHC DRB, DQB genes as a contribution to disease diagnosis. *Eur J Dermatol* 2005; 15 (3): 159-63.

Carneiro SCS, Miranda MJS, Azulay MM, Assis TL, Azulay RDI. Estudo duplo cego de placebo x dapsona em pacientes com psoríase e/ou artrite psoriásica. F Med (Br) 1994b; 109 (4): 133-6.

Carneiro SCS, Oliveira MLW, Viana U Miranda MJS, Azulay RD, Carneiro CS. Psoriasis: a study of osteoarticular involvement in 104 patients. F Med (Br) 1994a: 109 (3): 121-5.

Carrington M, Wang S, Martin MP et al. . Hierarchy to resistance to cervical neoplasia mediated by combinations of KIR and HLA loci. J Exp Med 2005 201: 1069-75.

Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cells, viruses and câncer. Nat Rev Immunol 2001; 1: 41-9.

Chang YT, Shiao YM, Chin PJ et al. . Genetic polymorphism of the HCR gene and a genomic segment in close proximity to HLA-C are associated with patients with psoriasis in Taiwan. Br J Dermatol 2004; 150: 1104-11.

Chang YT, Tsai SF, Lee DD et al. . A study of candidate genes for psoriasis near HLA-C in Chinese patients with psoriasis. Br J Dermatol 2003; 148: 418-423.

Chaudhari U, Romano P, Mulcahy LD, Dooley LT, Baker DG, Gottlieb AB. Efficacy and safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis: a randomised trial. Lancet 2001; 357: 1842-7.

Choi HB, Han H, Youn JI et al. . MICA 5.1 allele is a susceptibility marker for psoriasis in the Korean population. Tissue Antigens 2000; 56:548-50.

Choonhakarn C, Romphruk A, Puapairoj C, Jirarattanapochai K, Romphruk A, Leelayuwat C et al. Haplotype associations of the major histocompatibility complex with psoriasis in Northeastern Thais. Int J Dermatol 2002; 41: 330-4.

Christophers E, Mrowietz U. Psoriasis. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI (eds). Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Nova Iorque: Mc Graw Hill, 2003. p 407-27.

Christophers E. Psoriasis- epidemiology and clinical spectrum. Clin Exp Dermatol 2001; 26: 314-20.

Chue-Woo P, Seong-Suk H, Yang-Kyum K, Tae-Yoon K, Tai-Gyu K. Association of TAP and HLA-DM genes with psoriasis in Koreans. J Invest Dermatol 2003; 120: 616-22.

Crivellato E, Zacchi T. Association between HLA-B16 and psoriatic spondylitis. Acta Derm Venereol 1986; 66(3): 262-4.

Eastmond CJ, Woodrow JC. The HLA system and the arthropathies associated with psoriasis. Ann Rheum Dis 1977; 36 (2): 112-20.

Elder JT, Nair RP, Henseler T et al. . The genetics of psoriasis: the odyssey continues. Arch Dermatol 2001; 137: 1447-1454.

Elkayam O, Segal R, Caspi D. Human leukocyte antigen distribution in Israeli patients with psoriatic arthritis. Rheumatol Int 2004; 24 (2): 93-7.

Ellis CN et al. . Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study. JAMA 1986; 256: 3110-3116.

Enerback C, Enlund F, Inerot A et al. . S gene (corneodesmosin) diversity and its relationship to psoriasis; high content of cSNP in the HLA-linked S gene. J Invest Dermatol 2000; 114: 1158-63.

Enerback C, Martinsson T, Inerot A et al. . Evidence that HLA-Cw6 determines early onset of psoriasis, obtained using sequence-specific "iniciadores (PCR-SSP). Acta Derm Venereol 1997; 77 (4): 273-6.

Engelhard VH. Structure of the peptides associated with class I and class II MHC molecules. *Annual Review of Immunology* 1994; 12: 181-207.

Enlund F, Samuelsson L, Enerback C et al. . Psoriasis susceptibility locus in chromosome region 3q21 identified in patients from southwest Sweden. *Eur J Hum Genet* 1999; 7: 783-90.

Espinoza LR, Vasey FB, Oh JH, Wilkinson R, Osterland CK. Association between HLA-B38 and peripheral psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 1978; 21:72-5.

Farber EM e Nall ML. The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica* 1974; 148: 1-18.

Ferrandiz C, Bordas X, García-Patos V et al. . Prevalence of psoriasis in Spain (Epiderma Project: phase I). *JEADV* 2001; 15: 20-3.

Fournie B, Granel J, Heraud A et al. . HLA-B and psoriatic rheumatism. Study of 193 cases. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1991; 58 (4): 269-73.

Gaspari AA. Innate and adaptive immunity and the pathophysiology of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: S67-80.

Gilhar Y, Ullmann H, Kerner B et al. . Psoriasis is mediated by a cutaneous defect triggered by activated immunocytes: induction of psoriasis by cells with natural killer receptors. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 384-91.

Gladman DD, Cheung C, Ng CM, Wade JA. HLA-C locus alleles in patients with psoriatic arthritis (PsA). *Hum Immunol* 1999; 60 (3): 259-61.

