



EXPRESSÃO SÉRICA E CUTÂNEA DO FATOR DE NECROSE TUMORAL-ALFA NA PSORÍASE

Arles Martins Brotas

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Dermatologia).

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

Rio de Janeiro
Fevereiro/2006

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Brotas, Arles Martins

Expressão sérica e cutânea do fator de necrose tumoral-alfa na psoríase / Arles Martins Brotas. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2006.

xiii, 94 f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Sueli Coelho da Silva Carneiro e Absalom Lima Filgueira

Dissertação (Mestrado) – UFRJ, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Dermatologia, 2006.

Referências Bibliográficas: f. 95-110

1. Psoríase. 2. Citocinas. 3. Sistema imune. 4. Fator de necrose tumoral-alfa. 5. Dermatologia – Tese. I. Carneiro, Sueli Coelho da Silva e Filgueira, Absalom Lima. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina – Dermatologia. III. Título.

EXPRESSÃO SÉRICA E CUTÂNEA DO FATOR DE NECROSE TUMORAL-ALFA NA PSORÍASE

Arles Martins Brotas

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

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Dermatologia).

Aprovada por:

José Marcos T. Cunha
Presidente, Prof. Dr.

João Regazi Avelleira
Prof. Dr.

Geraldo Magela
Prof. Dr.

Rio de Janeiro
Fevereiro/2006

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço ao paciente, motivo de tudo, quiçá, da nossa existência médica. É instigante a simplicidade frente às coisas mais complicadas como a doença. Donos desse universo molecular me fizeram lembrar ainda mais da alma. No meio deste caminho pedregoso da biologia celular, eles são o meu atalho e incentivo, acima da apoptose programada deste projeto. Falando em alma me remeto a Deus, ou algo maior, com “qualquer nome”, que impulsiona essa corrente médico-paciente, melhor paciente-médico.

A minha família, no café-da-manhã de cada dia e à distância com meu pai Fernando Brotas e avó Dona Ana. Haja compreensão para tanto mau-humor nos dias de embate com as citocinas. Só mesmo a fortaleza e a alegria esbanjadora da mãezinha, do meu pai-postiço Sérgio e da minha noiva Dedéia.

A minha orientadora e professora Sueli Carneiro, entre picos e vales, no final, sabíamos que o sol nascente estava por vir e que iluminaria nossa jornada.

Ao professor Absalom Filgueira, pela confiança depositada.

A professora Elizabeth Sampaio pela paciência, pelo seu investimento na minha causa e pelos almoços iluminadores na cantina da Fiocruz.

Aos amigos Doutorandos Flávia e Eduardo Lago pela grande e inestimável ajuda.

A Rosaninha Teles por toda a sua orientação nos meandros da biologia molecular e da imunologia. Sem ela, cada simples passo seria uma grande maratona.

As biólogas Dani e Rose, a grande caçadora de TNF.

Ao biólogo mineiro Leonardo, pelos ensinamentos nas técnicas laboratoriais.

A professora Cleide, a mestranda Taissa pelas amostras cutâneas e aos pós-graduandos Luciana, Carol e Luiz; companheiros do ambulatório.

A todas enfermeiras do Hospital Universitário, pela paciência e colaboração.

Ao professor Gerson Penna pela preciosa ajuda e boa vontade.

Aos meus irmãos Nandinho e Silvio, e aos melhores amigos Pirica, Piu, Gustavo e Dani pela compreensão do meu abandono.

A Gilsara Jaccoud e a Deise da Cunha que se tornaram minhas fiéis escudeiras.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro da Bolsa de auxílio.

Em especial, a equipe do Laboratório de Hanseníase/Medicina Tropical da Fundação Oswaldo Cruz, sob coordenação da professora Elizabeth Pereira Sampaio, por todo suporte na investigação laboratorial do TNF-alfa

Ao Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, Ambulatório de Imunossuppressores sob a coordenação da professora Luna Azulay Abulafia e do professor Alexandre Gripp pela ajuda e pelos ensinamentos

RESUMO

EXPRESSÃO SÉRICA E CUTÂNEA DO FATOR DE NECROSE TUMORAL-ALFA NA PSORÍASE

Arles Martins Brotas

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

Fundamentos: A tríade formada pela diferenciação epidérmica anormal, hiperproliferação queratinocítica e inflamação estruturam as alterações da patogênese da psoríase. Apesar de interdependentes e interligadas, têm-se demonstrado que os fenômenos imuno-inflamatórios num ambiente genético propício seriam os principais fatores. Na psoríase há uma desregulação na balança linfocitária levando a hiperreatividade da resposta tipo 1 e aumento das interleucinas 1, 6, 8, 12, interferon-gama (IFN- γ) e do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α). O uso terapêutico dos inibidores específicos dessa citocina (TNF- α) apresenta resultados surpreendentes, mas as investigações laboratoriais não fornecem o mesmo respaldo. Apesar disso, tem sido demonstrado aumento do TNF- α no soro e nas lesões cutâneas. Nesse aspecto, a epiderme e a derme podem apresentar um comportamento diferente, incluindo os níveis das citocinas como o TNF- α . A análise em cada estrato, através da transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real, poderá demonstrar de forma sensível a expressão do mRNA do TNF- α .

Objetivos: Avaliar a expressão cutânea (epidérmica e dérmica) e sérica do TNF- α nos pacientes com psoríase e compará-la com o grupo controle; correlacionar a expressão das citocinas nessas regiões, com a gravidade e a extensão da doença; comparar a expressão do TNF- α na epiderme e na derme dos pacientes.

Material e métodos: Avaliação clínica pelo PASI; coleta de sangue venoso da região antecubital e biópsia com punch de 6 mm de lesão cutânea em atividade em 20 pacientes com psoríase, sem tratamento específico. O fragmento cutâneo congelado foi clivado ao nível da junção dermo-epidérmica para avaliação dos níveis de TNF- α separadamente. Para a quantificação da expressão do TNF- α cutâneo foi utilizada a RT-PCR em tempo real e, para avaliação dos níveis séricos da citocina, o método imunoenzimático ELISA. A expressão do TNF- α na epiderme, na derme e no sangue foi comparada com aquela obtida no grupo controle.

Resultados: Não houve diferença significativa dos níveis de TNF- α sérico e cutâneo

(derme e epiderme) entre pacientes com psoríase e controles. Também não houve diferença entre os níveis do TNF- α na derme e na epiderme nos pacientes com psoríase, e nem com o PASI.

Conclusão: Na nossa casuística não houve aumento sérico nem cutâneo (epiderme e derme) do TNF- α nos pacientes com psoríase em comparação com os controles. Não houve correlação com a atividade da doença. Não foi observada diferença significativa entre a expressão do TNF- α na epiderme em relação à derme nos pacientes.

Palavras-chave: Psoríase. Citocinas. Sistema Imune. Fator de necrose tumoral-alfa.

ABSTRACT

SERUM AND CUTANEOUS EXPRESSION OF TUMOR NECROSIS FACTOR- ALPHA IN PSORIASIS

Arles Martins Brotas

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

Introduction: The triad composed of abnormal keratinocytic maturation, shortening of the epidermal cell cycle and inflammatory reaction are considered the basis of psoriasis pathogenesis. It has been described that inflammatory disregulation associated with genetic background are the majors factors. There is disequilibrium in lymphocyte balance, over expression of type 1 cytokine like interleukins 1, 2, 6, 8, 12, interferon-gama (IFN- γ) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α). Therapeutics administrations of specifics inhibitors, anti-TNF- α , have gotten amazing results, but laboratorial researches have not demonstrated equivalents results. Nevertheless, some investigators have demonstrated high serum and cutaneous TNF- α levels. Epidermis and dermis can show different behavior in psoriasis, including cytokine status. The Reverse-Transcriptase-Polymerase-Chain-Reaction (RT-PCR) is an accurate assay and can demonstrate cutaneous (epidermis and dermis) TNF- α amounts. There is no specific investigation in this field.

Objective: Evaluate the cutaneous (epidermis and dermis) and serum levels of TNF- α in patients with psoriasis. Confront the rate of TNF- α from each substratum, with psoriasis severity. Compare epidermis and dermis TNF- α amounts in psoriasis.

Material and Methods: The disease severity was assessed by psoriasis area and severity index (PASI). Cubital venous blood collection and punch skin biopsies were taken from lesional skin of patients with psoriasis, without specific treatment. The cutaneous specimes were frozen and separated in derma-epidermal junction to evaluation of TNF- α in each level. Real time RT-PCR and ELISA were used to measure cutaneous and serum TNF- α , respectively. The results were compared with controls and all the samples were evaluated in the same analytical set.

Results: No significant differences could be noted regarding the research over the cutaneous (epidermis and dermis) and serum TNF- α amounts in psoriatic patients as compared with serum and cutaneous TNF- α amounts in controls. The same results were observed in comparative test of TNF- α amounts from epidermis and dermis, neither with PASI.

Conclusion: The seric and cutaneous TNF- α levels were not elevated. There were no differences between epidermis and dermis, neither with PASI, in psoriatic patients.

Key-words: Psoriasis. Cytokines. Immune System. Tumor Necrosis Factor-alpha.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS A ABREVIATURAS.....	IX
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Psoríase.....	3
2.1.1 Predisposição genética.....	4
2.1.2 Diferenciação epidérmica	6
2.1.3 As bases imuno-inflamatórias da psoríase.....	9
3 OBJETIVOS.....	60
4 METODOLOGIA	61
4.1 Desenho do estudo.....	61
4.2. Critérios de inclusão	61
4.3. Critérios de exclusão	622
4.4. Avaliação clínica.....	62
4.5. Avaliação histopatológica	633
4.6. Caracterização do grupo controle	63
4.7. Quantificação sérica do TNF- α	64
4.7. Quantificação cutânea do TNF- α	644
5 RESULTADOS.....	699
5.1 Resultados clínicos	699
5.2 Resultados da avaliação laboratorial	744
5.2.1 Avaliação dos níveis séricos do TNF- α	744
5.2.2 Avaliação dos níveis de TNF- α na epiderme e na derme.....	744
6 DISCUSSÃO	788
7 CONCLUSÕES	933
8 SUGESTÕES	944
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	955
ANEXOS.....	11111

LISTA DE SIGLAS A ABREVIATURAS

APC	célula apresentadora de antígeno
AP-1	(fator de transcrição) proteína ativadora -1
AU	adenosina-uridina
APRIL	ligante indutor de proliferação
BLyS	estimulador de linfócito B
CD	cluster of differentiation
cDNA	DNA complementar
CLA	antígeno de linfócito cutâneo.
DAB₃₈₉IL-2	fusão da toxina diftérica com a IL-2
DC	célula dendrítica
DNA	ácido desoxiribonucleico
EGF	fator de crescimento epidérmico
ELISA	<i>enzyme linked immuno sorbent assay</i>
FADD	domínio de morte associado ao Fas
FasL	ligante do Fas
FXIIIa	fator XIIIa
GAPDH	D-gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase
GM-CSF	fator estimulador da colônia de macrófagos e granulócitos
HEV	vênula do endotélio alto
HLA	antígeno leucocitário humano
IL	interleucina
iDC	célula dendrítica intersticial
ICAM	molécula de adesão intercelular
IFN	interferon
IL	interleucina
IκB	proteína inibidora do NF- κ B
LC	células de Langerhans
LIF	fator inibidor leucemia
LFA	antígeno associado à função do leucócito

LPS	lipopolissacarídeo
MALT	tecido linfóide associado à mucosa
MCA	anticorpo monoclonal
MIF	fator inibidor da migração de macrófago
MHC	complexo principal de histocompatibilidade
mRNA	RNA mensageiro
NET	necrólise epidérmica tóxica
NF-κB	fator nuclear κ B
NK	<i>natural killer</i>
PAI	inibidor do ativador de plasminogênio
PASI	índice de extensão e gravidade de psoríase
PBMC	<i>peripheral blood monocytes</i>
RANK	receptor ativador de NF- κ B
RF	<i>RNase free</i>
RNA	ácido ribonucleico
RIP	proteína de interação com o receptor
RT-PCR	transcrição reversa e reação em cadeia de polimerase
SALT	tecido linfóide associado à pele
SIRS	síndrome da resposta inflamatória sistêmica
SIS	sistema imune cutâneo
TACE	enzima conversora de TNF
TCR	receptor da célula T
TGF	fator transformador de crescimento
TLR	receptor like-toll
TNF-α	fator de necrose tumoral-alfa
TRADD	domínio de morte associado ao TNF
TRAIL	ligante da indução de apoptose relacionado ao TNF
VCAM	molécula de adesão celular vascular

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, DE QUADROS E DE TABELAS

Figura 1	Tríade da fisiopatogenia da psoríase (Brotas et al., 2005).....4
Figura 2	O queratinócito auto-ativado e hiperproliferativo reduz o tempo de migração que conduz a maturação incompleta, com aumento das proteínas de hiperproliferação. Modificada (Eucerin, 2002).....8
Figura 3	A cascata inicial de citocinas da resposta immune cutânea.....11
Figura 4	Esquema mostrando as principais características imuno-inflamatórias dos queratinócitos (KC) e as diversas possibilidades desta célula nas respostas imunológicas. Modificada (Nickoloff e Turka, 1993)12
Figura 5	Microscopia óptica, coloração por hematoxilina-eosina com aumento em 100x: Distribuição das moléculas de adesão na psoríase segundo Terajima.14
Figura 6	Célula de Langerhans no vaso linfático dérmico em micrografia por varredura (Pfaller, 2003).16
Figura 7	Balança linfocitária na liberação de citocinas. Aumento das citocinas com perfil TC1 e TH1 na psoríase (Brotas et al., 2005)20
Figura 8	Atração e ativação linfocítica. Modificada (Janeway e Travers, 2002) ..23
Figura 9	A sinapse imunológica. Modificada (Janeway e Travers, 2002).....25
Figura 10	Passo à passo das citocinas na fisiopatogênese da psoríase, culminando com a expressão clínica da doença. Em cada manifestação, as principais citocinas envolvidas são listadas. Devido pleiotropismo e a indução da atividade entre elas uma classificação definitiva e restrita não pode ser apresentada. Modificada (Bonifati e Ameglio, 1999).31
Figura 11	Os efeitos biológicos do TNF- α têm correlação direta com sua concentração e com a célula-alvo. Adaptada (Abbas et al., 2003)34
Figura 12	O controle dos níveis da citocina deve ser afinado, pois suas ações podem servir tanto para a defesa do organismo como podem provocar lesão tecidual. Adaptada (Tracey et al., 1989)34
Figura 13	A sinalização: ativação dos receptores justapostos pelo TNF- α homotrimérico37

Figura 14	1. Início da transcrição do TNF- α com seu gene localizado no cromossoma 6, mesmo do MHC. 2. Tradução da proteína precursora integral ligada à membrana celular. 3. Clivagem pela TACE e liberação da forma madura, solúvel, monomérica. 4. Associação de monômeros, formando TNF- α homotrimérico, antes da ativação dos seus receptores. Adaptada (LaDuca e Gaspari, 2001).....	43
Figura 15	1. Ligação do TNF- α homotrimérico com justaposição dos seus receptores. 2. Em uma das vias, há ativação das caspases que leva a degeneração celular sem inflamação. 3. A outra via de sinalização é dependente do NF- κ B que estimula a transcrição de novas citocinas, inclusive de TNF- α . Assim uma célula dita alvo, torna-se efetora, ampliando a resposta inflamatória, com proliferação de linfócitos. Figuras A e B adaptadas de www1.geneticsolutions.com/PageReq?id=3844:1873 (www1.geneticsolutions.com/PageReq?id=3844:1873 Acesso em: 12 nov., 2005) e www.astrosurf.org/lombry/Bio/lymphocyte.jpg (www.astrosurf.org/lombry/Bio/lymphocyte.jpg Acesso em 20 dez., 2005), repectivamente.....	44
Figura 16	Gravura mitológica de quimera. Adaptada (Wikipedia, 2006)	56
Figura 17	Ligação do Infliximabe (Remicade ®) com o TNF- α . Adaptada (Shanahan e Moreland, 2006).....	56
Figura 18	(1) Ligação do TNF ao receptor, essencial para sinalização. (2) A medicação impossibilita a ativação pela maior afinidade ao TNF. Modificada (Wyeth, 2006)	57
Figura 19	Paciente com lesões gutatas que coalescem e formam placas	800
Gráfico 1	Distribuição dos pacientes pela faixa etária	699
Gráfico 2	Distribuição dos pacientes e controles conforme o sexo.....	70
Gráfico 3	Distribuição do prurido pela intensidade	7070
Gráfico 4	Dispersão do TNF- α no soro entre os grupos	755
Gráfico 5	Dispersão do TNF- α na epiderme e na derme entre os grupos.....	76

Quadro 1	Loci mais freqüentes e respectiva localização cromossomial. Modificado (Bowcock e Krueger, 2005).....	6
Quadro 2	A superfamília do TNF e seus receptores, nomes sistemáticos e funcionais. Adaptado http://www.gene.ucl.ac.uk . (http://www.gene.ucl.ac.uk . Acesso em 11 dez., 2005) The Center for Human Genetics, University College London. TNF, Tumor Necrosis Factor.....	35
Quadro 3	Principais característica dos receptores do TNF- α	37
Quadro 4	Mecanismos implicados da estimulação do TNF- α	39
Quadro 5	Alguns inibidores do TNF- α	41
Quadro 6	Aspectos metabólicos e celulares do TNF- α na saúde e nas doenças. Adaptada (Tracey et al., 1989).....	47
Quadro 7	Papel do TNF- α na psoríase. Modificado (Winterfield e Menter, 2004)	50
Quadro 8	Correlação das citocinas com as alterações clínicas e histopatológicas	51
Quadro 9	Principais publicações de investigação laboratorial sobre o TNF- α na psoríase	53
Quadro 10	Principais características dos biológicos, inibidores de TNF- α . Adaptado (Saripalli e Gaspari, 2005).....	58
Quadro 11	Medicações “tradicionais” com ação anti-TNF- α e mecanismos de ação. PGE2: prostaglandina E2; LPS: lipopolissacarídeo; Adaptado (Saripalli e Gaspari, 2005)	59
Tabela 1	Análise descritiva geral do grupo de pacientes com psoríase.....	722
Tabela 2	Frequência e percentual das características qualitativas do grupo de pacientes com psoríase	733
Tabela 3	Análise estatística do TNF- α segundo o grupo	755
Tabela 4	Análise estatística do TNF- α segundo o subgrupo do PASI total.....	766
Tabela 5	Análise estatística dos níveis séricos e cutâneos do TNF- α	777
Tabela 6	Relação absoluta entre os níveis de TNF alfa na epiderme e na derme	777

1 INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença crônica, relativamente frequente e cada vez mais tem sido demonstrado o papel da inflamação na sua fisiopatogenia. O desenvolvimento de novas técnicas laboratoriais ampliou a compreensão de elementos fundamentais como a revelação dos marcadores de superfície e das vias de ativação linfocitária, além da combinação da rede de citocinas que deram sustentação à frase "A psoríase é a doença inflamatória mais comum mediada pela célula T". O resultado deste estado "pró-inflamatório" reflete-se principalmente na pele, com aparecimento de lesões pleomórficas, eritematodescamativas ou pustulosas, localizadas com tendência a simetria; ou múltiplas e disseminadas, que trazem graves efeitos inestéticos e psíquico-sociais.

Há um binômio para os sítios alvos da doença: pele-articulação. Da mesma maneira que a pele, as manifestações articulares são espectrais. Desde oligoartralgia ocasional discreta (muitas vezes não diagnosticada) até artrite grave e mutilante, evoluindo com dor, limitação de movimentos, deformidade articular e déficit funcional.

Sabe-se que 20% dos pacientes desenvolvem lesões disseminadas que requerem tratamento sistêmico. Apesar do grande arsenal terapêutico, não existe, até o momento atual, uma medicação ideal. Chegamos então ao problema terapêutico chave da maioria das doenças crônicas: supressão versus remissão. Isto é, o efeito da medicação é pontual e incapaz de se manter por período prolongado após sua suspensão. Como os efeitos colaterais são tempo ou dose-dependentes, isto inviabiliza a manutenção por longo período, que nos impõe a utilização da

terapia rotacional. Independente do local de acometimento, a fisiopatogenia é a mesma. Baseia-se na interação das células inflamatórias infiltrantes (linfócitos T ativados e células apresentadoras de antígeno) com as células residentes da pele ou da articulação (queratinócitos, sinoviócitos, fibroblastos, células endoteliais). A comunicação entre essas células é geralmente mediada pela síntese e liberação de citocinas. O Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- α) tem sido apontado como uma das citocinas mais importantes desse processo e está relacionado a várias etapas do mecanismo de indução da resposta inflamatória. O uso de anticorpos monoclonais específicos anti-TNF- α , apesar de mostrarem bons resultados terapêuticos, são limitados pelo alto custo e pela dificuldade de administração. Alguns questionamentos suscitaram a confecção desta tese: 1) Há maior expressão gênica do TNF- α nas lesões de psoríase? 2) A expressão cutânea e sérica da citocina guardam relação com a extensão ou com a atividade da doença? 3) Em caso afirmativo, nos pacientes com níveis elevados, o TNF- α pode servir para acompanhamento terapêutico? 4) Ainda nestes casos, o uso de anticorpos anti-TNF- α seria a melhor indicação? 5) Dada a grande importância do TNF- α na modulação da inflamação na psoríase, por que uma parcela dos pacientes não apresenta resposta terapêutica? Perguntas para o futuro, que merecem um passo inicial. Por este caminho, o TNF- α poderá ser quantificado no sangue periférico e nas placas psoriásicas, tanto na epiderme como na derme e comparado com os níveis de indivíduos sem doença cutânea ou sistêmica.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Psoríase

A psoríase é uma doença inflamatória, crônica, recorrente, e relacionada à transmissão genética (Elder et al., 1994). Ocorre em aproximadamente 2% da população mundial, mas com prevalência variável conforme a raça e localização geográfica, desde 0,2% em japoneses, 0.97% em países sulamericanos (Kerdel, 1971 apud Christophers e Mrowietz, 1999) a 1,5% no Reino Unido (Gelfand et al., 2005).

Homens e mulheres são igualmente afetados e, 75% dos pacientes desenvolvem as lesões antes dos 40 anos de idade. É uma doença com pico de prevalência bimodal. O primeiro ocorre entre 20 e 30 anos de idade e o segundo entre 50 e 60 anos (11.8% dos pacientes) (Henseler e Christophers, 1985), gerando a hipótese das duas formas de psoríase, em analogia ao diabetes mellitus. A psoríase tipo 1 ou de início precoce, está mais associada com o haplótipo, há forte história familiar, tendência a desenvolver lesões mais extensas e evolução mais instável. Na psoríase tipo 2 ou de início tardio, a associação com o haplótipo é esporádica, a doença tende a ser mais limitada e com evolução mais estável, na maioria dos casos (Bowcock e Krueger, 2005).

A tríade formada pela diferenciação epidérmica anormal, hiperproliferação queratinocítica e inflamação, estruturam as alterações na patogênese da psoríase. Apesar de interligadas e interdependentes, têm-se demonstrado que os fenômenos imuno-inflamatórios num ambiente genético propício seriam os principais fatores.

Figura 1.

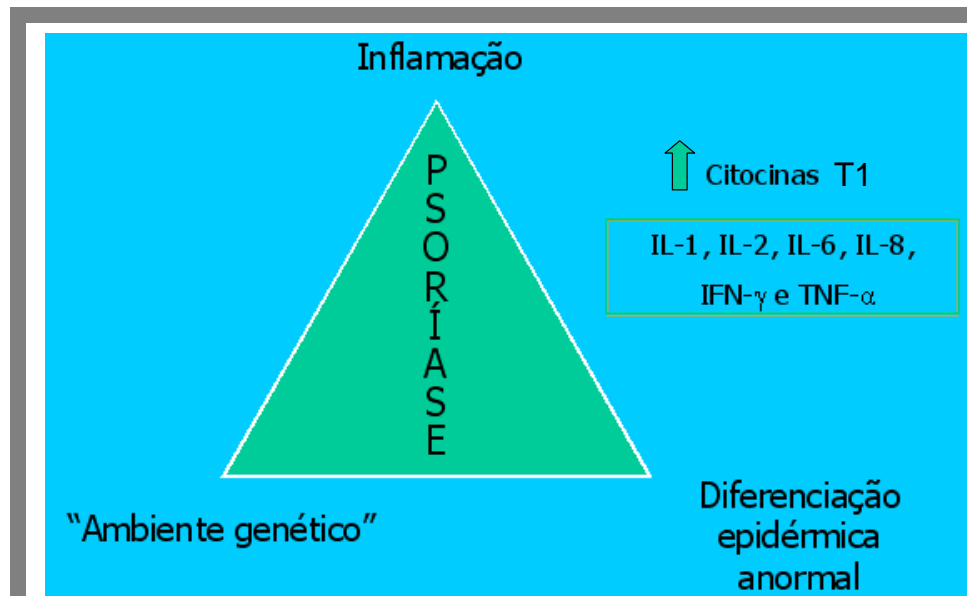


Figura 1 Tríade da fisiopatogênese da psoríase (Brotas et al., 2005)

2.1.1 Predisposição genética

Uma das bases de sustentação dessa pirâmide refere-se à predisposição genética. Durante a anamnese já é possível constatar que um terço dos pacientes refere algum parente com psoríase, principalmente quando o início ocorre em idade mais tenra (Melski e Stern, 1981). Vários estudos reforçam esse conceito pela observação da concordância entre gêmeos monozigóticos (55 a 70%) e dizigóticos (15 a 20%) (Brandrup et al., 1982); pelo desequilíbrio de certos haplótipos (risco relativo maior); e ainda a descrição da maior frequência do polimorfismo do gene promotor do TNF- α , em certas populações com artrite psoriásica (Hohler et al., 1997). No entanto, o fato da concordância entre os gêmeos monozigóticos chegar a apenas a 70% e não 100%, sugere a participação concomitante de fatores ambientais na deflagração da doença. Assim, traumas cutâneos (fenômeno isomórfico de Köebner) ou psicológicos; infecções estreptocócicas, estafilocócicas,

pelo Vírus da Imunodeficiência Humana; hipocalcemia; uso de medicamentos (lítio, captopril, antiinflamatórios inibidores não seletivos da cicloxigenase 1 e 2, cloroquina e terbinafina); alcoolismo e tabagismo podem ter efeitos como gatilhos ou serem agravantes da psoríase (Gupta et al., 1997).

Os pacientes tendem a apresentar evolução e formas clínicas diferentes conforme o haplótipo. Os pacientes HLA-Cw*0602 “positivos” desenvolvem com mais frequência a forma gutata em idade mais jovem. O fenômeno isomórfico de Köebner é mais comum, assim como o agravamento após infecção estreptocócica. Do ponto de vista terapêutico, apresentam boa resposta com a exposição à radiação ultravioleta (Bowcock e Barker, 2003). Essa associação é tão evidente que na psoríase do tipo 1, o alelo HLACw6 está presente em mais de 80% dos casos (Christophers e Mrowietz, 1999). Há ainda a associação da psoríase pustulosa, psoríase artropática axial e de início precoce com HLA-B27 (Brewerton et al., 1974; Queiro et al., 2003); psoríase palmoplantar com HLA-B13 e B17 (reclassificado em HLA-B57) (Zachariae et al., 1977; Carneiro et al., 2004).

Utilizando a análise genética molecular através da técnica do genoma *wide-scans*, investigadores mapearam, até agora, pelo menos 8 *loci* de suscetibilidade designados PSORS1 – PSORS9. O maior determinante está dentro da região PSORS1 do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), responsável por 30 a 50% da contribuição genética na psoríase. Apesar da diversidade na sua localização, em estudos de vários grupos de cientistas, a maioria concorda com a posição no cromossomo 6p21. Quadro 1. A identificação de múltiplos *loci* indica que a psoríase é uma doença geneticamente heterogênea e que a psoríase vulgar, por exemplo, pode representar um espectro de uma doença genética. Numa extremidade estariam as raras famílias em que um simples gene pode ser suficiente

para desencadear a doença. Seriam aquelas em que a doença foi herdada de forma autossômica dominante com alta penetrância. Na outra extremidade está a maioria dos pacientes, sem história familiar, nos quais provavelmente, múltiplos genes (herança poligênica), interagem e dependem de diversos fatores para expressar a doença (Bowcock e Krueger, 2005).

Apesar de complexa, a descoberta das bases genéticas da psoríase e o conhecimento de algumas vias biológicas e suas alterações, têm grande impacto, tanto clínico como terapêutico e ajudam a delinear os indicadores prognósticos.

Locus PSORS	Localização no cromossoma
PSORS 1	6p21
PSORS 2	17q25
PSORS 3	4q
PSORS 4	1q21
PSORS 5	3q21
PSORS 6	19p13
PSORS 7	1p
PSORS 9	4q31-4q34

Quadro 1 Loci mais freqüentes e respectiva localização cromossomial. Modificado (Bowcock e Krueger, 2005)

2.1.2 Diferenciação epidérmica

A epiderme forma um tecido auto-regenerativo com a função de proteger o organismo. Normalmente segue uma proliferação lenta, entretanto, se necessário, tem potencial para uma rápida redução no tempo do *turnover* celular, como o

observado na cicatrização das feridas. Aliás, o reparo das feridas apesar de ser considerado uma forma de resposta fisiológica, apresenta alguns fenótipos/mediadores inflamatórios muito similares àqueles observados na psoríase, o que poderia explicar, em parte, o desenvolvimento de lesões no fenômeno de Köebner.

Um achado característico é a hiperproliferação queratinocítica nas lesões de psoríase, com uma redução em 8 vezes no período do ciclo epidérmico (36 *versus* 311 horas na pele normal), além do aumento em 2 vezes das células em proliferação (Christophers e Mrowietz, 1999). Assim, o queratinócito da camada basal reduz o período de chegada nas camadas superiores malpighianas de 26 para 4 dias, levando a queratinização incompleta representada pela presença de acantose, paraceratose e ausência da camada granulosa ao exame microestrutural. A atividade queratinocítica exagerada leva a formação de proteínas marcadoras de queratinização como a involucrina, queratolinina, transglutaminase-1 (Iizuka et al., 2004), além da expressão de outras não detectadas normalmente na epiderme como SKALP/elafin (Nakane et al., 2002), queratina 6 e 16 (Leigh et al., 1995; Krengel et al., 1998).

Os mecanismos de regulação do desenvolvimento e da maturação dos queratinócitos humanos são dependentes de fatores de controles positivos e negativos, com o objetivo de manter a homeostase epidérmica. Destacam-se como fatores de estimulação: a família do fator de crescimento epidérmico (EGF), o fator transformador de crescimento alfa (TGF-alfa) e a anfirregulina (Hashimoto e Yoshikawa, 1992). A análise quantitativa do TGF-alfa demonstrou um aumento de 4 vezes na epiderme psoriásica. Outros fatores também relacionados são o fator de crescimento insulina-símile e as interleucinas 1 e 6. Apesar de relevantes, esses

achados, isoladamente, não explicam todas as alterações morfológicas, já que o epitélio das áreas não envolvidas também apresenta atividade mitótica exagerada. (Higashiyama et al., 1991)

Muito se têm discutido sobre o defeito primário da psoríase: biologia dos queratinócitos *versus* desregulação das células T. Apesar de prevalecer, no momento atual, a segunda hipótese, alguns pesquisadores ainda incriminam o queratinócito, baseados em algumas observações. Figura 2.

O QUERATINÓCITO APRESENTA UM CICLO HIPERPROLIFERATIVO NA PSORÍASE

1. Liberação autócrina de fatores de crescimento e citocinas: EGF, TGF-alfa, amfirregulina, IL-6 e IL-8;
2. Ativação aberrante dos queratinócitos: aumento da expressão de receptores de bactérias e fungos;
3. Resposta terapêutica aos retinóides e análogos da vitamina D, que afetam primariamente a diferenciação queratinocítica e não são reconhecidos como modificadores da resposta linfocitária;
4. Fenômeno isomórfico de Köebner, trauma direto ao queratinócito;
5. Não há liberação de fatores de crescimento quando queratinócitos normais são cultivados com células T psoriásicas (Bata-Csorgo et al., 1995)

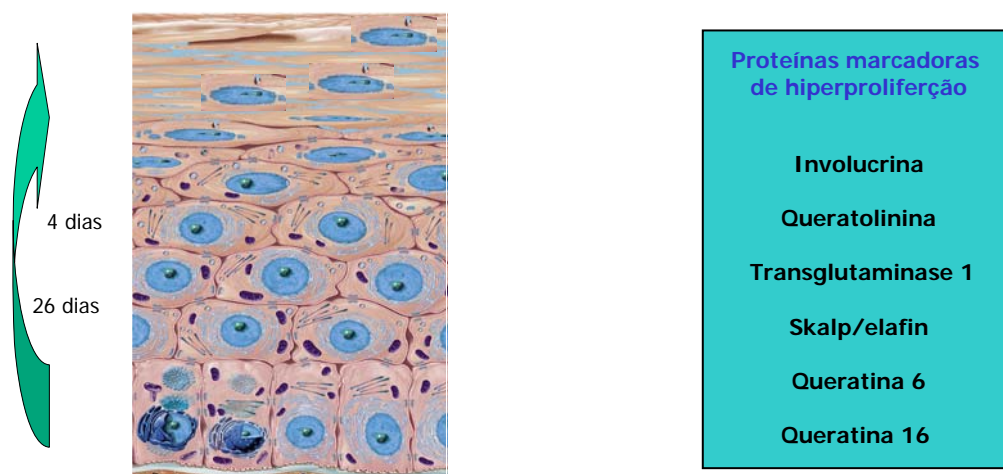


Figura 2 O queratinócito auto-ativado e hiperproliferativo reduz o tempo de migração que conduz a maturação incompleta, com aumento das proteínas de hiperproliferação. Modificado (Eucerin, 2002).

Uma proposta conciliadora seria a existência de um aparato sinalizador do queratinócito (hiperexcitável) que desencadearia uma resposta exagerada, de forma análoga ao que ocorre no reparo das feridas. Esses sinais de alarme por *stress* interno (neuropeptídios, mediadores inflamatórios, leucócitos), ou devido agressões por agentes externos (microbianos e traumas) provocaria a infiltração de células T inflamatórias, ou a expressão de antígenos que estimulariam as células T de memória (McKenzie e Sabin, 2003). Além disso, Qin et al e Nickoloff et al propõem que os queratinócitos suprabasais têm um fenótipo de “*death-defyng*”, que os tornam resistentes à apoptose e à degeneração maligna por terem encontrado, nas placas psoriásicas, grande aumento da proteína p53 não fosforilada, nem acetilada, que é incapaz de desencadear a apoptose (Qin et al., 2002). A resistência à degeneração neoplásica pode ser explicada pela alta expressão de uma proteína de supressão tumoral p16 (Nickoloff, 2001). Esse dado explicaria porque os pacientes com psoríase – epitélio hiperproliferativo – mesmo submetidos a vários tratamentos com para-efeitos carcinogênicos como alcatrão, derivados aromáticos, imunossupressores, exposição à radiação ultravioleta, raramente desenvolvem neoplasia cutânea.

2.1.3 As bases imuno-inflamatórias da psoríase

No pico desta pirâmide, dada atual relevância na condução do pensamento da fisiopatogenia da psoríase, encontra-se a inflamação. Optou-se de início, por segmentar os principais atores desta orquestra e, por final, caracterizar conjuntamente esta dissonância de forma mais detalhada.

O SISTEMA IMUNE CUTÂNEO

A pele é o maior órgão do corpo humano e contém um sofisticado sistema imunológico. O desenvolvimento e a manutenção dos processos imuno-inflamatórios na pele requerem a interação entre as populações de células residentes (queratinócito, células endoteliais) e células infiltrantes (células apresentadoras de antígeno – APC, neutrófilos, linfócitos T). Esse micro-ambiente particular é chamado de sistema imune cutâneo (SIS – *skin immune system*) (Bos e Kapsenberg, 1986). Quando juntamos a este sistema os órgãos linfóides regionais temos o tecido linfóide associado à pele (SALT – *skin associated lymphoid tissue*) (Streilein, 1983). Sua homeostasia deve-se ao equilíbrio entre os múltiplos sinais pró-inflamatórios que são gerados pelas células da pele e os mecanismos capazes de promover a resolução do processo inflamatório cutâneo. Uma falha em um desses mecanismos poderia predispor a pele a desenvolver um processo inflamatório crônico.

2.1.3.1 As células residentes:

OS QUERATINÓCITOS COMO CÉLULAS DO SISTEMA IMUNE:

Os queratinócitos não têm apenas uma função estrutural, mas participam ativamente dos processos imunológicos. Essas ações se tornaram evidentes após a descoberta de uma grande variedade de moléculas biologicamente ativas, por eles produzidas. Podem ser indutores ou células alvos, pivôs na gênese e na expressão de várias doenças cutâneas como eczema, pênfigo, eritema multiforme, doença do enxerto-versus-hospedeiro, além da psoríase. Figura 3 e 4.

Os queratinócitos desempenham diversas funções em várias etapas da regulação imune agindo como sentinela na resposta inata e de célula-alvo antígeno-específica. Quando há modificação em seu microambiente, como ocorre em algumas doenças inflamatórias cutâneas, os queratinócitos são capazes de expressar de HLA-DR e ICAM-1(molécula de adesão intercelular-1), que facilitam o influxo das células T na epiderme (Bos et al., 1993) no início do processo inflamatório (Uchi et al., 2000). Além disso, produzem, constitutivamente, algumas citocinas que atuam precocemente na resposta inflamatória da pele, além de fatores de crescimento. A IL-1 α é capaz de deflagrar o processo inflamatório e de reparo epidérmico à injúria cutânea, quando liberada no meio extracelular (Kupper et al., 1986). A IL-7, que é um fator de sobrevivência para os linfócitos T da epiderme, também pode ser constitutivamente produzida pelos queratinócitos (Meunier et al., 1993).

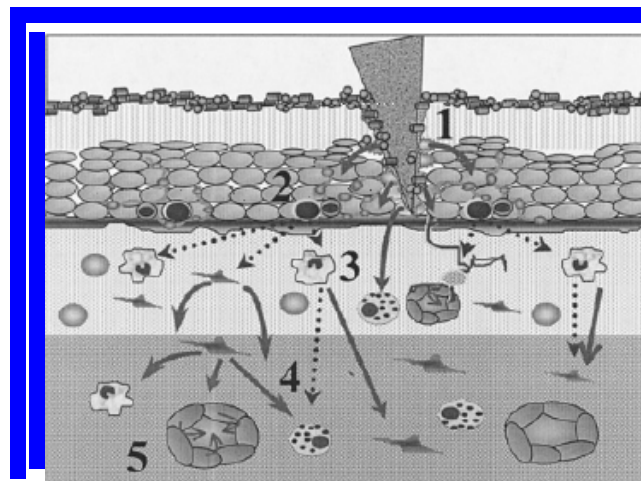
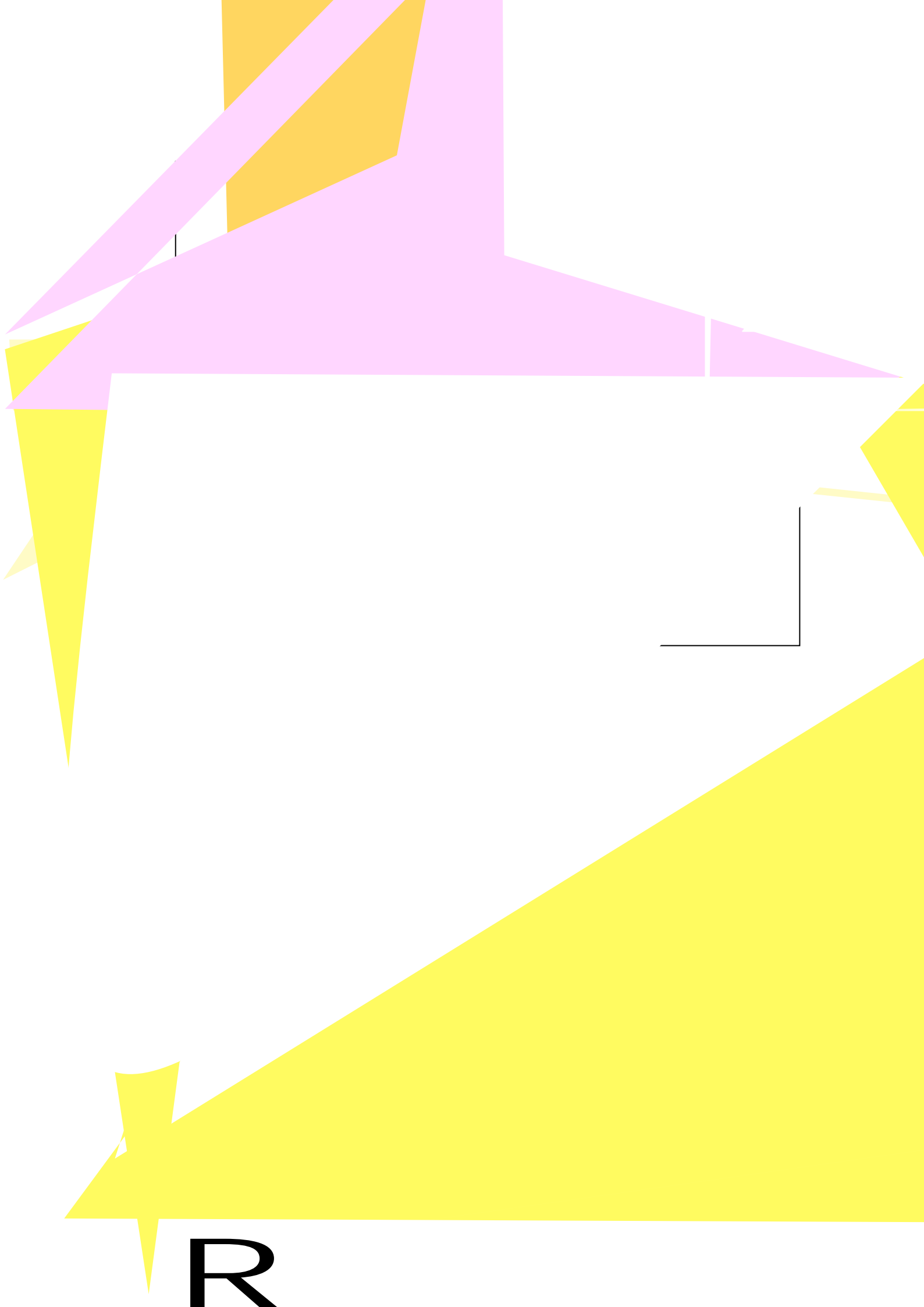


Figura 3 A cascata inicial de citocinas da resposta imune cutânea.