Gonzaga HFS, Torres EA, Alchorne MMA, Gerbase-Delima M. Both psoriasis and benign migratory glossitis are associated with HLA-Cw6. *Br J Dermatol* 1996; 135: 368-70.

Gonzalez S, Brautbar C, Martinez-Borra J et al. . Polymorphism in MICA rather than HLA-B/C genes is associated with psoriatic arthritis in the Jewish population. *Hum Immunol* 2001; 62 (6): 632-8.

Gonzalez S, Garcia-Fernandez S, Martinez-Borra J et al. . High variability of HLA-B27 alleles in ankylosing spondylitis and related spondyloarthropathies in the population of northern Spain. *Hum Immunol* 2002; 63 (8): 673-6.

Gottlieb AB, Evans R, Li S et al. . Infliximab induction therapy for patients with severe plaque-type psoriasis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51: 534-42.

Gottlieb AB, Matheson RT, Lowe N et al. . A randomized trial of etanercept as monotherapy for psoriasis. *Arch Dermatol* 2003; 139: 1627-32.

Gottlieb SL et al. . Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB 389IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte, pathogenic basis. *Nature Med* 1995; 1:442-7.

Gudjonsson JE, Karason A, Runarsdottir EH et al. . Distinct clinical differences between HLA-Cw*0602 positive and negative psoriasis patients – An analysis of 1019 HLA-C and HLA-B typed patients. *J Invest Dermatol* 2006; 106: 740-745.

Gunn I, Leheny W, Lakshminpathi T et al. . HLA antigens in a Scottish psoriatic population. *Tissue Antigens* 1979; 14 (2): 157-64.

Hammer J, Sturniolo T, Sinigaglia F. HLA class II binding specificity and autoimmunity. *Advances in Immunology* 1997; 66: 67-100.

Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 450-6.

Henseler T. The genetics of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37: S1-11.

Hiby SE, Walker JJ, O'Shaughnessy KM et al. . Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J Exp Med* 2004; 200: 957-65.

Ikäheimo I, Silvennoinen-Kassinen S, Karvonen J, Järvinen T, Tiilikainen A. Immunogenetic profile of psoriasis vulgaris: association with haplotypes A2, B13, Cw6, DR7, DQA1*0201 and A1, B17, Cw6, DR7, DQA1*0201. *Arch Dermatol Res* 1996a; 288:63-7.

Ikäheimo I, Tiilikainen A, Karvonen J, Silvennoinen-Kassinen S. HLA risk haplotype Cw6, DR7, DQA1*0201 and HLA-Cw6 with reference to the clinical picture of psoriasis vulgaris. *Arch Dermatol Res* 1996b; 288 (7):363-5.

Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchink M, editores. *Immunobiology: The immune system in health and disease*. 6a ed. New York: Garland Publishing; 2005. 800 p.

Jegasothy BV, Ackerman CD, Todo S, Fung JJ, Abu-Elmagd K, Starzl TE. Tacrolimus (FK506) – a new therapeutic agent for severe recalcitrant psoriasis. *Arch Dermatol* 1992; 128: 781-5.

Jenisch S, Koch S, Henseler T et al. . Corneodesmosin gene polymorphism demonstrates strong linkage disequilibrium with HLA and association with psoriasis vulgaris. *Tissue Antigens* 1999; 54: 439-49.

Karason A, Gudjonsson JE, Upmanyu R et al. . A susceptibility gene for psoriatic arthritis maps to chromosome 16q: evidence for imprinting. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 125-31.

Karvonen J, Lassus A, Sievers U, Tiilikainen. HL-A antigens in psoriatic arthritis. *Ann Clin Res* 1974; 6 (5): 304-7.

Karvonen J. HL-A antigens in psoriasis with special reference to the clinical type, age of onset, exacerbations after respiratory infections and occurrence of arthritis. *Ann Clin Res* 1975; 7 (5): 301-11.

Kastelan M, Gruber F, Cecuk-Jelicic E, Grubic Z, Kastelan A. A new extended haplotype Cw*0602-B57-DRB1*0701-DQA1*0201-DQB1*0201 associated with psoriasis in the Croatian population. *Exp Dermatol* 2003; 28: 200-2.

Kastelan M, Gruber F, Cecuk-Jelicic E, Kerhin-Brkljacic V, Brkljacic-Surkalovic L, Kastelan A. Analysis of HLA antigens in Croatian patients with psoriasis. *Acta Derm Venereol* 2000; Suppl 211:12-3.

Khakoo SJ, Thio CI, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, Cheng J, Goedert JJ, Vlahov D, Hilgartner M et al. . HLA and NK cell inhibitory genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* 2004; 305: 872-4.

Klein J e Sato A. The HLA system. *NEJM* 2000a; 343 (10): 702-9.

Klein J, Sato A. The HLA system. Part II. *NEJM* 2000b; 343 (11): 782-786.

Korendowvch E, Dixey J, Cox B, Jones S, McHugh N. The influence of the HLA-DRB1 rheumatoid arthritis shared epitope on the clinical characteristics and radiological outcome of psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30 (1): 96-101.

Krueger JG. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46:1-23.

Kundakçi N, Oskay T, Ölmez Ü, Tutkak H, Gürgey E. Association of psoriasis vulgaris with HLA class I and class II antigens in the Turkish population, according to the age of onset. *Int J Dermatol* 2002; 41: 345-8.