Exemplo: **1.** trauma direto de um objeto estranho leva a ruptura da membrana do queratinócito, liberando IL-1 preexistente, enquanto a quebra da estrutura de queratina, expõe a epiderme a invasão microbiana. O queratinócito estimulado pela liberação justácrina de IL-1 produz mais IL-1, assim como IL-6, IL-8 e TNF- α que se difundem na epiderme. **2.** A exposição das células de Langerhans e do linfócito T ao agente microbiano e às citocinas, induz a a secreção de outras citocinas secundárias como IFN- γ . **3 e 4:** A difusão de citocinas e dendritos neurais que têm contato com a epiderme sinalizam para ativação na derme papilar e reticular, estimulando as células endoteliais, fibroblastos e mastócitos. **5.** As células endoteliais aumentam a exposição de moléculas de adesão, facilitando a chegada de mais células inflamatórias (Spellberg, 2000)



R

expressa de forma mais intensa proteínas de adesão. As moléculas de adesão mais importantes para a pele são classificadas em 3 famílias: a ICAM-1 (molécula de adesão intercelular) e a VCAM-1 (molécula de adesão celular vascular) pertencem à família gênica das imunoglobulinas; as integrinas, dão nome a família; e a E-selectina e a P-selectina são da família das selectinas.

Terajima et al, estudaram por imunistoquímica a expressão e a localização dessas moléculas em pacientes com psoríase em áreas não comprometidas (n=23) e nas lesões de psoríase (n=23), comparando-as com controles (n=9) e observaram que a ICAM-1 teve alta expressão na superfície dos queratinócitos epidérmicos acima da papila dérmica, assim como nas células endoteliais e nas células dérmicas infiltrantes; a VCAM-1 estava presente nos fibroblastos dérmicos, mas, em menor proporção nas células endoteliais; a E-selectina teve expressão no endotélio da derme papilar e no plexo vascular superficial; já a P-selectina foi marcada no endotélio da derme profunda. Na pele não acometida, a ICAM-1, a E-selectina e a P-selectina foram positivas nas células endoteliais da derme superior, já a VCAM-1 foi negativa. Na pele normal houve pequena expressão de ICAM-1 e de forma mínima para E-selectina (Terajima et al., 1998). Ainda neste trabalho, os autores observaram forte expressão de TNF- α nas células endoteliais, o que ressalta sua importância, já que a expressão de ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina é induzida pelo próprio TNF- α , assim como pela IL-1 (Dustin et al., 1986). Figura 5.

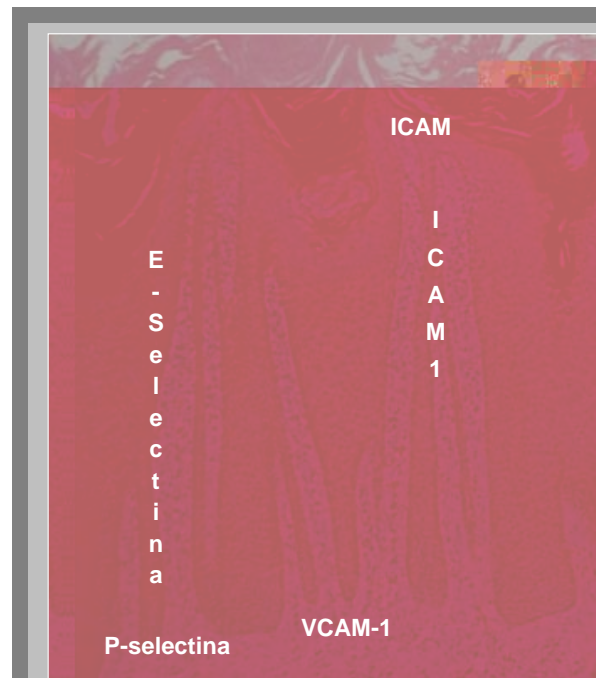


Figura 5 Microscopia óptica de lesão de psoríase. HE 100x: Distribuição das moléculas de adesão na psoríase segundo Terajima.

ICAM-1: queratinócitos epidérmicos supra-papilares, células endoteliais e células T infiltrantes

VCAM-1: fibroblastos dérmicos

E-selectina: endotélio da derme papilar

P-selectina: endotélio da derme profunda.

Figura adaptada (du Vivier, 2004)

A indução da E-selectina parece ser particularmente importante nas reações inflamatórias cutâneas. O aumento da sua expressão é mediado por citocinas e uniformemente associado com a infiltração de leucócitos, com recrutamento seletivo de linfócitos aos sítios cutâneos de inflamação, através da ligação com o antígeno linfocitário cutâneo (CLA). As principais medicações chamadas de biológicas têm ação indireta pronunciada sobre essas moléculas, o que denota a importância das mesmas na psoríase (Saripalli e Gaspari, 2005; Weinberg et al., 2005).

2.1.3.2 As células Infiltrantes

CÉLULAS DENDRÍTICAS (DCS – DENDRITIC CELLS)

O início e o desenvolvimento da resposta imunológica adquirida requer que o antígeno seja capturado e apresentado aos linfócitos T. As células que desempenham esse papel são chamadas de células apresentadoras de antígenos (APCs). As APCs são as células dendríticas mais eficientes, formadas na medula óssea, e correspondem a 2% das células epidérmicas. Mas, devido aos seus longos prolongamentos citoplasmáticos, ocupam até 25% da superfície da epiderme. São encontradas na região supra-basal da epiderme, formando uma rede otimiza suas ações. São células que têm grande mobilidade, apresentam altos níveis de moléculas do MHC classes I e II, receptores de superfície (IL-2R), moléculas de adesão como a ICAM-1 e o antígeno associado à função leucocitária (LFA-3), moléculas coestimulatórias (CD40, CD80 e CD86), e têm grande capacidade de estimular células T naive CD4⁺ e CD8⁺ a responderem a antígenos (Teunissen, 2005).

Em relação a imunologia cutânea, ressaltamos dois subtipos de DCs formadas a partir de células precursoras CD34⁺. Os precursores CD11c⁺/CD14⁺ dão origem às células dendríticas intersticiais (iDC), enquanto as células de Langerhans (LCs) surgem a partir de precursores CD11c⁺/CD14⁻. As iDCs e LCs têm em comum vários marcadores, mas o que as diferenciam são os grânulos de Birbeck e E-caderina presentes apenas nas LCs, enquanto a expressão do fator de coagulação XIIIa⁺ é observada apenas nas iDCs (Caux et al., 1996). As duas são encontradas, principalmente, nos locais de interface do ambiente externo, como as mucosas e a

pele, e são responsáveis pela vigilância imunológica nesses locais. Podem migrar do sangue para os tecidos periféricos e destes para os linfáticos, atraídas por quimiocinas. As quimiocinas e seus receptores são expressos por leucócitos, células endoteliais, e estroma, dentro dos órgãos linfáticos secundários, onde exercem efeito regulatório no encontro entre as DCs, células T e B (Baggiolini, 1998). Assim, as DCs têm duas funções seqüenciais fundamentais: a captura/processamento de antígenos e a segunda, que é de apresentá-los às células T, para estimular a sua proliferação. A maturação das DCs é crucial para a indução da imunidade. Inicia-se após o encontro do antígeno e/ou citocinas inflamatórias e se completa durante a interação DCs-células T.

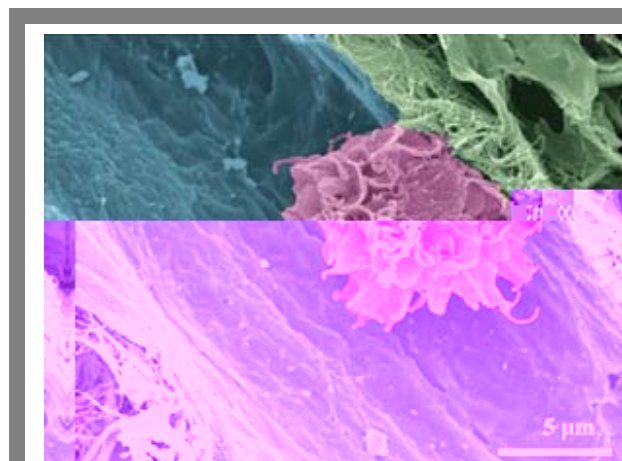


Figura 6 Célula de Langerhans no vaso linfático dérmico em micrografia por varredura (Pfaller, 2003).

OS LINFÓCITOS T

Os linfócitos são produzidos nos órgãos linfóides primários ou centrais (timo e medula óssea) nos organismos adultos em grandes quantidades. Algumas dessas células migram, através da circulação, para os órgãos linfóides secundários como baço, linfonodos, tonsilas, tecido linfóide associado às mucosas (MALT) e a pele

(SALT) (Grossi e Lydyard, 2003). São células do corpo capazes de distinguir e reconhecer de forma específica diversos determinantes antigênicos e são por conseguinte, responsáveis por duas características definidoras da resposta imunológica adquirida, especificidade e memória (Abbas e Lichtman, 2005a). Formam três populações funcionalmente distintas. As células T auxiliares secretam proteínas chamadas de citocinas, cuja função

2000).

As células T da derme são na sua grande maioria células T de memória e representam cerca de 98% dos linfócitos T encontrados na pele. Essas células são encontradas em grupos em volta de vênulas e arteríolas numa proporção de células T CD4⁺ e CD8⁺ de 1:1 (Bos et al., 1987).

OS LINFÓCITOS T NA PSORÍASE

Historicamente, os aspectos clínicos da psoríase sempre chamaram a atenção para as alterações epidérmicas, pela formação de placas espessas e descamativas, relacionadas a hiperproliferação queratinocítica. Mesmo com o desenvolvimento da microscopia óptica, a infiltração das células inflamatórias permaneceu por muito tempo como elemento secundário. O desenvolvimento de técnicas de investigação laboratorial e de novas opções terapêuticas acabou por inverter o foco na fisiopatogenia da psoríase, mostrando que a disqueratinização/hiperproliferação queratinocítica é secundária à inflamação.

Em 1977 Braun-Falco e Schmoeckel observaram que as lesões de psoríase vulgar tinham numerosos leucócitos mononucleares e que estas células surgiam de maneira precoce, como um evento inicial, antecedendo as modificações características da epiderme (Braun-Falco e Schmoeckel, 1977). Um ano após, os linfócitos e os macrófagos foram identificados como as principais células deste infiltrado (Bjerke et al., 1978).

De forma seqüencial, em 1979, durante um ensaio clínico com uso de medicação imunossupressora na artrite reumatóide, dois pesquisadores notaram, por acaso, que alguns pacientes com psoríase apresentavam excelente resposta

terapêutica a ciclosporina A, medicação com potente ação inibidora dos linfócitos (Mueller e Herrmann, 1979). No ano de 1983, com o desenvolvimento da imunofenotipagem BOS et al. demonstraram que havia acúmulo de linfócito T CD4+ e CD8+, assim como de células de Langerhans nas lesões de psoríase (Bos et al., 1983). Subseqüentemente, Baker et al. constataram que a resolução clínica das lesões de psoríase durante o tratamento com PUVA, era precedida por uma depleção de células T, principalmente na epiderme (Baker et al., 1985). Soma-se ainda, o relato de “cura” em dois pacientes submetidos ao transplante de medula óssea (Eedy et al., 1990; Jowitt e Yin, 1990) e a indução de psoríase, quando o doador apresentava a doença (Gardembas-Pain et al., 1990).

Já faz uma década a elaboração de um dos estudos mais importantes na avaliação do papel dos imunócitos no desenvolvimento das lesões psoriásicas realizado por Wrone-Smith e Nickoloff. Os autores fizeram enxerto cutâneo, em camundongos imunodeficientes, com fragmentos de pele (sem lesão) de pacientes com psoríase e, posteriormente, injetaram imunócitos autólogos humanos ativados na derme. Após duas semanas, notava-se descamação e espessamento epidérmico em base eritematosa. Concluíram pelo aspecto clínico, histopatológico e imunoistoquímico dos enxertos, que se tratava de uma lesão induzida de psoríase e que os imunócitos derivados do sangue poderiam desencadear a transformação fenotípica da pele (Wrone-Smith e Nickoloff, 1996). Outro estudo concordante, foi a demonstração da desregulação da resposta linfocitária na psoríase com predomínio do estímulo tipo 1 tanto do linfócito auxiliar como citotóxico na formação de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ e TNF α em oposição às citocinas reguladoras com perfil T2 como a IL-4 (Austin et al., 1999). Figura 7.

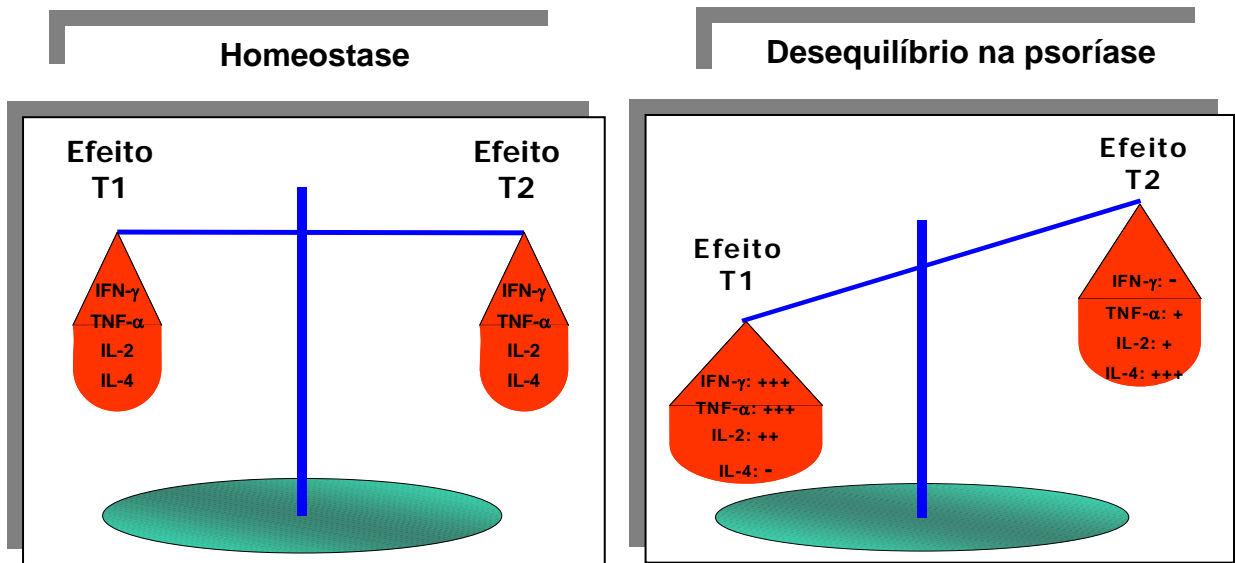


Figura 7 Balança linfocitária na liberação de citocinas. Aumento das citocinas com perfil TC1 e TH1 na psoríase (Brotas et al., 2005) .

Os modelos mais recentes sobre a patogênese da psoríase incorporam achados patológicos e imunológicos nas vias de ativação dos linfócitos T que podem ser caracteristicamente divididas em 3 passos: apresentação do antígeno (ainda desconhecido na psoríase) ao linfócito T pela célula apresentadora de antígeno; ativação das células T nos tecidos linfóides como linfonodos e tonsilas; migração da célula T ativada para a pele (Jullien et al., 2004). O infiltrado inflamatório das lesões de psoríase é dominado pelo influxo de CD4+ e CD8+ com marcadores de ativação [CD25(receptor de interleucina-2)] (Friedrich et al., 2000) que também expressam o receptor específico cutâneo CLA (Fuhlbrigge et al., 1997). O CLA é uma forma de passaporte para a pele nas áreas de inflamação. Essa infiltração acaba por promover a liberação de citocinas como IL-2, TNF- α e IFN- γ que estimulam o recrutamento de mais células inflamatórias e as modificações epidérmicas observadas na psoríase. Esse dado vai ao encontro do achado de Gottlieb et al, em que os queratinócitos epidérmicos das lesões de psoríase sintetizam moléculas do HLA-DR, visto que o IFN- γ induz esta síntese pelos queratinócitos (Gottlieb et al.,

1986).

A GERAÇÃO DA RESPOSTA DO LINFÓCITO T: RECONHECIMENTO ANTIGÊNICO E ATIVAÇÃO

Apesar do extenso conhecimento dos mecanismos moleculares da psoríase, pouco se sabe sobre seu antígeno. Alguns autores defendem que os superantígenos seriam os fatores disparadores da doença (Leung et al., 1995). Apesar da relevância na forma gutata da doença, nem todas as manifestações da psoríase podem ser explicadas por esta teoria como, por exemplo, a psoríase pustulosa que se desenvolve nos pacientes com hipocalcemia. Mas, será que apenas um “mecanismo antigênico” poderia despertar a doença? A análise do receptor de célula T (TCR) das lesões mostra ativação das células dirigidas contra o mesmo antígeno e baseia-se na presença contínua do mesmo rearranjo clonal de TCR e na sua conservação por longo período de tempo, mesmo em pacientes diferentes (Vollmer et al., 2001). As células dendríticas imaturas residentes nos epitélios e tecidos capturam esses antígenos proteicos pela ligação com os receptores para a manose e semelhantes a Toll (TLR), e os transportam aos linfonodos de drenagem. A combinação de antígenos e a liberação de citocinas ativam as células dendríticas que perdem sua adesividade para o epitélio e começam a expressar um receptor de quimiocinas chamado CCR7, que é específico para as quimiocinas produzidas nos linfonodos, mais especificamente, nas áreas T dependentes. É válido ressaltar que os linfócitos T inativos também expressam CCR7, e por isso migram para as mesmas regiões dos linfonodos.

Os linfócitos T são células capazes de recircular, fisiologicamente, em 30 minutos. Migram do sangue para dentro dos tecidos e órgãos linfóides secundários,

retornando ao sistema sanguíneo pelos vasos linfáticos e pelo ducto torácico. O fluxo dos linfócitos pelos linfonodos é muito alto onde, aproximadamente, 25×10^9 células os permeiam todos os dias. Quando não ativados, os linfócitos transitam com poucos destinos predeterminados, porque seu repertório de superfície é restrito em combinações específicas para moléculas de adesão ou receptores de quimiocinas, necessários para penetrar em tecidos extra-nodais. A ausência do (CLA), não a permite ainda, penetrar em áreas específicas da pele. Os linfócitos inativos (*naive*) caminham através das vênulas pós-capilares modificadas que são recobertas por células endoteliais cubóides, chamadas de vênulas especializadas do endotélio alto (HEVs) no linfonodo. Essas vênulas expressam glicosaminoglicanos sulfatados, chamados de adressinas do linfonodo periférico. Os linfócitos T *naive* apresentam grande quantidade de L-selectina que se liga a adressinas nas superfícies das HEVs (Abbas e Lichtman, 2005c). Essa interação apresenta baixa afinidade e é facilmente rompida pela força do fluxo sanguíneo. Como resultado, as células T inativas que se ligam às HEVs permanecem ligadas por alguns segundos, se soltam e se ligam novamente e então começam a rolar na superfície endotelial. Pela presença do receptor de quimiocina CCR7 as células T migram para as áreas dependentes do linfócito T, nos linfonodos e “examinam” as células dendríticas aí presentes. Durante o contato com o antígeno pelo MHC há expansão clonal, com diferenciação em células T efetoras e células T de memória que seguem um padrão de recirculação distinto. Figura 8.