Lago E, Carneiro S, Cuzzi T et al. . Clinical and immunohistochemical assessment of the effect of cyclosporine in keratinocytes and dermal dendrocytes in psoriasis. *J Cutan Pathol* 2006 *in press*.

Lambert JR, Wright V, Rajah SM, Moll JM. Histocompatibility antigens in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 1976; 35 (6): 526-30.

Lanier LL, Corliss BC, Wu J, Leong C, Phillips JH. Immunoreceptor DAP12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* 1998; 391: 703-7.

Lanier LL. NK cell receptors. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 359-93.

Laurentaci G, Lomuto M, Favoino B. Immunogenetic analysis of association between HLA antigens and psoriasis vulgaris: population and family studies. *Dermatologica* 1982;165 (6): 591-600.

Lee YA, Ruschendorf F, Windemuth C et al. . Genome-wide scan in German families reveals evidence for a novel psoriasis-susceptibility locus on chromosome 19p13. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 1020-4.

Lew W, Bowcock AM, Krueger JG. Psoriasis vulgaris: cutaneous lymphoid tissue supports T-cell activation and type 1 inflammatory gene expression. *Trends Immunol* 2004; 25: 295-305.

Lomholt G. Psoriasis. Prevalence, spontaneous course and genetics. A census study on the prevalence of skin diseases on the Faroe Islands. GEC Gad Diss. Copenhagen 1963 *apud* Farber EM e Nall ML The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica* 1974; 148: 1-18.

Long EO, Colonna M, Lanier LL. Inhibitory MHC class I receptors on NK and T cells: a standard nomenclature. *Immunol Today* 1997; 17: 100.

Lopez-Larrea C, Torre-Alonso JC, Rodriguez-Perez A, Coto E. HLA antigens in psoriatic arthritis subtypes of a Spanish population. *Ann Rheum Dis* 1990; 49 (5):318-9.

Luszczek W, Kubicka W, Cislo M et al. Strong association of HLA-Cw6 allele with juvenile psoriasis in Polish patients. *Immunology Letters* 2002; 8: 59-64.

Luszczek W, Manczak M, Cislo M et al. Gene for the activating natural killer cell receptor, KIR2DS1, is associated with susceptibility to psoriasis vulgaris. *Hum Immunol* 2004; 65: 758-66.

Madden DR. The three dimensional structure of peptide-MHC complexes. *Annual Review of Immunology* 1995; 13: 587-62.

Mallon E, Newson R, Bunker CB. HLA-Cw6 and the genetic predisposition to psoriasis: a meta-analysis of published serologic studies. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 693-5.

Marcusson J, Moller E, Thyresson N. HLA antigens (17,27,UPS) in psoriasis with special reference to patients with arthritic lesions. *Acta Dermatol Venerol* 1975; 55: 297-300.

Marsh SGE, Parham P, Dupont B et al. . Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002. *Immunogenetics* 2003; 55: 220-226.

Martin MP, Gao XJ, Lee JH et al. . Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet* 2002a; 31:429-34.

Martin MP, Nelson GW, Jeong-Hee L et al. Cutting edge: susceptibility to psoriatic arthritis: influence of activating killer Ig-like receptor genes in the absence of specific HLA-C alleles. *J Immunol* 2002b; 169: 2818-2822.

Martinez-Borra J, Gonzalez S, Santos-Juanes J et al. . Psoriasis vulgaris and psoriatic arthritis share a 100 kb susceptibility region telomeric to HLA-C. *Rheumatol* 2003; 42: 1089-1092.

Matsumura M, Fremont DH, Peterson PA, Wilson IA. Emerging principles for the recognition of peptide antigens by MHC class I molecules. *Science* 1992; 257: 927-34.

Matthews D, Fry L, Powles A et al. . Evidence that a locus for familial psoriasis maps to chromosome 4q. *Nat Genet* 1996; 14: 231-3.

McHugh NJ, Laurent MR, Treadwell BL, Tweed JM, Dagger J. Psoriatic arthritis: clinical subgroups and histocompatibility antigens. *Ann Rheum Dis* 1987; 46 (3): 184-8.

McKay IA, Leigh IM. Altered keratinocyte growth and differentiation in psoriasis. In: *Pathogenic aspects in psoriasis. Clinics of dermatology.* Van der Kerkhof PCM, Bos JD, eds. 1995:105-14.

Middleton D, Curran M, Maxwell L. Natural killer cells and their receptors. *Transplant Immunology* 2002; 10: 147-64.

Moll JMH e Wright V. Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1973; 3: 55-78.

Murray C, Mann DL, Gerber LN et al. . Histocompatibility alloantigens in psoriasis and psoriatic arthritis. Evidence for the influence of multiple genes in the major histocompatibility complex. *J Clin Invest* 1980; 66 (4): 670-5.

Muto M, Date Y, Ichimiya M et al. . Significance of antibodies to streptococcal M protein in psoriatic arthritis and their association with HLA-A*0207. *Tissue Antigens* 1996; 48 (6): 645-50.

Nair RP, Henseler T, Jenisch S et al. . Evidence for two psoriasis susceptibility loci (HLA and 17q) and two novel candidate regions (16q and 20p) by genome-wide scan. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1349-56.