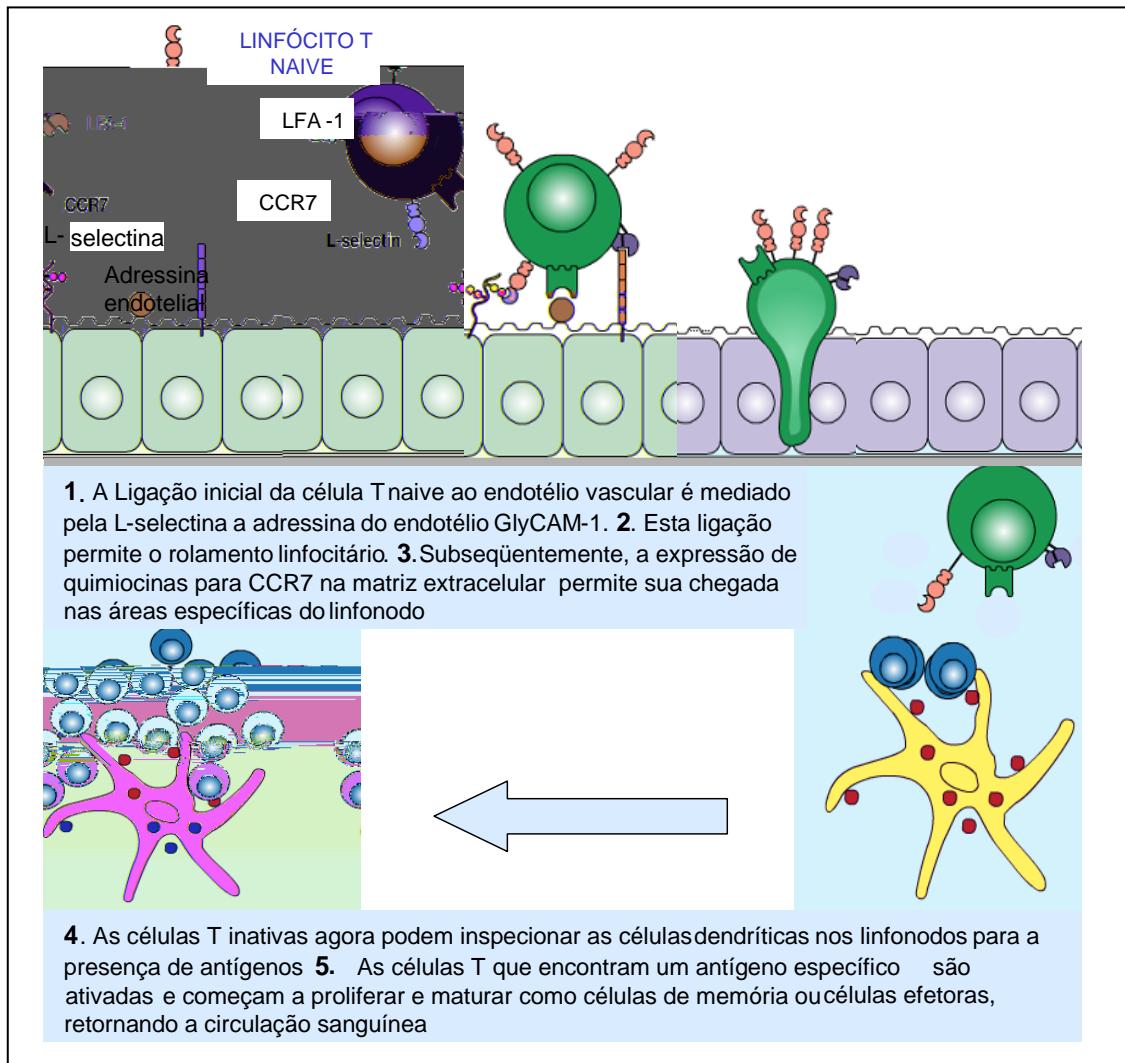


Figura 8 Atração e ativação linfocítica. Modificada (Janeway e Travers, 2002)

A ativação da célula T (por um antígeno cutâneo, por exemplo) é um processo seqüencial complexo que envolve pelo menos dois sinais para ativação completa e proliferação. O sinal primário se origina quando a célula dendrítica reconhece, captura, internaliza e processa o antígeno exógeno ou fragmento peptídico. A DC migra através do sistema linfático até o linfonodo de drenagem da região cutânea acometida, onde o complexo MHC/antígeno será reconhecido por receptores (TCR) da célula T *naive* (CD45RA+) CD4+ ou CD8+ (Robert e Kupper, 1999). As moléculas MHC I e II apresentam antígenos ao TCR no linfócito citotóxico

e auxiliar, respectivamente. O contato da APC com o linfócito é mantido pela ligação do LFA-1 (uma integrina composta de subunidades CD11a e CD18) com a ICAM-1 da APC. Durante este encontro o TCR é engajado com o MHC gerando um conjunto de sinais que aumentam a síntese de RNAs mensageiros para ativação de genes associados como da interleucina 2 (IL-2) e a subunidade α da IL-2R (molécula CD25), que leva a expansão clonal do linfócito.

O segundo sinal denominado co-estimulador é essencial na ativação da célula T e requer a interação de diversas moléculas de adesão e coestimulatórias na superfície da APC e do LT para formar a “sinapse imunológica”. Os pares destas moléculas incluem CD28/B7 (CD80/CD86), ligante do CD40 (CD154)/CD40, LFA-1/ICAM-1 (CD54), CD2/LFA-3 (CD58), na célula T e na APC, respectivamente. O bloqueio desse segundo sinal impede a ativação da célula T, por completo (Delves e Roitt, 2000; Prinz, 2003; Jullien et al., 2004). Figura 9.

A ativação da célula T induz a expressão do CLA na sua superfície de algumas células T, permitindo sua infiltração na região cutânea do estímulo. Assim, a célula ativada prolifera, sai do linfonodo, ganha a corrente sanguínea, até seus receptores de superfícies, agora condicionados/modificados, reconhecerem as áreas de inflamação cutânea. A elevada expressão da P-selectina e da L-selectina na superfície endotelial, proporcionam o rolamento. As citocinas e moléculas inflamatórias presentes na região induzem a mudança de conformação por achatamento do linfócito que facilita sua migração e chegada junto às células epiteliais. Inicia-se nova ativação do linfócito pela ligação com APC via TCR e MHC, com produção de citocinas inflamatórias tipo 1, incluindo IFN- γ e TNF- α que aumentam a proliferação queratinocítica (Austin et al., 1999). Além disso, a ação direta do linfócito, durante a migração na epiderme pode levar a injúria do

queratinócito, deflagrando a hiperplasia epidérmica autoperpetuante.

Quando ativados a maioria dos linfócitos são capazes de fazer um trânsito tecidual “seletivo” (denominado *homing*), reconhecendo órgãos específicos, através de moléculas de adesão nas células endoteliais (Butcher et al., 1980). O *T homing* seletivo é fundamental para o controle da extensão da resposta imune e na compartimentalização da inflamação (Butcher e Picker, 1996).

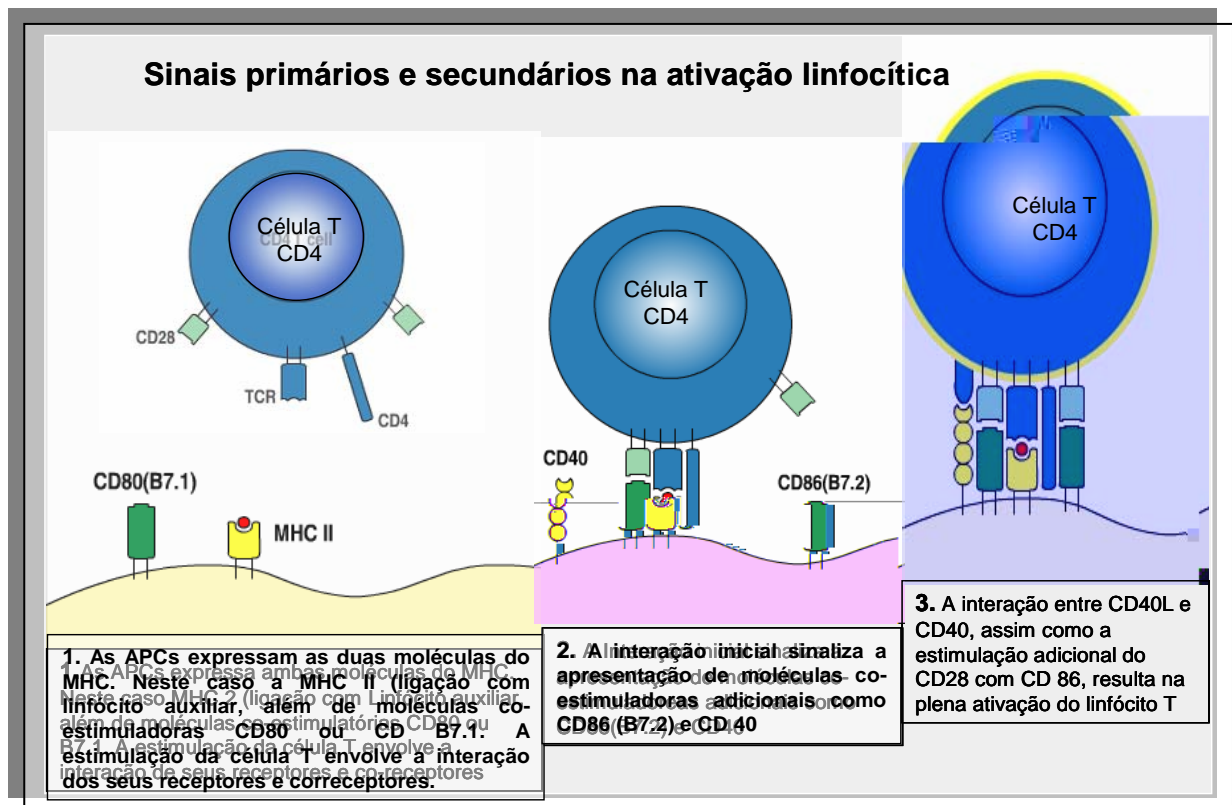


Figura 9 A sinapse imunológica. Modificado (Janeway e Travers, 2002)

A NOVA EXPERIÊNCIA TERAPÊUTICA COM O USO DE BIOLÓGICOS VALIDA O PAPEL DOS LINFÓCITOS

Os mecanismos inflamatórios mediados pela célula T na gênese da psoríase foram validados, inicialmente, no experimento clínico da imunotoxina DAB₃₈₉IL-2 (Gottlieb et al., 1995). A denileucina diftitox, Ontak[®] (*Ligand pharmaceuticals*, San Diego, USA) foi um dos primeiros agentes biológicos com boa resposta na psoríase

e abriu as portas para outros agentes modificadores da resposta celular. Esse agente combina o sítio de ligação da citocina IL-2, relacionada à ativação e proliferação linfocitária, com uma subunidade da toxina diftérica que destroem as células T ativadas. Apesar da resposta clínica, vários pacientes apresentaram efeitos colaterais graves como elevação das transaminases, leucopenia, dermatite esfoliativa, dificultando o uso. Outra medicação desenvolvida com o mesmo objetivo é uma proteína de fusão denominada alefacepte, LFA-3/IgG₁ Amevive[®] (*Biogen, USA*). Seu mecanismo de ação pode ser dividido em duas partes. A porção LFA-3 se liga ao receptor CD2 do linfócito, bloqueando sua interação com a célula apresentadora de antígeno, inibindo a ativação e a proliferação da célula T. A IgG se liga às células acessórias (natural killers e macrófagos), induzindo a apoptose da células T ativada CD4⁺CD45RO⁺ e CD

dá início às vias de sinalização. Como outros hormônios polipeptídicos, iniciam suas ações ligando-se a receptores específicos na membrana das células-alvo. Apesar da maioria das células expressarem baixos níveis de receptores, a ligação apresenta alta afinidade e é capaz de despertar seu efeito biológico como a expressão de novas funções como a diferenciação linfocitária em TH1 ou TH2, proliferação, ou ainda apoptose (TNF- α). Apesar da pouca semelhança entre a maioria das citocinas individuais em relação à seqüência do DNA ou de aminoácidos, elas podem ser divididas em grupos conforme as ações biológicas em (1) citocinas mediadoras da imunidade inata, (2) mediadoras da resposta imune adaptativa e, (3) estimuladoras da hematopoese; ou classificadas pelas semelhanças na estrutura e na seqüência de seus receptores de superfície celular, dando origem às superfamílias de receptores. Os receptores para citocinas da IL-2, IL-3, IL-4, IL6, IL12, pertencem à superfamília de classe I. Uma segunda família, classe II, tem receptores para IFN- γ e IL-10. As citocinas da superfamília do TNF, classe III, apresentam receptores ricos em cisteína com aproximadamente 40 aminoácidos no domínio extra-celular (Abbas e Lichtman, 2005b). Independentes da classificação, diferentes citocinas podem ter subunidades de receptores comuns, daí a redundância funcional e seu funcionamento em rede.

Em relação a psoríase e outras dermatites é essencial reconhecer as similaridades e as distinções entre inflamação e imunidade. Ambos processos podem compartilhar vários mediadores moleculares, incluindo prostaglandinas, proteínas e até mesmo citocinas. As reações inflamatórias são mediadas por uma reação mais difusa sem, necessariamente, precisar de um mediador específico. A reação imune, pelo contrário, envolve a participação das células T, utilizando receptores de superfície de alta afinidade, fundamentais no contato célula/célula. A

gênese de uma reação imune, como na psoríase, pode ser deflagrada por uma variedade de estímulos pró-inflamatórios, mas a evolução da resposta específica imune-mediada, inclui a ativação das células T pelo contato com uma molécula de adesão (ICAM-1) da célula estimuladora. Essa célula expressa um determinante antigênico específico, *self* ou *non-self* referido como um imunógeno (Nickoloff, 1991). As doenças auto-imunes e as reações inflamatórias mediadas por linfócitos têm sido separadas em mediadas por células tipo T1 ou T2, tanto *helper* como citotóxicas (respectivamente, TH1/TH2 e TC1/TC2) (Mosmann e Sad, 1996). Essa designação é baseada, principalmente, na relação entre os níveis de IFN- γ e IL-4, quantificados diretamente nos tecidos ou pela produção das células mediadoras das doenças (Salgame et al., 1991). De forma geral, há maior produção de citocinas com perfil T2 e aumento de IL-4 e IL-10 na doença de Graves, na dermatite atópica e na hanseníase virchowiana (Sampaio et al., 2000). Por essa via, nota-se predomínio da imunidade humoral, aumento da produção de IgE e frenagem da resposta T1. Enquanto na reação de hipersensibilidade celular tardia, hanseníase tuberculóide, artrite reumatóide, doença de Crohn (Najarian e Gottlieb, 2003) e psoríase há uma desregulação na balança da resposta linfocitária com aumento das citocinas pró-inflamatórias com perfil T1 (elevação de IFN- γ e TNF- α), em detrimento as citocinas reguladoras T2. O padrão de citocinas revelado nas lesões cutâneas de psoríase mostra aumento da expressão de IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ , fator transformador de crescimento α e β , fator estimulador de colônia de macrófagos e granulócitos (Grossman et al., 1989; Barker et al., 1990; Gomi et al., 1991; Uyemura et al., 1993; Vollmer et al., 1994; Olaniran et al., 1996).

A REDE DE CITOCINAS NA PSORÍASE

Pode-se dizer, na realidade, que se trata de um “emaranhado” de citocinas, devido redundância, pleotropismo e sinergismo, o que dificulta a construção de um mecanismo linear, relacionado às citocinas no desenvolvimento das lesões. De qualquer maneira, algumas funções primordiais merecem destaque.

A IL-1 assim como o TNF- α também é chamada de citocina primária, já que pode evocar, de forma independente, vários mecanismos capazes de desencadear a inflamação (Steinhoff e Luger, 2005). O queratinócito é a principal célula formadora de IL-1 na pele. Uma vez liberada, pode estimular a angiogênese, aumentar a expressão de moléculas de adesão, ativar as células T, induzir a síntese de outras citocinas como TNF- α , IL-6, IL-8, IFN- γ , GM-CSF (fator estimulador da colônia de macrófagos e granulócitos) e promover a proliferação queratinocítica. A ativação local do linfócito parece ser a alteração central da psoríase; seu influxo precede a neutrofílica e a IL-2 age, justamente, como fator de crescimento linfocítico. Alguns estudos têm mostrado aumento da sua produção nas placas de psoríase (Uyemura et al., 1993). O IFN- γ ativa as células de Langerhans, aumenta a expressão de ICAM nas células endoteliais e nos queratinócitos, coopera com o TNF- α aumentando a produção de IL-8 e agindo em sinergismo; e ainda estimula a liberação de IL-1. A injeção intradérmica desta citocina em áreas não comprometidas de pacientes com psoríase leva o desenvolvimento de lesões na região (Fierlbeck et al., 1990). Já a IL-6 está provavelmente relacionada aos quadros mais graves de psoríase pela sua capacidade de estimulação de proteínas de fase aguda pelos hepatócitos. A IL-8 exerce ação crítica na atração de neutrófilos, além de promover a proliferação do

queratinócito e estimular a angiogênese. Tem sido descrito um aumento na expressão de seus receptores na epiderme lesada (Beljaards et al., 1997).

O TNF- α tem sido o foco mais importante dos estudos, não só pela demonstração do aumento da sua expressão tanto nas lesões cutâneas psoriásicas em placas, acompanhando a gravidade da doença (Ettehadi et al., 1994; Mussi et al., 1997), no soro dos pacientes com lesões pustulosas (Sagawa et al., 1993; Seishima et al., 1998) como na sinóvia e no fluido sinovial dos pacientes com artrite psoriásica (Nickoloff, 1991; Partsch et al., 1997), mas sobretudo, pela eficácia terapêutica dos seus inibidores específicos (proteínas de fusão, anticorpos monoclonais) usados na terapia biológica (Oh et al., 2000; Kirby et al., 2001; O'Quinn e Miller, 2002; Wollina e Konrad, 2002). Figura 10.

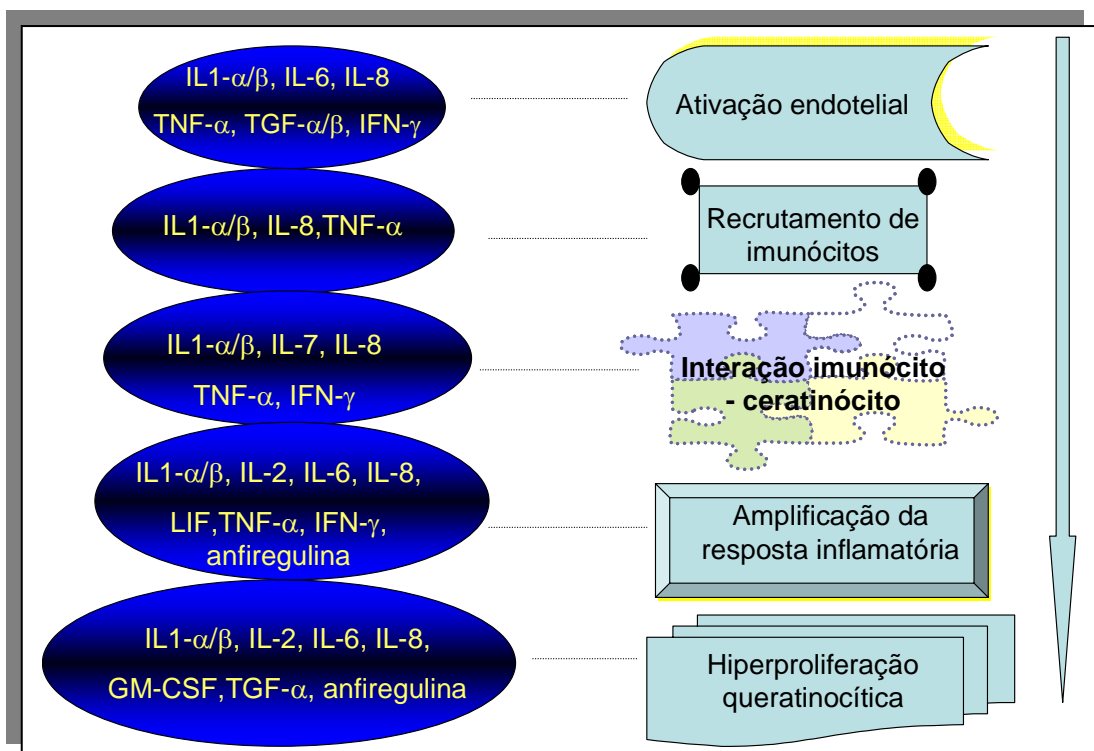


Figura 10 Passo à passo das citocinas na fisiopatogênese da psoríase, culminando com a expressão clínica da doença. Em cada manifestação, as principais citocinas envolvidas são listadas. Devido pleiotropismo e a indução da atividade entre elas uma classificação definitiva e restrita não pode ser apresentada. Modificada (Bonifati e Ameglio, 1999).