Naumova E, Mihaylova A, Stoitchkov K, Ivanova M, Quin L, Toneva M. Genetic polymorphism of NK receptors and their ligands in melanoma patients: prevalence of inhibitory over activating signals. *Cancer Immunol Immunother* 2005; 54: 172-8.

Nelson GW, Martin MP, Gladman D, Wade J, Trowsdale J, Carrington M. Cutting edge: heterozygote advantage in autoimmune disease: hierarchy of protection/susceptibility conferred by HLA and killer Ig-like receptor combinations in psoriatic arthritis. *J Immunol* 2004; 173: 4273-6.

Nickoloff BJ, Borish B, Huang BB, Porcelli AS. Characterization of a T cell line bearing natural killer receptors and capable of creating psoriasis in a SCID mouse model system. *J Dermatol Sci* 2000b; 24: 212-225.

Nickoloff BJ, Schröder JM, von den Driesch P et al. . Is psoriasis a T cell disease? *Exp Dermatol* 2000a; 9: 359-75.

Nickoloff BJ, Wrone-Smith T, Bonish BMS, Porcelli AS. Response of murine and normal human skin to injection of allogenic blood-derived psoriatic immunocytes: detection of T cells expressing receptors typically present on natural killer cells, including CD94, CD158 and CD161. *Arch Dermatol* 1999; 135 (5): 546-52.

Parham P e Otha T. Population biology of antigen presentation by class I MHC molecules. *Science* 1996; 272: 67-74.

Prinz et al. . Chimaeric CD4 monoclonal antibody in treatment of generalised pustular psoriasis. *Lancet* 1991; 338: 320-1.

Queiro-Silva R, Torre-Alonso JC, Tinture-Eguren T, Lopez-Lagunas I. The effect of HLA-DR antigens on the susceptibility to, and clinical expression of psoriatic arthritis. *Scand J Rheumatol* 2004; 33 (5): 318-22.

Raffoux C, Streiff F, Blum F et al. . HLA-DRw7 dans le psoriasis vulgaire. *C R Seances Acad Sci D* 1980; 290 (13): 883-4.

Rajagopalan S e Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *JEM* 2005; 201: 1025-9.

Rajalingam R. Diversity of NK cell receptors and their HLA class I ligands. *Ashi quarterly* 2002 second quarter: 68-72.

Raychaudhuri SP, Farber EM. The prevalence of psoriasis in the world. *JEADV* 2001; 15: 16-7.

Ritchlin C, Haas-Smith AS, Hicks D et al. Patterns of cytokine production in psoriatic sinovium. *J Rheumatol* 1998; 25: 1544-52.

Roberts MET, Wright V, Hill ASG et al. . Psoriatic arthritis. Follow up study. *Ann Rheum Dis* 1976; 35: 206-12.

Roitberg-Tambour A, Friedman A, Tzfon EE et al. . Do specific pockets of HLA-C molecules predispose Jewish patients to psoriasis vulgaris? *J Am Acad Dermatol* 1994; 31:964-8.

Rothman KJ. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1990; 1: 43-46

Roux H, Mercier P, Maestracci D et al. . Psoriatic arthritis and HLA antigens. *J Rheumatol* 1977; 4: 64-5.

Russell TJ, Schultes LM, Kuban DJ. Histocompatibility (HL-A) antigens associated with psoriasis. *NEJM* 1972; 12: 738-40.

Sakkas LI, Loqueman N, Bird H, Vaughan RW, Welsh KI, Panvi GS. HLA class II and T cell receptor gene polymorphisms in psoriatic arthritis and psoriasis. *J Rheumatol* 1990; 17 (11): 1487-90.

Samuelsson L, Enlund F, Torinsson A et al. . A genome-wide search for genes predisposing to familial psoriasis by using a stratification approach. *Hum Genet* 1999; 105: 523-9.

Schmitt-Egenolf M, Boehncke WH, Ständer M et al. . Oligonucleotide typing reveals association of type 1 psoriasis with HLA-DRB1*0701/2, -DQA1*0201, -DQB1*0303 extended haplotype. *J Invest Dermatol* 1993; 100 (6): 749-52.

Schmitt-Egenolf M, Eiermann TH, Boehncke WH et al. . Familial juvenile onset psoriasis is associated with the Human Leucocyte Antigen (HLA) class I side of the extended haplotype Cw6- B57- DRB1*0701- DQA1*0201- DQB1*0303: a population and family based study. *J Invest Dermatol* 1996: 106: 711-4.

Schottelius AJG, Moldawer LL, Dinarello ChA et al. . Biology of tumor necrosis-alfa – implications for psoriasis. *Exp Dermatol* 2004; 13: 193-222.

Schwarz T. Immunology. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP (eds). *Dermatology*. Londres: Elsevier Limited, 2003. p 65-84.

Seignalet J, Clot J, Guilhou JJ. HL-A antigens and some immunological parameters in psoriasis. *Tissue Antigens* 1974; 4(1): 59-68.