O FATOR DE NECROSE TUMORAL-ALFA:

Na biologia, como em todos os domínios da pesquisa científica, áreas completamente distintas se convergem quando um simples princípio estrutura dois fenômenos aparentemente diferentes, neste caso, infecção e neoplasia. Essa convergência ocorre diversas vezes com o TNF- α e suas funções biológicas.

O TNF- α foi descoberto de forma indireta, ainda no século XIX. Um cirurgião denominado Willian Coley, em 1893, observou que alguns pacientes com câncer ao desenvolverem infecção bacteriana, apresentavam necrose e hemorragia do tumor. Na esperança de ter encontrado a cura do câncer Coley injetava nos pacientes sobrenadante de cultura de bactérias. Apesar da regressão do tumor, os pacientes sofriam graves efeitos colaterais da chamada "toxina de Coley". De forma independente, Richard Pfeiffer em 1892, tentou isolar o princípio tóxico de organismos gram-negativos, uma substância que denominou "endotoxina" para distingui-lo das "exotoxinas proteínicas", que já tinham sido descritas (Weaver et al., 2002). Meio século depois, Shear e cols demonstraram, de maneira mais específica, a existência de uma substância capaz de causar necrose hemorrágica em tumores. Esse fato foi observado após injeção de sobrenadante de cultura da *Serratia marcescens*, em camundongos com implantes tumorais de tecidos com degeneração sarcomatosa (Shear et al., 1943). A denominação atual deve-se à descoberta de que a administração de lipopolissacarídeos pode levar a necrose tumoral (Carswell et al., 1975). Um fator sérico que ocasionava emagrecimento intenso, em pacientes com câncer avançado e infecção grave, foi denominado de caquexina e, logo após, observou-se que se tratava de uma substância idêntica ao

TNF- α (Beutler e Cerami, 1988).

O gene do TNF- α foi clonado nos anos 80. Está localizado no braço curto do cromossoma 6, junto ao MHC, tem 3 kilobases e 4 exons. O TNF α maduro compartilha 28% de homologia na seqüência de aminoácidos com outra citocina, a linfoxina (TNF- β), com a qual também compartilha algumas atividades biológicas e podem competir pelo mesmo receptor (Tracey et al., 1989). As funções biológicas do TNF α também se confundem com as atividades de outra citocina de 17 kD, a IL-1, mas são estruturalmente diferentes e não competem com o mesmo receptor.

Os monócitos e macrófagos são as principais células relacionadas à formação do TNF- α , mas outras células do sistema imune também são capazes de sintetizá-lo como as células NK, basófilos, eosinófilos, neutrófilos e linfócitos T e B (Vassalli, 1992); assim como outras células não imunes: astrócitos, célula gliais, neurônios, osteoblastos, melanócitos, células musculares lisas, espermatozóides e tumorais (Bazzoni e Beutler, 1996). De forma constitucional ou mediante estímulo, pode ser produzido por quase todas as células presentes na pele, como queratinócitos, células de Langerhans, células T ativadas, células dendríticas, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais (Larrick et al., 1989; Kock et al., 1990; Nickoloff et al., 1991). A transcrição gênica para o TNF- α é do tipo “precoce e imediata” e dessa maneira, a partir de um sinal, os níveis do TNF aumentam rapidamente entre 15 e 30 minutos (Schottelius et al., 2004).

Esse polipeptídeo é um mediador primordial nas infecções, nos traumas, nas inflamações, assim como na resposta benéfica de defesa do hospedeiro e na homeostase tissular. Dependendo da sua concentração, duração da exposição celular e a presença de outros mediadores, sua rede de efeitos biológicos pode beneficiar ou causar danos locais ou sistêmicos. Figuras 11 e 12.

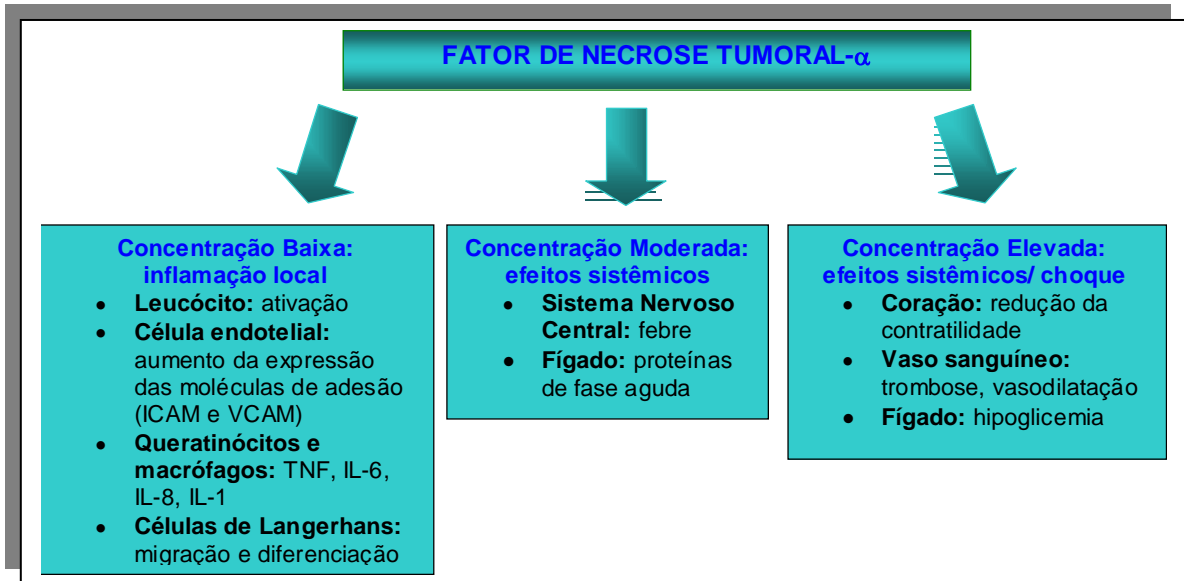


Figura 11 Os efeitos biológicos do TNF- α têm correlação direta com sua concentração e com a célula-alvo. Adaptada (Abbas et al., 2003)

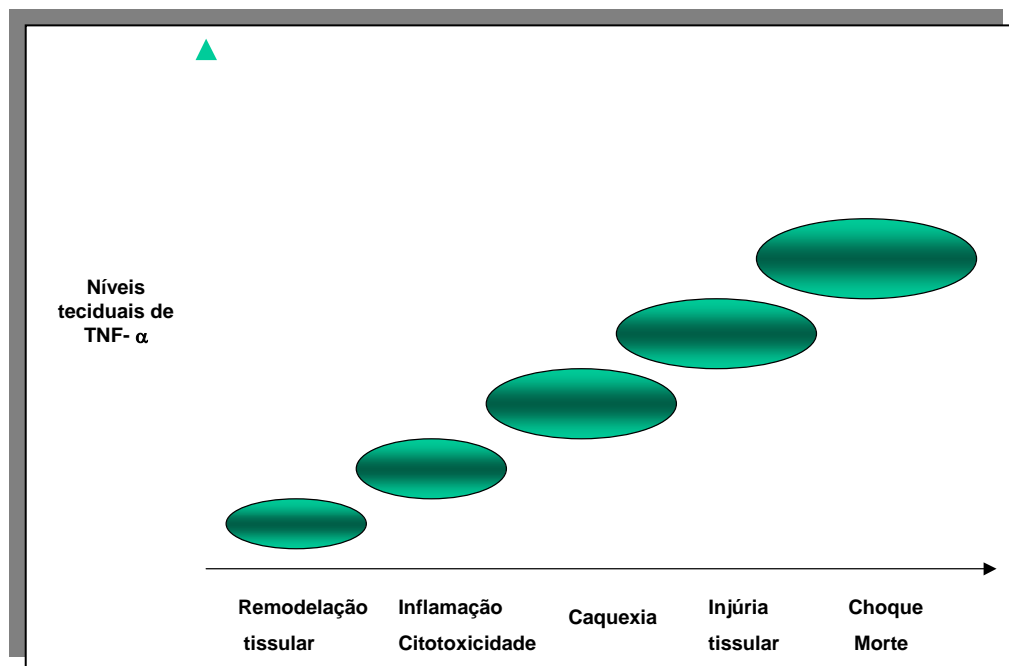


Figura 12 O controle dos níveis da citocina deve ser afinado, pois suas ações podem servir tanto a defesa do organismo como provocar lesão tecidual. Adaptada (Tracey et al., 1989)

A SUPERFAMÍLIA DO TNF E SEUS RECEPTORES

O TNF e seus receptores são membros de uma família composta por mais

de 20 polipeptídeos, que inclui os mediadores mais comuns como a linfotóxina (TNF- β), Fas ligante (FasL), CD 40 e CD40 ligante (CD40L) – relação com a via coestimuladora da ativação linfocitária. Outros membros têm nomes pouco comuns, como APRIL (ligante indutor de proliferação), TRAIL (ligante relacionado à indução de apoptose), BlyS (estimulador de linfócito B), RANK (receptor ativador de NF- κ B) e TRAIL (ligante da indução da apoptose relacionado ao TNF). Uma conferência em 1998 tentou normatizar essa nomenclatura em vão, pois os nomes clássicos, baseados na função biológica são os mais utilizados na literatura médica. Os componentes desta grande família têm características comuns, são proteínas homotriméricas (exceção do TNF- β), estão associadas às membranas celulares e regulam tanto a proliferação celular como a apoptose. Quadro 2.

Superfamília TNF		Superfamília receptor TNF	
Nome sistemático	Nome funcional	Nome sistemático	Nome funcional
TNFSF1	LT, LT- α	TNFSF1A	TNF-R1, CD120a
TNFSF2	TNF- α , DIF	TNFSF1B	TNF-RII, CD120b
TNFSF3	LT- β , TNF- γ , p33	TNFRSF1A	TNF-R1, CD120a
TNFSF4	OX40L; GP34, TXGP1	TNFRSF1B	TNF CD120b
TNFSF5	CD40L, CD154, TRAP, gp39, IMD3, HIGM1	TNFRSF3	LT- β r, TNF-RIII, TNF-Rrp, CD18
TNFSF6	FasL, Apo 1L	TNFRSF4	OX40, ACT35, TXGP1L
TNFSF7	CD27L, CD70	TNFRSF5	CD40, p50
TNFSF8	CD30L	TNFRSF6	Fas, Apo 1, CD95, APT1
TNFSF9	4-1BBL, CD137L	TNFRSF6B	DcR3
TNFSF10	TRAIL, Apo 2L, TL2	TNFRSF7	CD27, Tp55, S152
TNFSF11	TRAIL, Apo 2L, TL2	TNFRSF8	CD30, Ki-1, D1S166E
TNFSF12	TWEAK, DR3L, Apo 3L	TNFRSF9	4-1BB, CD137, ILA
TNFSF13	APRIL	TNFRSF10A	TRAIL-R1, DR4, Apo 2
TNFSF13B	BAFF, BlyS, TALL-1, THANK	TNFRSF10B	TRAIL-R2, DR5, KILLER, TRICK-2
TNFSF14	LIGHT, Ltg, HVEML	TNFRSF10C	TRAIL-R3, DcR1, TRID, LIT
TNFSF15	TL1, VEGI	TNFRSF10D	TRAIL-R4, DcR2, TRUNDO
TNFSF16	—	TNFRSF11A	—
TNFSF17	—	TNFRSF11B	OPG, OCIF, TR1
TNFSF18	AITRL, TL6, GITRL	TNFRSF12	TRAMP, DR3, WSL-1, LARD, TR3, Apo 3
TNFSF19	—	TNFRSF13	TACI, BCMA
TNFSF20	—	TNFRSF14	LIGHT-R, HVEM, HVEA, ATAR, TR2
TNFSF21	—	TNFRSF15	—
TNFSF22	—	TNFRSF16	NGF-R, p75NTR
TNFSF23	—	TNFRSF17	BCMA*
		TNFRSF18	AITR, GITR
		TNFRSF19	—
		TNFRSF20	—
		TNFRSF21	DR6
		TNFRSF22	SOBa, TNFRH2
		TNFRSF23	mSOB

Quadro 2 A superfamília do TNF e seus receptores, nomes sistemáticos e funcionais. Adaptado <http://www.gene.ucl.ac.uk>. (http://www.gene.ucl.ac.uk. Acesso em 11 dez. 2005) The Center for Human Genetics, University College London. TNF, Tumor Necrosis Factor

Existem dois receptores com pesos e afinidades diferentes para o TNF- α , designados pelos pesos moleculares em p55 (55kDa) ou TNF-RI e p75 (75kDa) ou TNF-RII. Cada receptor consiste de um domínio extra-celular rico em cisteína, capaz de se ligar tanto ao TNF- β quanto ao TNF- α , uma porção transmembrana, e outra intra-citoplasmática, responsável pela sinalização. O p75 tem uma afinidade 5 vezes maior, porém, apresenta uma velocidade de dissociação muito maior, $K_{off} = 0.631/\text{min}$, $T_{1/2} = 1.1\text{min}$. Não obstante, é mais seletivo, encontrado, predominantemente, nas células hematopoéticas e nas células endoteliais. Daí sua função principal de ativação das células T (Vandenabeele et al., 1992) e citotoxicidade (Bigda et al., 1994) Já o receptor p55 é distribuído por quase todas as células (exceto eritrócitos) e, está relacionado aos principais atributos do TNF- α como ativação do NF κ -B, aumento da produção de IL-6 e proliferação de fibroblasto. Apesar da menor afinidade, apresenta uma dissociação muito mais lenta, $K_{off} = 0.021/\text{min}$, $T_{1/2} = 33\text{min}$ (Thoma et al., 1990). Essa diferença na cinética de dissociação dos receptores do TNF- α humano tem levado a especulação de que *in vivo* o TNFR-II serve de receptor de passagem para o TNFR-I. Assim, parece que a sinalização do TNF- α é mediada principalmente pelo TNFR-I, pelo menos quando a concentração da citocina é baixa (Tartaglia et al., 1993). Quadro 3.

RECEPTORES DO TNF- α					
	Peso molecular	Afinidade	Cinética de dissociação	Localização preferencial	Funções
TNFI	55kDa	Kd $\sim 1 \times 10^{-9}$	Koff: 0.021/min, T1/2 = 33min	Presente em todas as células (exceto eritrócito)	Ativação do NF- κ B Aumento de IL-6 Proliferação de fibroblastos
TNFII	75kDa	Kd $\sim 5 \times 10^{-10}$	Koff: 0.631/min, T1/2 = 1.1min	Células hematopoiéticas e células endoteliais	Ativação da célula T Citotoxicidade

OBS.: As afinidades dos TNFRs são baixas para uma citocina, mas a do TNFR-II é 5 vezes maior

Quadro 3 Principais característica dos receptores do TNF- α

Vários estímulos inflamatórios podem levar a clivagem proteolítica desses receptores por metaloproteases, com despreendimento da membrana celular da sua porção de reconhecimento. Esses receptores solúveis são encontrados na urina e no sangue, podem se ligar ao TNF- α , limitando o seu efeito (mecanismo de auto-regulação) (Seckinger et al., 1990). A sinalização tanto pelo TNFR-I quanto pelo TNFR-II é disparada pela justaposição dos domínios intra-celulares do receptor durante a ligação do TNF- α homotrimérico. Figura 13.

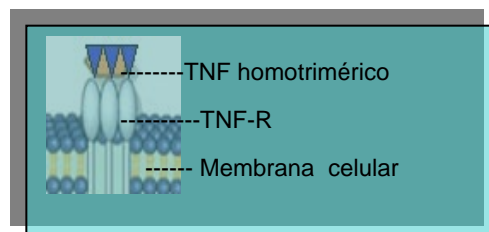


Figura 13 A sinalização: ativação dos receptores justapostos pelo TNF- α homotrimérico

Os fatores envolvidos na regulação da expressão dos receptores do TNF são muito importantes, pois de forma geral, há uma correlação quantitativa na capacidade de ligação com os receptores e a resposta celular, o que potencializa a sensibilidade a citocina. O maior regulador da expressão dos receptores de TNF nas células T CD4, CD8 e CD16 (NK), parece ser a IL-2 (Owen-Schaub et al., 1989).

Uma vez estimulada a sua transcrição, o RNAm do TNF- α sai do núcleo e é traduzido numa proteína precursora integral de 233 aminoácidos, 26-kDa, transmembrânica que serve de substrato para uma enzima conversora (TACE – enzima conversora de TNF- α). A clivagem pela TACE gera uma proteína de 157 aminoácidos, 17,3 kDa, sua forma solúvel e madura. Tanto a forma ligada à membrana como a forma solúvel, são capazes de exercer as funções biológicas (Black et al., 1997; Moss et al., 1997; Mohan et al., 2002). Essa metaloproteinase-desitegrina também é fundamental no processamento de outras proteínas ligadas à membrana, como o receptor do TNF- α , o FasL e o receptor do fator de crescimento epidérmico. Três cadeias desses polipeptídeos de 17kD se polimerizam para formar a proteína circulante do TNF com 51 kD, homotrimérica (Abbas e Lichtman, 2005b). (Figura 13). O TNF secretado assume a forma de uma pirâmide triangular e cada lado da pirâmide é formado por uma subunidade. Os sítios de ligação com o receptor estão na base da pirâmide, permitindo a ligação simultânea da citocina com três moléculas do receptor.

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DO TNF- α

O TNF- α é uma citocina primária que pode evocar um leque de estímulos nos mecanismos da inflamação e da resposta imune fisiológica inata e adquirida,

mas por outro lado, graves conseqüências patológicas têm sido observadas pela sua síntese ou liberação inapropriadas. Não é surpresa então que a sua expressão e a atividade estejam sob uma regulação afinada em diferentes níveis, que dá condições para o trabalho silencioso do gene do TNF- α na ausência de estimulação exógena. A estimulação no nível transcricional (estimulação do gene TNF- α) em outras células é dependente de estímulos definidos: nos macrófagos é induzida por estímulos biológicos, químicos ou físicos; nas células T, pelo contato com seu receptor de superfície; nos linfócitos B pela ligação com a imunoglobulina de superfície; nos fibroblastos pela radiação ultravioleta e em muitas outras células pela infecção viral. Quadro 4.

- Infecção viral, bacteriana, parasitária
- Células tumorais
- Citocinas: IL-1 β , IL-2, IFN- γ , GM-CSF, M-CSF, TNF- α
- Isquemia
- Trauma
- Irradiação
- Lipossacarídeo
- Radiação ultravioleta
- Sinapse imunológica (APC/ célula T)
- Radiação ultravioleta

Quadro 4 Mecanismos implicados da estimulação do TNF- α

Foi descrito que a ligação de TNF α com seus receptores TNF-RI e TNF-RII, induz a expressão de moléculas de adesão ICAM-1 e IL-6 (Kondo e Sauder, 1997).

Essa citocina também é capaz de induzir uma série de outras citocinas que amplificam e estendem sua atividade biológica como IFN- γ e IL-12 (Uchi et al., 2000).

Por outro lado, a produção do TNF- α também pode ser regulada de forma

pós-transcricional. O mRNA do TNF- α e de vários outros mediadores inflamatórios contêm uma seqüência primária de nucleotídeos da região 3', composta de cópias repetidas, ricas em adenosina-uridina (AU). Esta porção é altamente instável e rapidamente degradada pelas RNA-ases citosólicas, controlando assim, a produção inapropriada daquela citocina, o que pode determinar sua eficiência. Algumas substâncias podem estimular a formação do mRNA do TNF- α , mas que não é capaz de ser traduzido, porque essas mesmas substâncias não inibem a formação desta porção instável. Já o lipopolissacarídeo o faz e, dessa maneira, condiciona o aumento exuberante do TNF- α , como observado na sepse por gram-negativo. A produção tecidual da citocina depende da sua capacidade transcricional e da inibição dessa região rica em AU 3' (Caput et al., 1986). Muitos fatores estimulados pelo próprio TNF- α fazem um *feedback* negativo na sua geração, como exemplo os corticosteróides através da inibição transcricional e pós-transcricional da citocina e, a IL-10 pela inibição da ativação do NF- κ B (Schottelius et al., 1999). A integração dessa alça é mais um mecanismo de regulação da magnitude e da duração da expressão dessa citocina. Quadro 5.

- Região não codificada rica em AU da região 3`
- Corticosteróides
- Prostaglandinas
- Citocinas: IL-10
- Aumento dos receptores solúveis
- Anticorpos monoclonais
- Proteínas de fusão
- Talidomida
- Pentoxifilina

Quadro 5 Alguns inibidores do TNF- α .

APOPTOSE VERSUS ATIVAÇÃO INFLAMATÓRIA: VIAS PRINCIPAIS NA SINALIZAÇÃO DO TNF α .

As ligações dos membros da família do TNF e seus respectivos receptores desencadeiam respostas inflamatórias e dependentes da ativação de fatores de transcrição do NF- κ B e da proteína de ativação (AP-1), levando a uma nova transcrição gênica, ou, em contraste, liberam sinais que causam a morte celular e apoptose (Fas).

As caudas citoplasmáticas dos membros da família TNF-R não contêm atividade enzimática e sim porções estruturais que se ligam a moléculas citoplasmáticas e promovem a montagem de complexos de sinalização. As moléculas que contêm domínio de morte são TRADD (domínio de morte associado ao TNF), FADD (domínio de morte associado ao Fas) e RIP (proteína de interação com o receptor). Outro motivo importante, refere-se às TRAFs (fatores associados ao TNF – TRAF1 a 6). No caso do TNF-RI, o TNF pode levar tanto a inflamação como a apoptose. Nesse modelo a proteína TRADD se liga diretamente ao TNF-RI e atua como molécula adaptadora, pivô, literalmente, que leva a uma das duas

cascatas de sinalização diferentes. Em uma dessas vias, a proteína FADD do domínio de morte, se liga ao TRADD e dessa maneira, a caspase 8, que é uma cisteína-protease também se liga ao FADD, que ativa uma cascata de caspases levando, por fim, a apoptose. A via alternativa pró-inflamatória e anti-apoptótica envolve a ligação da TRAF-2 e uma proteína adaptadora que ativa a enzima de degradação da molécula inibidora do NF- κ B culminando em transcrição gênica. A ativação do NF- κ B e da AP-1 promove a transcrição de vários genes envolvidos na inflamação, inclusive moléculas de adesão endoteliais, citocinas e quimiocinas que acentuam a expressão de inibidores celulares da apoptose e bloqueiam a função das caspases. Figuras 14 e 15. Dessa forma, quando a via pró-inflamatória é “empregada” há inibição da via apoptótica. O TNF-RII também participa dos sinais pró-inflamatórios via TRAF-2 através de uma ligação direta e, também é capaz de mediar a apoptose a despeito da ausência da ligação com o domínio de morte FADD (Schottelius et al., 2004).

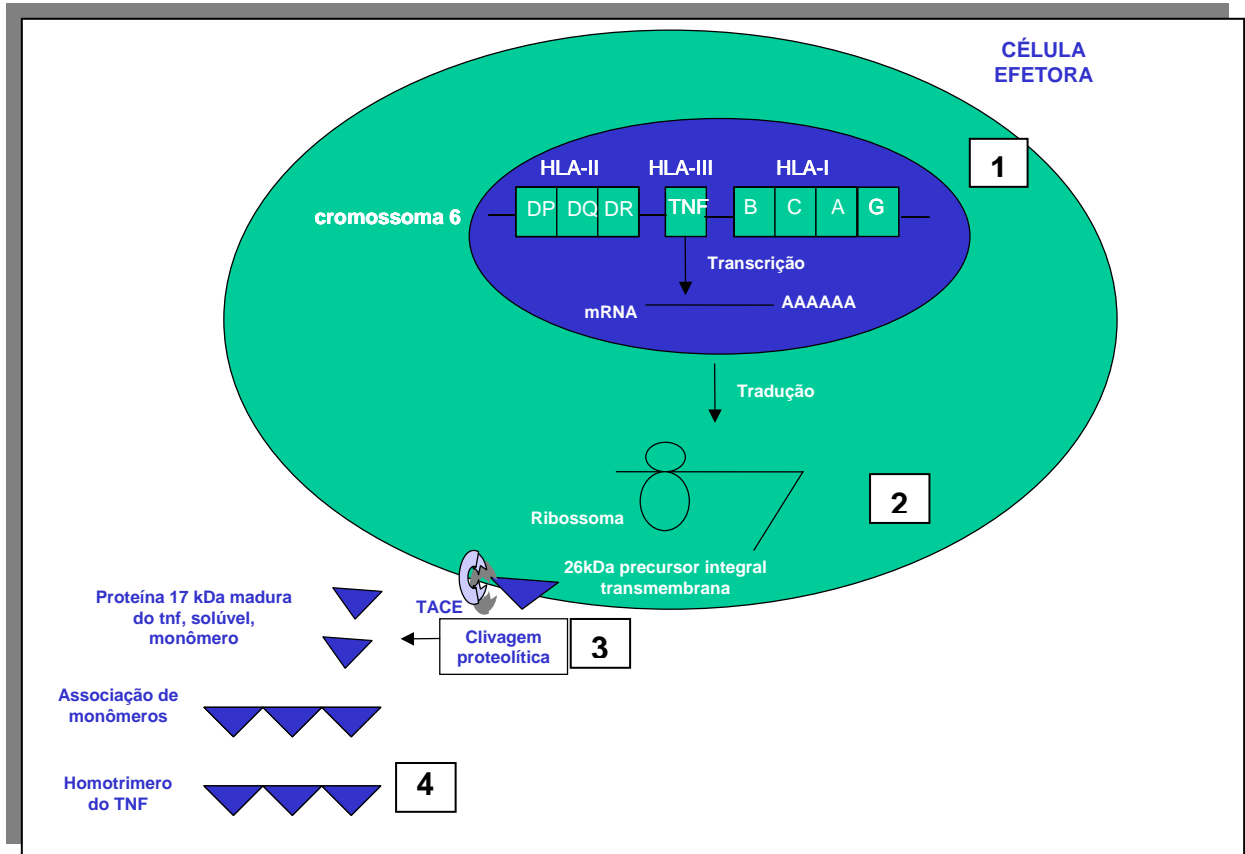


Figura 14 1. Início da transcrição do TNF- α com seu gene localizado no cromossoma 6, mesmo do MHC. 2. Tradução da proteína precursora integral ligada à membrana celular. 3. Clivagem pela TACE e liberação da forma madura, solúvel, monomérica. 4. Associação de monômeros, formando TNF- α homotrimérico, antes da ativação dos seus receptores. Adaptada (LaDuca e Gaspari, 2001)



Figura 15 1. Ligação do TNF- α homotrímérico com justaposição dos seus receptores. 2. Em uma das vias, há ativação das caspases que leva a degeneração celular sem inflamação. 3. A outra via de sinalização é dependente do NF- κ B que estimula a transcrição de novas citocinas, inclusive de TNF- α . Assim uma célula dita alvo, torna-se efetora, ampliando a resposta inflamatória, com proliferação de linfócitos. Figuras A e B adaptadas de www1.geneticsolutions.com/PageReq?id=3844:1873 (Acesso em: 12 nov., 2005) e www.astrosurf.org/lombry/Bio/lymphocyte.jpg (Acesso em 20 dez., 2005), respectivamente

Alguns estudos têm demonstrado que a apoptose de células malignas pode ser inibida pela ativação simultânea da via NF- κ B, e que a inibição do mesmo, aumenta sensivelmente a resposta apoptótica (Baeuerle e Baltimore, 1996; Wang et

al., 1996).

Ainda não se conhece o fator que determina as vias de sinalização da citocina. A concentração da RIP (proteína de interação com o receptor) parece direcionar o TNF-RII para via apoptótica. Assim, o aumento da RIP nas células linfocitárias determina a morte celular, e a sua depleção reduz a suscetibilidade de apoptose pelo TNF- α . Além disso, Grell et al demonstraram que a forma ligada a membrana de 26 kDa do TNF α e a forma secretada solúvel do 17kDa apresentam diferentes afinidades pelos receptores. Eles propõem que o principal ligante para o TNF-RI é a forma solúvel, enquanto para o TNF-RII é a forma do TNF- α associada à célula, de 26 kDa, o que poderia explicar as diferentes capacidades de sinalização de morte ou inflamatória nos diferentes tecidos (Grell et al., 1995).

FUNÇÕES BIOLÓGICAS DO TNF- α : NA SAÚDE E NA DOENÇA

Além da atividade anti-tumoral o TNF- α 1) modula o crescimento, a diferenciação e o metabolismo de uma variedade de células; 2) leva a caquexia por inibir o estímulo hepático da lipogênese e estimular a lipólise; 3) inicia a apoptose de células degeneradas ou células malignas, das células infectadas por vírus, dos linfócitos T e das células epiteliais; 4) produz inflamação. A principal função fisiológica do TNF- α é estimular o recrutamento de leucócitos para os locais de infecção e ativar essas células para erradicar os microorganismos. Ele faz com que as células do endotélio vascular expressem moléculas de adesão que tornam a superfície endotelial adesiva. Estimula os macrófagos e as células endoteliais a secretar quimiocinas que acentuam a afinidade das integrinas leucocitárias aos seus receptores, induzem a quimiotaxia e o recrutamento de leucócitos. Atua nos

fagócitos monucleares para estimular a secreção de IL-1, que age de forma semelhante ao próprio TNF- α . Toda essa seqüência é crítica para a resposta local aos microorganismos. Seu papel na resposta linfocitária T1 é muito importante pela indução da síntese de IL-12 e IL-18, potentes citocinas que estimulam a formação de IFN- γ . Ativam ainda células CD4+ que acabam por aumentar a produção de TNF pelos macrófagos e a geração da resposta inflamatória. Mediadores secundários induzidos pela administração sistêmica do TNF- α incluem citocinas [IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- γ , TGF- β , fator inibidor de leucemia (LIF), fator inibidor de migração de macrófago (MIF)], hormônios (cortisol, epinefrina, glucagon, insulina), proteínas de fase aguda da inflamação, leucotrienos, radicais livres de oxigênio, óxido nítrico e prostaglandinas (Schottelius et al., 2004). Outra propriedade, aparentemente, paradoxal, mas também equilibrada do TNF- α é a capacidade de construção e destruição tissular. Como fator de crescimento, o TNF- α pode estimular a proliferação de fibroblastos e células mesenquimais e induzir a biossíntese de outros fatores de crescimento. Como mediador de destruição induz a síntese de collagenase, proteases, e metabólitos do ácido aracdônico. Daí seu papel ter sido cogitado por alguns autores, no remodelamento de feridas (Tracey et al., 1989).

Quadro 6.

Mas, quando há suscetibilidade (polimorfismo gênico) ou por estímulos exógenos, algumas doenças podem ser deflagradas. No choque séptico a concentração sérica de TNF pode ser preditiva da gravidade das infecções por bactérias gram-negativas, porque o lipopolissacarídeo bacteriano (LPS ou endotoxina) é o estímulo mais potente para liberação do TNF- α (Tracey et al., 1986). O TNF- α age no hipotálamo para induzir febre, e é, portanto denominado pirógeno endógeno. O aumento da temperatura está relacionado ao aumento da síntese de

prostaglandinas pelas células hipotalâmicas. O TNF- α inibe a trombomodulina, um inibidor da coagulação, contribuindo para a coagulação intravascular disseminada. Concomitantemente observa-se redução da contratilidade cardíaca e do tônus vascular resultando em queda das cifras tensionais. A caquexia está relacionada à exposição prolongada ao TNF- α , que gera um estado catabólico pelo aumento da glicogenólise e da lipólise, agravados pela anorexia (Torti et al., 1985).

DOENÇA	EFEITO BIOLÓGICO
Infecção aguda Choque séptico, meningococcemia, malária	Choque, febre, "capillary leak syndrome", necrose hemorrágica, acidose láctica, hiperglicemia e depois hipoglicemia, induz intermediários reativos de oxigênio, fator ativador plaquetário e eicosanóides
Cachequia Infecção crônica, AIDS, neoplasia	Anorexia, perda de peso, anemia, febre, aumento do metabolismo energético, hipertriglicidemia, lipólise, perda proteica, biossíntese de proteínas de fase aguda
Inflamação Formação de abscesso, lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide, autoimunidade, doença do enxerto versus hospedeiro	Quimiotaxia para leucócitos, leucoestase, aumento da defesa não específica, ativação leucocitária e endotelial, induz a expressão de MHC, degranulação neutrofílica, aumenta a capacidade de fagocitose, liberação de eicosanóides
Remodelamento tissular Cicatrização de feridas	Fator de crescimento de fibroblastos, fator angiogênico, estimula fator de crescimento transformador, induz colagenase

Quadro 6 Aspectos metabólicos e celulares do TNF- α na saúde e nas doenças. Adaptada (Tracey et al., 1989)

O FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA NA PSORÍASE

O TNF- α apresenta diversos efeitos a nível celular, que estão correlacionados com os mecanismos fisiopatogênicos da psoríase. Tem sido demonstrado que o TNF- α é capaz de aumentar a produção de diversas citocinas. Essas citocinas pró-inflamatórias podem ser sintetizadas por linfócitos ativados ou queratinócitos exercendo efeitos específicos na doença. A IL-1 estimula a síntese de mais citocinas e a expressão da citoqueratina 6, um indicador de queratinócito

ativado e hiperproliferativo. O próprio TNF- α tem ação direta no aumento da citoqueratina 6 através da estimulação do gene promotor da sua transcrição no queratinócito, gerando o epitélio hiperproliferativo. A IL-6 e o TNF- α são redundantes em vários aspectos funcionais, tanto por estimular a formação hepática de proteínas de fase aguda como por aumentar a velocidade de sedimentação das hemácias, que pode ser observada em pacientes eritrodérmicos e na forma pustulosa e generalizada da doença e, também por aumentar a proliferação de queratinócitos (Neuner et al., 1991). As duas citocinas são encontradas em concentrações elevadas nos pacientes com psoríase. A Interleucina 8 (IL-8) está envolvida tanto na ativação linfocitária como na quimiotaxia de neutrófilos, células presentes nos microabscessos de Munro e Kogoj, característicos da psoríase. O TNF- α pode também aumentar os níveis de NF- κ B através do aumento na degradação da I kappa B, sua proteína inibidora. O NF- κ B é um fator de transcrição nuclear de citocinas como o TNF-alfa, a IL-6, e a IL-8; assim como da ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina (Gottlieb, 2001), quando estimulado tanto aumenta a resposta inflamatória como inibe a apoptose dos queratinócitos.

O TNF- α leva ainda, ao aumento dos receptores do peptídeo vasoativo intestinal que promove o aumento de citocinas inflamatórias e a proliferação dos queratinócitos. Além disso, acaba por estimular a formação do fator de crescimento endotelial vascular por levar ao aumento do óxido nítrico (Sirsjo et al., 1996). A posição e a mobilidade estratégica das células dendríticas são fundamentais para a comunicação entre os microambientes da epiderme e da derme. Essa migração é um dos mecanismos mais precoces na geração da resposta inflamatória cutânea que pode ser influenciada por diversos fatores. A E-caderina é uma molécula de adesão intercelular seletiva presente em todas as camadas da epiderme. A inibição

da sua expressão, mediada pelo TNF- α , facilita a migração da célula de Langerhans que pode aumentar a resposta imune (Schwarzenberger e Udey, 1996).

A morte celular é um fenômeno comum e fundamental para os organismos. Durante o desenvolvimento embrionário, serve para eliminar tecidos provisórios, as membranas interdigitais na formação dos dedos, por exemplo; remover células supérfluas; gerar ductos e orifícios orgânicos. No organismo adulto é fundamental na remodelação dos tecidos, remoção de células desnecessárias, danificadas, redundantes (para manter um número adequado) ou células auto-reativas (por exemplo, os linfócitos T aberrantes que “agridem” o próprio organismo). Essa morte programada e sem inflamação é denominada de apoptose que depende de substâncias indutoras especiais como o TNF- α . Ao analisarmos as manifestações histopatológicas na psoríase – células pareaceratósicas redundantes e o pronunciado infiltrado inflamatório linfocítico – chega-se a conclusão que há uma resposta paradoxal, já que a via de sinalização do TNF- α é exacerbada na transcrição gênica de mais citocinas pró-inflamatórias autogeradoras e perpetuadoras, em detrimento dos estímulos naturais esperados para desencadeamento em série da apoptose. Soma-se então, mais um fato no contexto inflamatório da dermatite. Quadro 7 e 8.

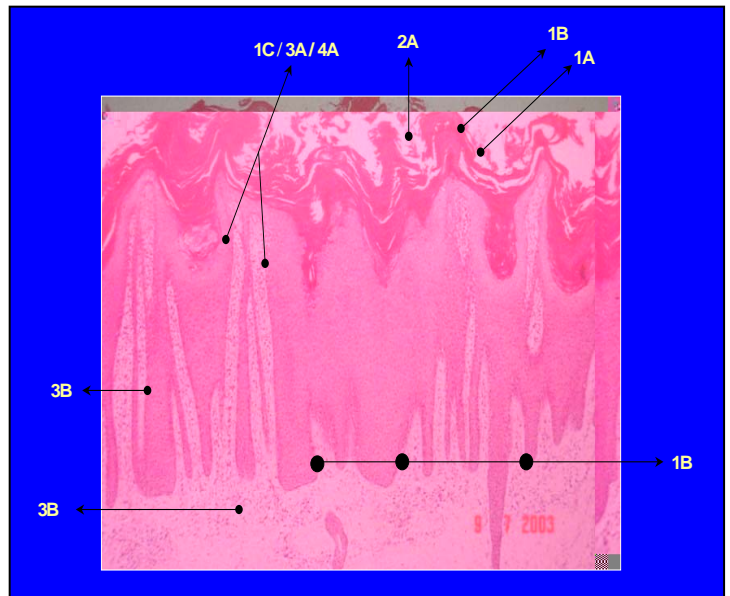
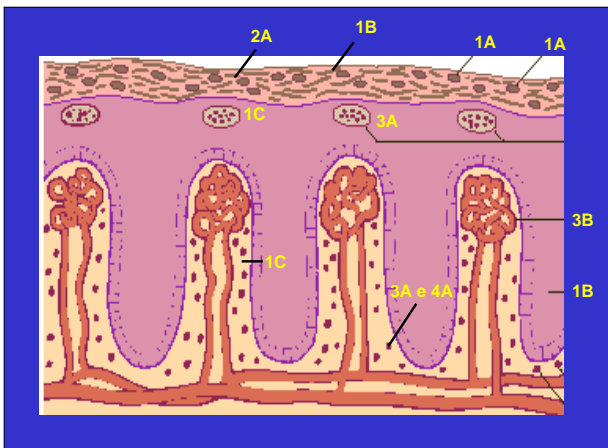
Mas quais seriam as causas deste “desvio de conduta” da citocina? Uma das respostas estaria relacionada ao aumento do PAI-2 (inibidor do ativador do plasminogênico) que protege as células da apoptose levando ao aumento do tempo de vida do queratinócito e conseqüentemente a uma epiderme hiperproliferada.

O resultado deste estado “pró-inflamatório” reflete-se no aparecimento de lesões eritemato-descamativas ou pustulosas, múltiplas e disseminadas associadas ou não às manifestações articulares inflamatórias e até incapacitantes.