Shiou-Hwa J, Tsen-Fang T, Wei-Ling T, Shwu-Huey L, Chun-Hsaing C, Chung-Yi H. HLA-DRB1*0701 and DRB1*1401 are associated with genetic susceptibility to psoriasis vulgaris in a Taiwanese population. *Br J Dermatol* 1998; 139: 978-83.

Steffens U, Vyas Y, Dupont B et al. Nucleotide and amino acid sequence alignment for human killer cell inhibitory receptors (KIR). *Tissue Antigens* 1998; 51: 398-413.

Stern RS, Nijsten T, Feldman SR et al. Psoriasis is common, carries a substantial burden even when not extensive, and is associated with widespread treatment dissatisfaction. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2004; 9: 136-9.

Suarez-Almazor ME, Russel AS. Sacroiliitis in psoriasis: relationship to peripheral arthritis and HLA-B27. *J Rheumatol* 1990; 17 (6): 804-8.

Suto Y, Ishikawa Y, Kasahara M et al. Gene arrangement of the killer cell inhibitory receptor family on human chromosome 19q13.4 detected by fiber-FISH. *Immunogenetics* 1998; 48: 235-41.

Suzuki Y, Hamamoto Y, Ogasawara Y et al. Genetic polymorphisms of killer cell immunoglobulin-like receptors are associated with susceptibility to psoriasis vulgaris. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1133-6.

Svejgaard A, Staub NL, Svejgaard E et al. . HLA in psoriasis vulgaris and in pustular psoriasis: population and family studies. *Br J Dermatol* 1974; 91: 145-53.

Svejgaard A, Svejgaard E, Jersild C. HLA and psoriasis. *Scand J Immunol* 1973; 2:323.

Szczerkowska-Dobosz A, Rebała K, Szczerkowska Z, Nedoszytko B. HLA-C locus alleles distribution in patients from northern Poland with psoriatic arthritis- preliminary report. *Int J Immunogenetic* 2005; 32 (6): 389-91.

Szczerkowska-Dobosz A, Rebała K, Szczerkowska Z, Witkowska-Tobola A. Correlation of HLA-Cw*06 allele frequency with some clinical features of psoriasis vulgaris in the population of northern Poland. *J Appl Genet* 2004; 45(4): 473-6.

Tai-Gyu K, Hye Jung L, Il-Youn J, Tae Yoon K, Hoon H. The association of psoriasis with human leucocyte antigens in Korean population and the influence of age of onset and sex. *J Invest Dermatol* 2000; 114:309-13.

Tazi-Ahnini R, Camp NJ, Cork MJ et al. . Novel genetic association between the corneodesmosin (MHC S) gene and susceptibility to psoriasis. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 1135-40.

Tigalnowa M, Bjerke JR, Gallati H, Matre R. Immunological changes following treatment of psoriasis with cyclosporin. *Acta Derm Venereol Suppl* 1989; 146: 142-5.

Tiilikainen A, Lassus A, Karvonen J et al. . Psoriasis and HLA-Cw6. *Br J Dermatol* 1980; 102 (2): 179-84.

Tiwari JL, Lowe NJ, Abramovits W, Hawkins BR, Park MS. Association of psoriasis with HLA-DR7. *Br J Dermatol* 1982; 106: 227-30.

Tomfohrde J, Silverman A, Barnes R et al. . Gene for familial psoriasis susceptibility mapped to the distal end of human chromosome 17q. *Science* 1994; 264: 1141-5.

Traupe H. The puzzling genetics of psoriasis. *Clin Dermatol* 1995; 13: 99-104.

Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL et al. . Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997; 6:813-20.

Trowsdale J, Campbell RD. Complexity in the major histocompatibility complex. *Eur J Immunogenet* 1992; 19: 45-55.

Tsuji K, Inouye H, Nose Y, Sasazuki T, Osawa A, Ohkido M. Further study on HLA-A, B, C, D, DR and haplotype antigen frequencies in psoriasis vulgaris. *Acta Dermatol Venerol* 1979; 87 (suppl): 107-8.

Tsuji K, Nose Y, Ito M et al. . HLA antigens and susceptibility to psoriasis vulgaris in a non-Caucasian population. *Tissue Antigens* 1976; 8 (1): 29-33.

Turowski G, Kapinska-Mrówka M, Pietrzyk JJ. HLA antigens in psoriasis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1980; 28 (1): 119-26.

Turowski G, Pietrzyk JJ, Kapinska-Mrówka M. Locus B HLA antigens in psoriatic patients. Population and family studies and clinical relationship. *Arch Dermatol Res* 1981; 271 (3): 315-24.

van de Kerkhof, Peter CM. Psoriasis. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP (eds). *Dermatology*. Londres: Elsevier Limited, 2003. p 125-49.

van der Silk AR, Koeleman BP, Verduijn W, Bruining GJ, Roep BO, Giphart MJ. KIR in type 1 diabetes: disparate distribution of activating and inhibitory natural killer cell receptors in patients versus HLA-matched control subjects. *Diabetes* 2003; 52: 2639-42.

Veal CD, Clough RL, Barber RC et al. . Identification of a novel psoriasis susceptibility locus at 1p and evidence of epistasis between Psors 1 and candidate loci. *J Med Genet* 2001; 38: 7-13.

Vejbaesya S, Eiermann TH, Suthipinititharm P et al. . Serological and molecular analysis of HLA class I and II alleles in Thai patients with psoriasis vulgaris. *Tissue Antigens* 1998; 52 (4): 389-92.

Weinshenker BG, Bass BH, Ebers GC, Rice GP. Remission of psoriatic lesions with muromonab-CD3 (orthoclone OKT3) treatment. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 1132-33.

White SH, Newcomer VD, Mickey MR, Terasaki PI. Disturbance of HL-A antigen frequency in psoriasis. *NEJM* 1972; 12: 740-3.

Williams F, Meenagh A, Sleator C et al. . Activating killer cell immunoglobulin-like receptor gene KIR2DS1 is associated with psoriatic arthritis. *Hum Immunol* 2005; 66: 836-841.

Winchester R. Psoriatic arthritis. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI (eds). *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. Nova lorque: Mc Graw Hill, 2003. p 427-36.

Woodrow JC, Dave VK, Usher N et al. . The HLA system and psoriasis. *Br J Dermatol* 1975; 92 (4): 427-36.

Wrone-Smith T, Mitra RS, Thompson CB et al. . Keratinocytes derived from psoriatic plaques are resistant to apoptosis compared with normal skin. *Am J Pathol* 1997; 151: 1321-9.

Wrone-Smith T, Nickoloff BJ. Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. *J Clin Invest* 1996; 98: 1878-87.

Xue-Jun Z, An-Ping Z, Sen Y et al. . Association of HLA class I alleles with psoriasis vulgaris in southeastern Chinese Hans. *J Dermatol Sci* 2003; 33:1-6.

Xue-Jun Z, Shengcai W, Sen Y et al. . HLA-DQA1 and DQB1 alleles are associated with genetic susceptibility to psoriasis vulgaris in Chinese Han. *Int J Dermatol* 2004; 43: 181-7.

- Yang S, H-S Ge, A-P Zhang et al. . Haplotype associations of the MHC with psoriasis vulgaris in Chinese Hans. *Clin Exp Dermatol* 2004; 29: 399-405.
- Yawalkar N, Karlen S, Hunger R, Brand CU, Braathen LR. Expression of interleukin-12 is increased in psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 1053-7.
- Yip SY. The prevalence of psoriasis in the Mongoloid race. *J Am Acad Dermatol* 1984;10:965-8.
- Zachariae E e Zachariae H. Psoriatic arthritis. In: Roenigk HH, Maibach HI (eds). *Psoriasis*, 3^a ed. Nova Iorque: Marcel Dekker, 1998. p 75-95.
- Zachariae H, Hjortshooj A, Kissmeyer-Nielsen F, Svejgaard A, Svejgaard E, Zachariae E. HL-A antigens and psoriatic arthritis. *Acta Dermatol Venereol* 1974; 54 (6): 443-7.
- Zhang XJ, He PP, Wang ZX et al. . Evidence for a major psoriasis susceptibility locus at 6p21 (Psors1) and a novel candidate region at 4q31 by genome-wide scan in Chinese Hans. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 1361-6.
- Zheng J, Jin S, Shi R. Confirmation of Psors psoriasis susceptibility loci in a Chinese population. *Arch Dermatol Res* 2003; 295: 14-8.

10 Anexos

Anexo 1

DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO ESTUDO

“Psoríase e artrite psoriásica: estudo das freqüências HLA em uma população miscigenada”

Justificativa

Foi feito na sua pele o diagnóstico de Psoríase. A psoríase é uma doença da pele e às vezes também das articulações que não tem causa definida. Você está sendo convidado pelo seu médico a tomar parte de um estudo clínico-laboratorial que pretende pesquisar se há um fator genético específico, em brasileiros, que possa favorecer o aparecimento dessa doença.

Procedimentos

O estudo consiste em uma entrevista sobre você (identificação, condições de moradia, trabalho, saúde e origem racial), exame físico e realização de exames de sangue de rotina (hemograma, glicemia, testes de função renal e do fígado), que serão feitos no HUCFF.

Para a pesquisa genética será colhido sangue (em uma única vez) que será levado para o laboratório da UERJ para avaliação dos genes que possam estar ligados à psoríase. Esse material não será utilizado para nenhum outro fim senão para este estudo.

Efeitos Secundários

Como efeito indesejável você poderá apresentar leve equimose (mancha roxa) no braço no local da colheita do sangue.

Seus direitos

A participação neste estudo é totalmente voluntária. Você não é obrigado a aceitar. O seu tratamento e a atitude do seu médico para com você não serão afetados, caso você decida não participar do estudo. Esta recusa não afetará qualquer benefício que você esteja de alguma forma recebendo. Se você decidir participar, é necessário um consentimento por escrito. Mesmo aceitando participar, você poderá retirar-se do estudo a qualquer momento, no entanto, para sua própria segurança é recomendável que avise ao seu médico sua intenção de fazê-lo.

As informações pessoais obtidas a seu respeito durante o estudo permanecerão confidenciais.

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Li o documento de consentimento informado para este estudo. Recebi as informações necessárias sobre a natureza, proposta, duração e efeitos e riscos do estudo e o que será esperado de mim. Minhas dúvidas foram devidamente aclaradas.