AÇÃO CELULAR DO TNF-α	CORRELAÇÃO COM A PATOGÊNESE DA PSORÍASE
Síntese de citocinas pró-inflamatórias: IL-1, IL-6, IL-8	<p>IL-1: estimula a angiogênese e a expressão de E-selectina, ICAM-1, VCAM-1; Ativa linfócitos; Amplifica a inflamação ao induzir a síntese de TNF-α, IL-2, IFNγ, IL-6, IL-8, GM-CSF; Estimula a proliferação queratinocítica. IL-6: produção de proteínas de fase aguda. IL-8: migração neutrofílica (Munro e Kogoj).</p>
Ativa o fator de transcrição nuclear NFκB	<p>Efeito anti-apoptótico nos queratinócitos, Proliferação de células T Formação de citocinas pró-inflamatórias</p>
Estimula a transcrição do gene promotor da queratina 6	Ativação de queratinócitos/epitélio hiperproliferativo
Aumenta mRNA do receptor do peptídeo vasoativo intestinal tipo 1	<p>Promove a proliferação queratinocítica Estimula a síntese de citocinas pró-inflamatórias</p>
Aumenta o inibidor do ativador plasminogênico tipo 2	Protege as células da apoptose
Estimula a produção de ICAM-1	Facilita a infiltração de células T na pele
Aumenta a produção do VEGF e óxido nítrico	<p>Promove angiogênese Facilita o influxo das células T na epiderme</p>
Reduz a expressão da E-caderina	Facilita a emigração das células de Langerhans e o início da resposta imune

Quadro 7 Papel do TNF- α na psoríase. Modificado (Winterfield e Menter, 2004)

1. Ação sobre outras citocinas:	1A= IL-1: aumento de queratina hiperproliferativa(6) 1B= IL-6: proteínas de fase aguda, proliferação queratinocítica 1C= IL-8: Ativação linfocítica e quimiotaxia neutrofílica
2. Proteção contra apoptose	2A= Aumento do PAI-2 (Inibidor ativador plasminogênio): epitélio hiperproliferativo
3. Ação sobre os queratinócitos:	3A= Aumento da ICAM-1: infiltração de células inflamatórias na pele 3B= Aumento do fator de crescimento endotelial vascular(VEGF): aumento da angiogênese
4. Ação sobre as células endoteliais:	4A= Aumento da ICAM-1: infiltração de células inflamatórias na pele



1A: Hiperkeratose	1A: Descamação e sinal da vela
1B: Hiperparakeratose e acantose	1B: Lesão elevada, formando placa
1C: Infiltrado inflamatório linfocítico e microabscessos de Munro e Kogoj	1C: Eritema
2A: Hiperkeratose	2A: Descamação e sinal da vela
3A: Espongiose inicial, infiltrado inflamatório linfocítico, microabscessos de Munro e Kogoj	3A: Eritema
3B: Ectasia e proliferação vascular	3B: Eritema e sinal do orvalho sanguíneo de Auspitz
4A: Espongiose inicial, infiltrado inflamatório linfocítico, microabscessos de Munro e Kogoj	4A: Eritema

Quadro 8 Correlação das citocinas com as alterações clínicas e histopatológicas

Apesar de todos os mecanismos acima apontados, as investigações em laboratório sobre a importância do TNF- α na psoríase, são contraditórios, usam critérios de inclusão e exclusão limitados e técnicas diferentes. Resumo no Quadro 9. Detalhes na Discussão.

	n pele	Contole pele	n soro	Contole soro	Técnica	(PASI)	Fragmento cutâneo estudado	Crítérios de exclusão	TNF- α Pele Psoríase/controle	TNF- α Pele normal de psoriáticos	TNF- α Soro Psoríase/controle
Austin 1999	11	-	14	11	Citometria de fluxo	?	Epiderme	< 10% de área acometida	60% dos linfócitos da epiderme produziam TNF- α CD8: 73% CD4: 59%	-	50%/36%
Uyemura 1993	5	2	-	-	PCR	?	Epiderme e derme	?	5/5 Moderada:2 Alta:2 Mod/alta:1 Controle: 1/2:leve	5/5 Moderado:5	-
Schlaak 1994	2	-	-	-	PCR de células T, obtidas em bolhas	?	Epiderme	?	Testado em 2 casos: baixa concentração	-	-
Bonifati 1994	20	10	20	10	ELISA (Fluido de bolhas)	3-40.5 média: 11.4	Fluido de bolha	Lesão estável	Psoríase 20/20: Média: 145pg/ml Controle 5/10 Média: 8.5pg/ml	19/20 Média: 30.5 pg/ml	Psoríase 15/20 Média: 7.5pg/ml Controle 7/10 Média: 4pg/ml
Takematsu 1989	10	10	-	-	bioensaio	?	Fluido de bolha (5) Estrato córneo de psoríase pustulosa (5)	?	Presente em todos os casos 10/10, sem diferença significativa	Presente em todos os casos 10/10	Indetectável em todos os casos
Gomi 1991	-	-	21	21	Radio-imunoensaio	8-56.7 média: 23.7	Soro	-	-	-	6/21 elevado, e 0/21 dos controles, mas sem significância estatística
Mizutani 1997	-	-	63	20	# PBMC/ ELISA em sobrenadante da cultura de monócito		sangue	?	-	-	Plasma:0 PBMC na psoríase média: 574 pg/ml Controle média: 22 pg/ml
Ettehadi 1994*	16	4	-	-	ELISA Estrato aquoso	5 a 34% área do corpo média:16 \pm 9%	Abrasão das lesões	?	12/16 TNF- α RI; 9/16 TNF- α RII	-	-

Quadro 9 Principais publicações de investigação laboratorial sobre o TNF- α na psoríase

PBMC (Peripheral Blood Monocytes): função das células monucleares na produção de TNF- α

* Estudo dos receptores de TNF- α (p55 e p75)

TERAPIA BIOLÓGICA

O grande desenvolvimento a respeito dos fenômenos imunológicos da psoríase gerou pesquisas com novas opções terapêuticas nos últimos anos. Uma idéia parcial desta dimensão pode ser observada durante a procura através do *pubmed* com os unitermos “psoriasis, treatment”. Até 30 de março de 2006 foram 12790 artigos publicados e destes, mais de 3000 após o ano de 2000, período de início dos ensaios clínicos com uso da terapia biológica na psoríase.

A terapia biológica é baseada no uso de proteínas com atividades farmacológicas derivadas de células vivas. Essas proteínas são moléculas grandes e susceptíveis à degradação no trato digestivo, quando administradas por via oral. Por isso, os agentes biológicos são administrados por via subcutânea, intramuscular ou intravenosa. Apesar de nova modalidade terapêutica na dermatologia, essas medicações têm uma longa história em outras áreas da medicina, como a insulina, que foi o primeiro biológico descoberto (1921), como o hormônio de crescimento e o interferon-alfa.

Em uso corrente, existem duas classes de agentes disponíveis para psoríase, os anticorpos monoclonais (MCAs) e as proteínas de fusão de receptores. Os MCAs podem ser quiméricos, humanizados e humanos. Os MCAs humanizados retêm uma porção menor oriunda de murinos que os quiméricos e assim estão menos associados ao desenvolvimento de anticorpos contra o agente. Já os humanos virtualmente não levam ao desenvolvimento de imunogenotoxicidade. A classe terapêutica dos agentes biológicos é revelada pelo sufixo do seu nome genérico. Nessa nomenclatura todos MCAs terminam em –mab. Especificamente, os MCAs quiméricos terminam em –iximabe (ex. infliximabe); os humanizados terminam

em -izumabe (efalizumabe); MCAs humanos terminam em -umabe (ex. adalimumabe). Já as proteínas de fusão têm o sufixo -cept (ex. etanercept, alefacept) (Sobell, 2005). As novas estratégias no tratamento da psoríase podem ser classificadas pelo seus mecanismos de ação, baseados nas fases mais importantes do desenvolvimento das lesões (1) inibição da célula T, (2) desvio imune da esposta linfocitária, (3) bloqueio da atividade das citocinas inflamatórias. Até o momento, os biológicos que focalizam a estratégia 3, têm obtido os melhores resultados e o princípio básico da ação dessas medicações é inibir o recrutamento de células inflamatórias ativadas para a região cutânea ou articulação envolvida na doença.

INFLIXIMABE (RAMICADE®)

Trata-se de um anticorpo monoclonal quimérico IgG1 (do grego chimaira: monstro fabuloso, com cabeça de leão, corpo de cabra e rabo de serpente ou dragão), isto é, esse anticorpo é formado por uma porção humana e outra animal (murina). Figura 16. É capaz de neutralizar as atividades biológicas do TNF- α , por se ligar com alta afinidade a sua porção solúvel e a porção transmembrana, inibindo sua ligação com o receptor, mas sem inibir o TNF- β . Figura 17. Em vários bioensaios utilizando fibroblastos, células endoteliais e epiteliais, neutrófilos e linfócitos o infliximabe mostrou, *in vitro*, alta capacidade de inibição da citocina. Atualmente aprovado para doença de Crohn, artrite reumatóide e artrite psoriásica (FDA, 2006).

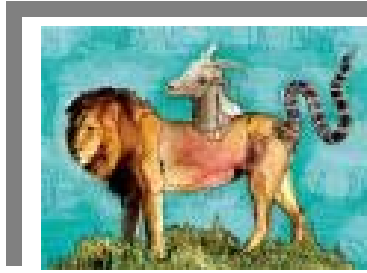


Figura 16 Gravura mitológica de quimera. Adaptada (Wikipedia, 2006)

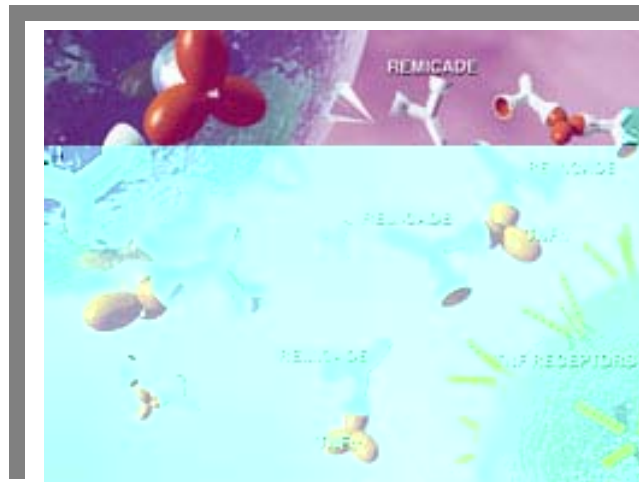


Figura 17 Ligação do Infliximabe (Remicade ®) com o TNF- α . Adaptada (Shanahan e Moreland, 2006)

ETANERCEPTE (ENBREL ®)

É uma proteína de fusão 100% humana, formada pela fusão de 2 receptores recombinantes do TNF p75, unidos com a região Fc da IgG1 humana. Liga-se a citocina com afinidade maior do que os receptores naturais, mesmo monoméricos, e assim, reduz a atividade biológica do TNF. Liga-se tanto ao TNF- α como β . Esta aprovada para uso pelo FDA na artrite reumatóide, artrite reumatóide juvenil, espondilite anquilosante, artrite psoriásica e psoríase. Figura 18.

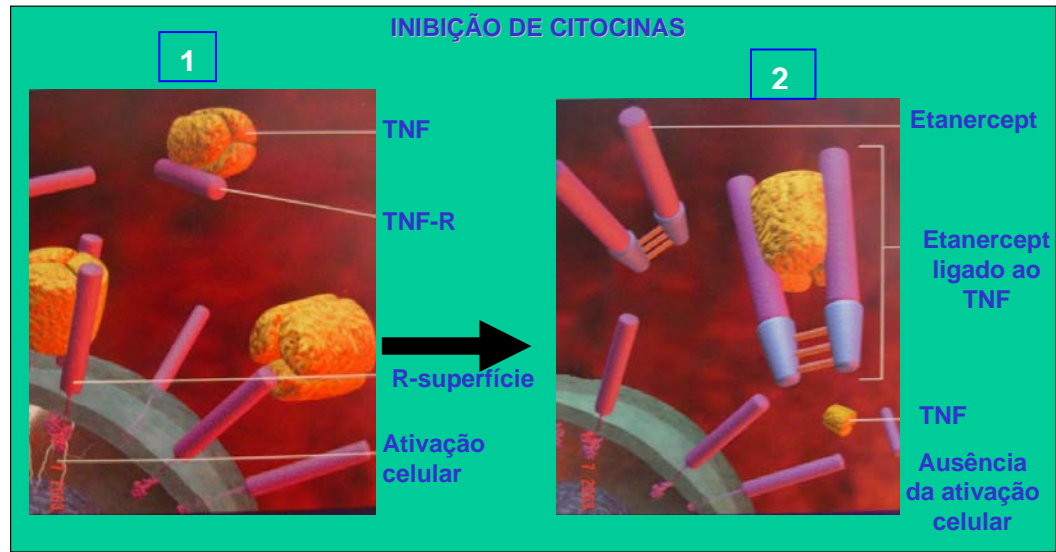


Figura 18 (1) Ligação do TNF ao receptor, essencial para sinalização. (2) A medicação impossibilita a ativação pela maior afinidade ao TNF. Modificada (Wyeth, 2006)

ADALIMUMABE (HUMIRA®)

O adalimumabe é um anticorpo monoclonal IgG1, criado por engenharia genética, idêntico a imunoglobulina IgG humana. Por isso, em teoria, tem menor chance de imunogenicidade. Liga-se ao TNF- α , prevenindo sua ligação com os receptores p55 e p75. A administração pode ser feita por via subcutânea como etanercept ou intravenosa como infliximabe. Aprovado pelo FDA no tratamento da artrite reumatóide. Os estudos estão em fase II para psoríase e espondilite anquilosante (Saripalli e Gaspari, 2005; Weinberg et al., 2005). Quadro 10.

	ETANERCEPTE	INFLIXIMABE	ADALIMUMABE
Administração	25 ou 50mg SC 2x/sem por 24 semanas	3-5mg/kg IV semanas 0,2,6	80mg SC semanas 0,1 e 40mg/sem durante 12 sem
Resultados: PASI 75	25mg 2x sem. Semana 12: 34% 50mg 2x sem. Semana 12: 44%	3mg/kg, = Semana 10: 72% 5mg/kg= Semana 10: 88%	Semana 12: 80%
Início da ação	± 1-2 sem	± 2 sem	± 24h - 7 dias
Vantagens	Aprovado para uso pediátrico Administração subcutânea Remissão prolongada	Altamente efetivo em todas as formas de psoríase Remissão prolongada	Administração subcutânea Anticorpo 100% humano Remissão prolongada
Desvantagens	Preço: \$10 –20.000/ano Agravamento de ICC e desenvolvimento de doenças desmielinizantes Formação de auto-anticorpos e FAN	Preço: \$10 –20.000/ano Administração IV por 2 h Agravamento de ICC e doenças desmielinizantes	Preço: \$16000/ano Agravamento de ICC e doenças desmielinizantes Formação de auto-anticorpos e FAN
Efeitos adversos	Dor abdominal, náusea, vômito, pancitopenia, tuberculose, neoplasia, sepse	Dor abdominal, náusea, vômito, reação durante infusão, tuberculose, linfoma, infecção oportunistica, sepse	Hipertensão, cefaléia, sepse
Status	Aprovado na psoríase e artrite psoriásica	Aprovado na artrite psoriásica e fase III na psoríase	Fase III na artrite psoriásica e na psoríase

Quadro 10 Principais características dos biológicos, inibidores de TNF- α . Adaptado (Saripalli e Gaspari, 2005)

Apesar dessas medicações mostrarem resultados animadores, esbarram no alto custo, dificuldade de administração, possibilidade de efeitos adversos graves, inclusive com risco de vida, relacionados, principalmente, com alteração da imunidade e infecções. Assim, outro campo das chamadas medicações tradicionais, merece destaque em relação à inibição do TNF- α , e quem sabe, poderiam ser mais exploradas no tratamento da psoríase. Quadro 11.

MEDICAÇÃO	MECANISMOS DE AÇÃO
Sulfasalazina	Reduz os níveis do TNF- α , reduz LPS, inibe IKK
Ácido acetil-salicílico	Inibe TNF- α , inibe a síntese de prostaglandinas e agregação plaquetária
Anti-histamínicos	Inibe a secreção do TNF- α em dose-dependente, inibe IL-4, IL-6, IL-13, prostaglandina D2, leucotrieno C4 e a produção de histamina
Tetraciclínas	Reduz os níveis do TNF- α , inibe a síntese do mRNA TNF- α , inibe a síntese proteica de organismos gram + ou gram -
Pentoxifilina	Inibe a produção do TNF- α tanto in vivo como in vitro, inibe a fosfodiesterase, levando aumento do AMPc intracelular que estabiliza a membrana das células inflamatórias, diminui a quimiotaxia, adesão leucocitária, degranulação neutrofílica e atividade da célula NK, reduz agregação plaquetária e eritrocitária, diminui os níveis de fibrinogênio
Antimaláricos	Rápido <i>clearance</i> do nível plasmático de TNF- α , inibe a quimiotaxia e a síntese de prostaglandinas
Talidomida	Reduz a meia-vida do mRNA TNF- α dos monócitos, assim diminui a produção da citocina, após estímulo com LPS, inibe a quimiotaxia e fagocitose, estabiliza a membrana lisossomal, eleva os níveis de IL-2, IL-4, IL-5, supressão da secreção de IgM, reduz as moléculas de adesão, inibe a angiogênese, antagoniza PGE2, PGF2, histamina, aumenta a resposta da célula T CD8+ via coestimulação

Quadro 11 Medicções “tradicionais” com ação anti-TNF- α e mecanismos de ação. PGE2: prostaglandina E2; LPS: lipopolissacarídeo; Adaptado (Saripalli e Gaspari, 2005)

3 OBJETIVOS

1. Avaliar a expressão sérica e cutânea do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) nos pacientes com psoríase, comparando com controles;
2. Correlacionar a expressão do TNF- α com a gravidade e a extensão da doença;
3. Comparar a expressão do TNF- α na epiderme e na derme dos pacientes com psoríase.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo:

Estudo transversal, caso controle.

Vinte pacientes provenientes dos Serviços de Dermatologia das Universidades Federal do Rio de Janeiro e do Estado do Rio de Janeiro com psoríase em atividade (aumento das lesões nas últimas 2 semanas) foram submetidos à coleta de sangue e à biópsia cutânea. Todos tiveram orientação com relação ao estudo, leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Informado (Anexo 1), aprovado pelos Comitês de Ética e Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho e do Hospital Universitário Pedro Ernesto.

4.2 Critérios de inclusão

1. Idade maior que 18 anos;
2. Diagnóstico clínico e histopatológico de psoríase com ou sem comprometimento articular;
3. Presença de lesões em atividade clínica;
4. Conhecimento e assinatura do formulário de Consentimento Livre e Informado.

4.3 Critérios de exclusão

1. Menores de 18 anos;
2. Uso de medicação tópica ou sistêmica para psoríase, nas 2 e nas 4 semanas anteriores ao início do protocolo, respectivamente;
3. Alcoolismo;
4. Uso de antiinflamatórios hormonais e não hormonais, medicações imunomoduladoras, imunodepressoras e lítio;
5. História de neoplasia, imunodepressão ou infecções recentes (2 semanas);
6. Incapacidade ou não concordância de participar do estudo.

4.4 Avaliação clínica

Os pacientes foram avaliados clinicamente conforme o protocolo pré-estabelecido (Anexo 2). O Índice de Área e Gravidade da Psoríase (PASI), foi usado para avaliar a extensão da doença.

O índice psicossocial foi avaliado da seguinte maneira: os pacientes davam uma nota entre 0 a 10 para quanto a doença trazia desconforto nos relacionamentos sociais, de trabalho e familiares.

Acrescentou-se uma pergunta “Como o senhor(a) vê ou avalia este

momento de exacerbação da doença?” Esta pergunta também era respondida pelo médico. As respostas possíveis eram divididas em: muito ruim, ruim e regular.

4.5 Avaliação histopatológica

A confirmação do diagnóstico de psoríase foi feita pelo exame histopatológico com punch de seis milímetros na borda ativa das lesões, em áreas não foto-expostas. O material obtido foi fixado em formol a 10%, tamponado e processado convencionalmente e submetido à coloração pela hematoxilina-eosina no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Clementino Fraga Filho.

4.6 Caracterização do grupo controle

Voluntários de ambos os sexos, entre 18 e 60 anos, sem uso de medicações, história de doença aguda (últimas 2 semanas) ou crônica.

4.7 Quantificação sérica do TNF-alfa

Foi realizada coleta de 10 ml de sangue venoso da região antecubital e armazenado em frasco tijolo vacutainer BD[®]. O material foi centrifugado e congelado à temperatura de 80°C negativos e processado de acordo com as instruções do fabricante (R&D Systems). Os níveis de TNF-alfa de todos os grupos foram mensurados ao mesmo tempo através do método ELISA no Laboratório de Hanseníase do Instituto Oswaldo Cruz. Foi utilizado o limite de detecção de 15 ng/ml, de acordo com o fabricante.

4.8 Quantificação cutânea do TNF-alfa

O fragmento obtido com *punch* de 6 mm da borda da lesão ativa (crescimento nas últimas duas semanas ou lesões novas), em áreas não foto-expostas, foi congelado em nitrogênio líquido e levado ao Laboratório de Hanseníase do Instituto Oswaldo Cruz para posterior análise.

Após a separação da derme e da epiderme, as biópsias foram processadas em Trizol (Gibco BRL) com o auxílio de um homogeneizador e, avaliadas individualmente. A separação mecânica da derme e epiderme fornece praticamente a mesma quantidade de mRNA em comparação (variação entre 1% e 5%) com a separação enzimática onde virtualmente não há “contaminação” de epiderme por

células da derme (Teles et al., 2002).

Toda análise da expressão do mRNA do TNF- α pela técnica de RT-PCR em tempo real, foi realizada ao mesmo tempo e repetida.

PREPARO DO MATERIAL PARA EXTRAÇÃO DO RNAM:

Os fragmentos cutâneos foram armazenados em nitrogênio líquido até o momento das análises. Cada uma das amostras da derme e epiderme, foi processada separadamente em homogeneizador Politron PT-3000 (Brinkmann Instruments Incorporation, Westbury, NY) em dois tubos contendo cada um 3 ml e 1 ml de Trizol™ Reagent (Gibco BRL, Gaithersburg, MD) para derme e epiderme respectivamente. Antes do processamento das biópsias, o homogeneizador passou por cinco lavagens (uma contendo 0,1% SDS em 40ml de água RF (*RNAse free*), sendo uma água tratada com dietilpirocarbonato (Sigma), outra de etanol absoluto, em seguida, água RF e outras duas lavagens com etanol absoluto e água RF, sendo que em todas as lavagens foram utilizadas 40 ml de solução. Após o processamento das biópsias, o volume total de trizol dos tubos, foi distribuído em microtubos em volumes de 1mL.