Concordo em participar deste estudo. Concordo em cooperar totalmente com o médico e irei contactá-lo imediatamente se apresentar qualquer sintoma inesperado ou incomum.

Informe-me ao médico sobre todas as doenças e medicamentos anteriores ou atuais e sobre qualquer consulta que tive com outro médico nos últimos 3 meses.

Estou ciente de que, para minha própria segurança, deverei cooperar totalmente com os pedidos e orientações do meu médico.

A minha participação neste estudo é voluntária, podendo recusar em participar ou retirar-me do estudo a qualquer momento, sem penalidade ou perda dos benefícios aos quais tenha direito.

Concordo que os resultados do estudo podem ser comunicados à comunidade científica e publicados em revistas médicas, mantendo em sigilo o meu nome e o meu endereço.

Autorizo comitês de ética, autoridades regulatórias locais ou estrangeiras, a examinarem, se assim o desejar, estes registros médicos para confirmação das informações coletadas.

Nome do paciente _____

Assinatura _____ data _____

Investigador _____

Eu confirmo haver pessoalmente explicado, para o indivíduo acima identificado, a natureza, o propósito, a duração, os efeitos previsíveis e riscos do tratamento.

Assinatura _____ data _____

Anexo 2

DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Controles

TÍTULO DO ESTUDO

“Psoríase e artrite psoriásica: estudo das freqüências HLA em uma população miscigenada”

Justificativa

A psoríase é uma doença da pele e às vezes também das articulações que não tem causa definida. Você está sendo convidado por uma equipe de médicos a tomar parte de um estudo clínico-laboratorial que pretende pesquisar se há um fator genético específico, em brasileiros, que possa favorecer o aparecimento dessa doença. Como você não apresenta a doença, os resultados obtidos a partir do seu sangue serão usados como controle.

Procedimentos

O estudo consiste em uma entrevista sobre você (identificação, condições de moradia, trabalho, saúde e origem racial) e exame físico.

Os mesmos dados obtidos a partir do seu sangue que veio para exame de compatibilidade para o REDOME serão usados no nosso estudo, não havendo necessidade de novas coletas e sem prejuízo nenhum para o exame de compatibilidade.

Efeitos Secundários

Como efeito indesejável você poderá apresentar leve equimose (mancha roxa) no braço no local da colheita do sangue.

Seus direitos

A participação neste estudo é totalmente voluntária. Você não é obrigado a aceitar. A recusa não afetará qualquer benefício que você esteja de alguma forma recebendo. Se você decidir participar, é necessário um consentimento por escrito. As informações pessoais obtidas a seu respeito durante o estudo permanecerão confidenciais.

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Li o documento de consentimento informado para este estudo. Recebi as informações necessárias sobre a natureza, proposta, duração e efeitos e riscos do estudo e o que será esperado de mim. Minhas dúvidas foram devidamente aclaradas. Concordo em participar deste estudo. A minha participação neste estudo é voluntária, podendo recusar em participar ou retirar-me do estudo a qualquer momento, sem penalidade ou perda dos benefícios aos quais tenha direito. Concordo que os resultados do estudo podem ser comunicados à comunidade científica e publicados em revistas médicas, mantendo em sigilo o meu nome e o meu endereço. Autorizo comitês de ética, autoridades regulatórias locais ou estrangeiras, a examinarem, se assim o desejar, estes registros médicos para confirmação das informações coletadas.

Nome do paciente _____

Assinatura _____ data _____

Investigador _____

Eu confirmo haver pessoalmente explicado, para o indivíduo acima identificado, a natureza, o propósito, a duração e os efeitos previsíveis do estudo.

Assinatura _____ data _____

Anexo 3

QUESTIONÁRIO PARA OS MEMBROS DO PAINEL

1. IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____

CPF: _____ Peso: _____ Alt.: _____

Endereço: _____

_____ CEP: _____

_____ Telefone: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Sexo: _____

Naturalidade: _____ Escolaridade: _____

Profissão: _____

Observações:

2. INFORMAÇÕES QUANTO A MORADIA E LOCAL DE TRABALHO

O Local onde você mora é: uma casa um apartamento um sobrado

Construído em alvenaria madeira casa pré-fabricada outros

_____ Possui rede de água e esgoto? sim não Eletricidade?

sim não A rua é pavimentada? sim não Obs:

Está trabalhando atualmente? não sim, _____ horas diárias plantonista

O local onde você trabalha é: uma casa, apartamento, loja ou escritório com
eletricidade, rede de água e esgoto, em rua pavimentada. trabalho autônomo, na rua [

] outro _____

3. INFORMAÇÕES DE SAÚDE:

Você considera sua saúde: excelente boa regular ruim

Porque?

Você fuma? não (nunca parei há _____) sim _____
cigarros/dia

Existem casos, na sua família, de alguma das doenças abaixo? Caso afirmativo, relacione ao lado o grau de parentesco do portador da mesma e o tempo de evolução:

DOENÇA	PARENTESCO	EVOLUÇÃO
Diabetes tipo ____		
Lúpus _____		
Artrite reumatóide		
Hipertensão		
Doença pulmonar _____		
Doença dermatológica _____		

4. INFORMAÇÕES SOBRE ORIGEM ÉTNICA

Em que grupo étnico você se classifica?

branco negro indígena oriental mestiço

Quanto aos seus pais, eles são:

Pai: branco negro indígena oriental mestiço

Nacionalidade: _____ Mãe: branco negro indígena
 oriental mestiço Nacionalidade: _____

Quanto aos seus avós, eles são:

Avô Materno: branco negro indígena oriental mestiço

Nacionalidade: _____ Avó Materna: branco negro indígena oriental mestiço Nacionalidade: _____

Avô Paterno: branco negro indígena oriental mestiço

Nacionalidade: _____ Avó Paterna: branco negro indígena oriental mestiço Nacionalidade: _____

Quanto aos seus bisavós, eles são:

Pai do Avô Materno: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço

Nacionalidade: _____ Mãe do Avô Materno: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço Nacionalidade: _____

Pai da Avó Materna: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço

Nacionalidade: _____ Mãe da Avó Materna: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço

Nacionalidade: _____

Pai do Avô Paterno: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço

Nacionalidade: _____ Mãe do Avô Paterno: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço Nacionalidade: _____

Pai da Avó Paterna: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço

Nacionalidade: _____ Mãe da Avó Paterna: [] branco [] negro [] indígena [] oriental [] mestiço

Nacionalidade: _____

Observações do entrevistador: _____

Rio de Janeiro, _____ de _____ de _____.

ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO

NOME COMPLETO

ASSINATURA DO ENTREVISTADOR

NOME COMPLETO

FICHA CLÍNICA

Ficha No.

I – IDENTIFICAÇÃO:

Nome:.....

Prontuário:.....

Endereço:.....

Tel:.....

Idade:..... **Cor:** () br () Pt () Pd **Profissão:**

Sexo: () Fem () Masc **Estado Civil:** () s () c () o

Naturalidade:

II – HISTÓRIA CLÍNICA:

Tempo de evolução da doença:

() pele() articulação :.....

Comprometimento pele/articulação :

() Não () anterior () concomitante () posterior

Eritrodermia:

() Sim () Não

Internação:

() Sim () Não

Tratamentos prévios:

() Não () Tópico :..... () Sistêmico :.....

Medicação em uso

() nenhuma () tópica () sistêmica Relacionar:.....

História Familiar:

() Psoríase () artrite () diabetes () negativa

História da pessoa

() surto anterior () diabetes mellitus () alcoolismo () hipertensão arterial

() deprimido () ansioso

Fatores relacionados

() verão () inverno () stress emocional () infecção

() outro () nenhum

III – EXAME CLÍNICO

Distribuição das lesões:

- | | | |
|---|---|---|
| <input type="checkbox"/> couro cabeludo | <input type="checkbox"/> tronco | <input type="checkbox"/> membros superiores |
| <input type="checkbox"/> cotovelos | <input type="checkbox"/> membros inferiores | <input type="checkbox"/> joelhos |
| <input type="checkbox"/> palmo-plantar | <input type="checkbox"/> região sacra | <input type="checkbox"/> dobras |
| <input type="checkbox"/> mucosas | <input type="checkbox"/> genitália | <input type="checkbox"/> unhas nº tipos: |

Morfologia das lesões:

- | | | |
|---------------------------------|--|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> placas | <input type="checkbox"/> gutata | <input type="checkbox"/> numular |
| <input type="checkbox"/> girata | <input type="checkbox"/> eritrodermica | <input type="checkbox"/> pustulosa |

Simetria das lesões:

- sim não

Prurido: Ausente Moderado Intenso

Comprometimento articular:

- não artralguas artrite
 mono oligo poli simétrica poli assimétrica.
 espondilite sacroileite entesites artrose
gota
.....

Escala Visual da Dor : 0 _____ x _____ 10

Articulações Acometidas:

- | | | | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| <input type="checkbox"/> ombros | <input type="checkbox"/> punhos | <input type="checkbox"/> MCFs | <input type="checkbox"/> IFPs | <input type="checkbox"/> IFD |
| <input type="checkbox"/> Cx.Femurais | <input type="checkbox"/> joelhos | <input type="checkbox"/> Tornozelos | <input type="checkbox"/> MTFs | <input type="checkbox"/> IFs |

DIAGNÓSTICO:.....

TIPO:

CÁLCULO DO PASI

	ESCORE DE RIGOR* (0 A 4)			ESCORE DE EXTENSÃO** (0 A 6)	TOTAIS PARCIAIS (FATOR SEGM.)
	Eritema	Espessura	Descamação		
Cabeça (C)				x _____	X 0,1 = _____
Tronco (T)				x _____	X 0,3 = _____
Membros Superiores (S)				x _____	X 0,2 = _____
Membros Inferiores (I)				x _____	x 0,4 = _____
P.A.S.I					

* Escore de Rigor

- 0 = Ausente
- 1 = Discreto
- 2 = Moderado
- 3 = Intenso
- 4 = Muito Intenso

** Escore de Extensão

- 0 = Ausência
- 1 = Até 10% do segmento
- 2 = De 10 a 29% do segmento
- 3 = De 30 a 49% do segmento
- 4 = De 50 a 69% do segmento
- 5 = De 70 a 89% do segmento
- 6 = De 90 a 100% do segmento

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)