EXTRAÇÃO DE RNA TOTAL:

Após o tecido homogeneizado, assim como as células isoladas da pele terem sido embebidos em trizol, acrescentou-se 200 μ l de clorofórmio-álcool isoamílico (1:25) seguido de uma centrifugação de 12000 rpm (1200g) por 15 min a 4°C. Após a centrifugação, a fase aquosa foi retirada para um tubo e adicionou-se

isopropanol em igual volume. Reservamos esta solução durante 30 minutos em *freezer* a -20°C . Depois disso, a solução foi centrifugada a 14000 rpm (1400g) por 20 min a 4°C , o sobrenadante foi desprezado, e adicionou-se 600 μl de etanol 70% RF. Seguiu-se nova centrifugação a 14000 rpm (1400 g) durante 15 min a 4°C para uma última lavagem. O sobrenadante foi novamente desprezado e o *pellet* ficou algum tempo reservado à temperatura ambiente, após o qual se adicionou de 10 μl a 25 μl de água RF.

QUANTIFICAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DO RNA TOTAL

A quantificação do RNA foi feita através da leitura espectrofotométrica em comprimento de onda de 260 nm; utilizando uma diluição de 1:50 de RNA em H₂O RF. A análise foi realizada pelo aparelho GeneQuant, utilizando a relação de 1DO (densidade óptica) para 40 $\mu\text{g/ml}$ de RNA em solução. (Teles et al., 2002)

Uma alíquota correspondente a 1 μg de RNA foi adicionada a um microtubo contendo 2 μl de tampão MOPS 5X, 10 μl de formamida 100%, 1,3 μl de formaldeído 37 %, 1 μl de tampão de carregamento 10X (azul de bromofenol 0,025%, xileno cianol 0,025 % e glicerol 30%) e 1 μl de brometo de etídio a 1 $\mu\text{g/ml}$. A solução foi incubada a 65°C por 10 minutos e depois transferida imediatamente para o gelo. Para eletroforese foi preparado um gel desnaturante de agarose contendo formaldeído 1,2% em tampão MOPS.

Quando a integridade do RNA foi verificada, a síntese de cDNA pode ser realizada.

TRANSCRIÇÃO REVERSA (RT):

Em um tubo eppendorf com 1 μ g de RNA, foi adicionado 1 μ L de oligo dT (500ng/mL; Gibco BRL) completando-se o volume para 10 μ L com H₂O RF. O tubo foi incubado por 10 min a 65°C. Adicionou-se 1 μ L de RNazin (inibidor de RNase, 40U/ μ L; Promega Biotech, Madison, WI), 1 μ L de dNTPs (dATP, dTTP, dCTP, dGTP, 0,2mM cada; Perkin Elmer Cetus, Norwalk, CT), 4 μ L do tampão de transcrição 5X (Tris HCl 250mM, KCL 375mM, MgCl₂ 15mM; Gibco BRL), 2 μ L de ditioneitol (DTT 0,1M; Gibco BRL), e 1 μ L da enzima transcriptase reversa Super Script II RNase H⁻ (200U/ μ L; Gibco BRL). A reação foi realizada a uma temperatura de 42°C por 1h, e o tubo aquecido a 100°C por 10min. O volume das amostras foi elevado, finalmente, para 100 μ L com água estéril e os tubos mantidos a -20°C para uso posterior.

PCR EM TEMPO REAL (REAL TIME):

Para o PCR em tempo real, foram utilizados 100ng de cDNA de cada amostra por reação. Para a reação de PCR, adicionou-se em cada tubo (ABI Prism optical plates and tubes, Applied Biosystems) 12,5 μ l de 2X TaqMan Universal Master Mix (1X) [contendo AmpliTaq Gold 250U, AmpErase UNG, 10X Taqman Buffer A e dNTPs], 20X de primers alvos e sondas para as moléculas de interesse (GAPDH, TNF α ,) e no final, 5 μ l de cDNA (100ng). A reação foi realizada em uma máquina de PCR TaqMan (TaqMan ABI Prism® 7000), com 1 ciclo a 50°C por 2 minutos, para a ativação da enzima AmpErase UNG, 1 ciclo a 95°C por 10 minutos para a ativação da AmpliTaq Gold DNA polimerase, e 50 ciclos contendo etapas de desnaturação a 95°C por 15 segundos, e anelamento e extensão em uma mesma

etapa a 60°C por 1 minuto. A detecção e análise dos resultados foram feitas através do programa de detecção de seqüências amplificadas (ABI Prism® 7700 Sequence Detector).

ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A análise estatística foi realizada pelos seguintes métodos:

- ✓ para comparação das medidas de TNF- α entre dois grupos (por exemplo: psoríase e controle) foi utilizado o *teste de Mann-Whitney*;
- ✓ para verificar se existe variação significativa no TNF- α da epiderme para derme foi aplicado o teste dos postos sinalizados de Wilcoxon; e a correlação entre as medidas de TNF- α com o tempo de evolução da doença, PASI eritema e PASI total foram avaliados pelo coeficiente de *correlação de Spearman*.

Os valores do TNF- α não apresentaram distribuição normal (*distribuição Gaussiana*). A grande dispersão dos dados justificou a utilização de testes não paramétricos.

O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5% ($p \leq 0,05$)

5 RESULTADOS

Foram incluídos 20 pacientes com psoríase, dezesseis acompanhados no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – UFRJ e quatro no Hospital Universitário Pedro Ernesto – UERJ. Foram comparadas as amostras de TNF- α do sangue com 10 controles e as amostras cutâneas com 4 controles.

5.1 Resultados clínicos

A idade dos pacientes variou de 18 a 54 anos com média de 36 anos. A idade média de início da psoríase foi de 27 anos. A faixa etária do grupo controle variou entre 24 e 68 anos, com média de 37,2 anos.

Dos pacientes com psoríase 13 eram do sexo masculino e 7 do sexo feminino. No grupo controle do soro, participaram 4 pacientes do sexo masculino e seis do sexo feminino. As amostras cutâneas do grupo controle eram de 3 indivíduos do sexo feminino e um indivíduo do sexo masculino.

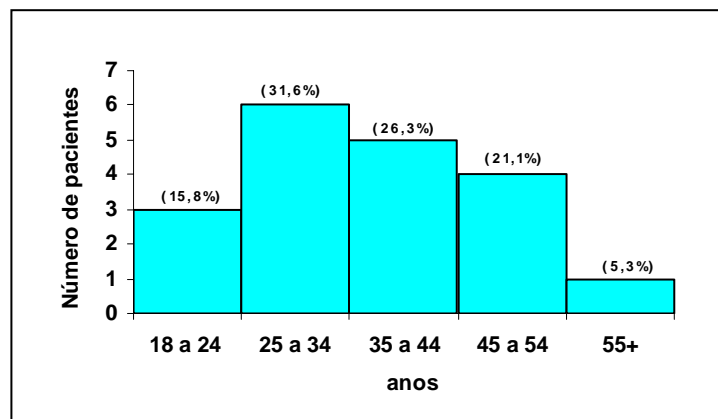


Gráfico 1 Distribuição dos pacientes pela faixa etária

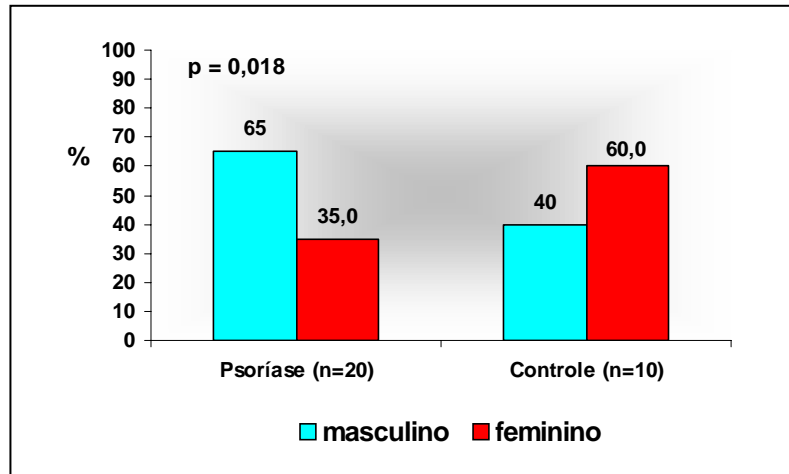


Gráfico 2 Distribuição dos pacientes e controles conforme o sexo

Em relação à cor: no grupo com psoríase, 16 pacientes eram brancos e quatro pardos (nenhum da raça negra); já no grupo controle, 4 eram brancos e 6 eram pardos.

Dezoito pacientes tinham lesões em placas, sendo que dois destes também apresentavam lesões gutatas. A eritrodermia foi observada em dois pacientes

Seis pacientes tinham artralgia e, em apenas 1 caso a dor precedeu as lesões dermatológicas.

O prurido foi um sintoma marcante, presente em 18 pacientes (90%), sendo intenso em 9 e agravado no período noturno em 6 pacientes.

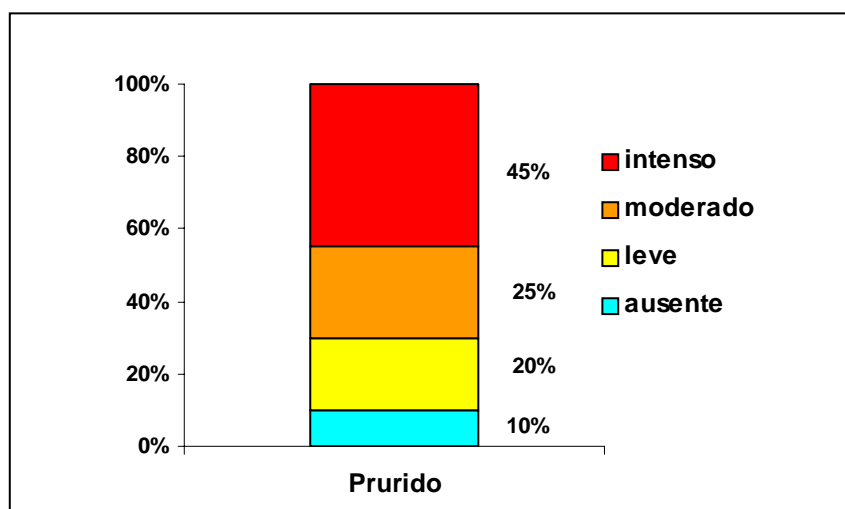


Gráfico 3 Distribuição do prurido pela intensidade

O tempo de evolução da doença variou de 1 mês a 27 anos. Em 13 casos a dermatite tinha menos de 10 anos e, em 3, menos de 1 ano.

O período da última exacerbação da doença variou entre 30 a 210 dias e, o maior foi observado na paciente eritrodérmica.

O fator agravante mais comum, presente em 65% dos pacientes foi o estresse. A interpretação por eles elaborada foi de que o estresse seria “*um período de grande agitação ou com muitos problemas para resolver*”, usualmente associado às relações familiares e aos aspectos financeiros. O segundo fator agravante foi o inverno, referido por 6 pacientes. Um paciente notava piora das lesões com a foto-exposição e na realidade, a maioria das suas lesões eram nas áreas descobertas.

Todos os pacientes já haviam feito tratamento tópico, mais freqüentemente, cremes de corticosteróide (90%).

Tratamento sistêmico foi indicado, em algum período da doença, em 11 pacientes. O metotrexato foi a medicação mais usada (n=4).

Entre as doenças associadas, a mais frequente foi depressão (n=6), normalmente “diagnosticada” pelos pacientes após o aparecimento das lesões. Amigdalite de repetição, diabetes e dislipidemia também foram relatados.

O índice psicossocial foi avaliado com nota 5 por 4 pacientes, com nota 8 por 9 pacientes, com notas nove e dez, por dois pacientes cada. Somente 3 pacientes referiram um índice inferior a 5. A resposta em relação a crise atual foi como muito ruim em 12 pacientes, ruim em 6 pacientes e regular em dois. A resposta do médico para a mesma pergunta foi concordante oito vezes. Em 10 casos, a avaliação do examinador foi melhor que a dos pacientes, enquanto em dois outros, foi pior.

Foram feitas avaliações quanto à gravidade e a extensão da doença pelo

PASI, que variou entre 4 e 52,8 para o PASI total. Oito pacientes tiveram PASI \leq 18, enquanto 12 apresentaram PASI $>$ 18. O PASI-eritema variou de 1 a 18.

Tabela 1 Análise descritiva geral do grupo de pacientes com psoríase

Cód.	Variável	n	Média	D.P.	Mediana	Mínimo	Máximo
X3	Idade	20	36,05	12,18	36	18	59
X6	Δ T doença (meses)	20	108,60	100,12	78	1	324
X9	Número Tto sistêmico	20	1,60	1,88	1	0	5
X13	Δ T crise	20	96,00	45,24	90	30	210
X15	Índice psicossocial	20	6,93	2,35	8	2	10
X20	PASI eritema	20	8,34	4,95	8,9	1	18
X21	PASI total	20	26,34	15,41	27,2	4	52,8

D.P.: Desvio Padrão

Tabela 2 Frequência e percentual das características qualitativas do grupo de pacientes com psoríase

Cód.	Variável	Categoria	n	%
x4	Cor	branco	16	80
		pardo	4	20
x5	Sexo	masculino	13	65
		feminino	7	35
x7	Articulação	sim	6	30
		não	14	70
x8	Tto sistêmico	sim	11	55
		não	9	45
x10	Doença associada	sim	10	50
		não	10	50
x11	Fatores relacionados	não	3	15
		stress	7	35
		stress/inverno	4	20
		stress/verão	1	5
		stress/sol	1	5
		inverno	3	15
		verão	1	5
x12	Clínica	placas	16	80
		placas/gutata	2	10
		eritrodermia	2	10
x14	Prurido	ausente	2	10
		leve	3	15
		leve e noturno	1	5
		moderado	4	20
		moderado e noturno	1	5
		intenso	5	25
		intenso e noturno	4	20
x16	História de eritrodermia	sim	7	35
		não	13	65
x17	Internações	sim	4	20
		não	16	80
x18	Avaliação do paciente	muito ruim	12	60
		ruim	6	30
		regular	2	10
x19	Avaliação do médico	Muito ruim	4	20
		ruim	6	30
		regular	10	50
x21_	PASI total	>= 18	12	60
		< 18	8	40

5.2 Resultados da avaliação laboratorial

5.2.1 Avaliação dos níveis séricos do TNF- α

Foi realizada quantificação da citocina no sangue pelo método ELISA dos pacientes com psoríase (n=20) e dos controles (n=10). Os níveis variaram entre 0,028 e 2178 pg/ml nos pacientes e entre 0,071 e 214,744 pg/ml nos controles. Ao arbitrar o limite de corte em 15 ng/ml, 5 pacientes e 4 controles apresentaram aumento dos níveis da citocina.

5.2.2 Avaliação dos níveis de TNF- α na epiderme e na derme

As amostras da pele foram divididas em epiderme e derme, resultando em 40 fragmentos de pacientes e 8 do grupo controle; como houve perdas, por motivos técnicos, foram estudados 13 fragmentos da derme e 11 da epiderme, oriundos de 15 pacientes.

Nos dois grupos estudados não houve diferença estatisticamente significativa dos níveis de TNF alfa no soro ($p = 0,69$), na epiderme ($p = 0,19$) e na derme ($p = 0,95$).

Tabela 3 Análise estatística do TNF- α segundo o grupo

Cód.	Variável	Grupo	n	Média	D.P.	Mediana	Mínimo	Máximo	<i>p</i> valor
X22	TNF- α soro	psoríase	20	142,54	484,45	6,569	0,028	2178,9	0,69
		controle	10	38,06	66,91	11,2725	0,071	214,74	
X23	TNF- α epiderme	psoríase	11	3,76	6,26	0,67	0	20,67	0,19
		controle	4	0,27	0,49	0,0385	0	1	
X24	TNF- α derme	psoríase	13	7,06	13,51	0,32	0	45,57	0,95
		controle	4	0,54	0,43	0,575	0,001	1	

D.P.: Desvio Padrão; Resultados do TNF- α do soro em ng/ml. TNF- α cutâneo em Unidades de Cópias Relativas (UCR)

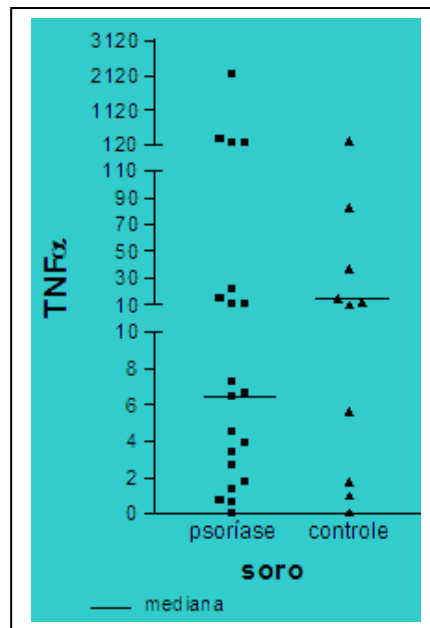


Gráfico 4 Gráfico de dispersão do TNF- α do soro

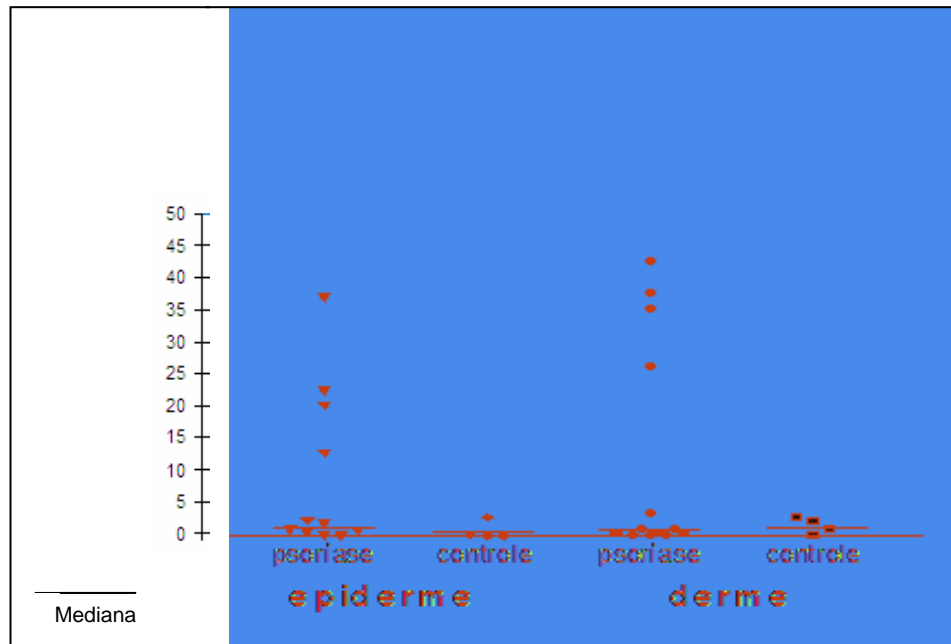


Gráfico 5 Gráfico de dispersão do mRNA do TNF- α na pele

Não houve correlação estatística entre os níveis de TNF- α e a presença de prurido

Não houve correlação estatística entre os níveis de TNF- α e os valores do PASI

Tabela 4 Análise estatística do TNF- α segundo o subgrupo do PASI total

Cód. Variável	PASI total	n	Média	D.P.	Mediana	Mínimo	Máximo	<i>p valor</i>
X22 TNF alfa soro	≥ 18	12	233,04	618,87	8,88	0,696	2178,9	0,21
	< 18	8	6,80	7,58	3,613	0,028	22,024	
X23 TNF alfa epiderme	≥ 18	7	4,80	7,53	0,67	0	20,67	0,77
	< 18	4	1,95	3,17	0,56	0	6,68	
X24 TNF alfa derme	≥ 18	8	8,86	16,87	0,36	0	45,57	0,82
	< 18	5	4,19	5,72	0,17	0	11,96	

D.P.: Desvio Padrão

A comparação dos níveis séricos de TNF- α (>15pg/nl) com os níveis encontrados na derme e/ou epiderme, não mostraram significância estatística.

Tabela 5 Análise estatística dos níveis séricos e cutâneos do TNF- α

Cód.	Variável	TNF soro	n	Média	D.P.	Mediana	Mínimo	Máximo	<i>p valor</i>
X23	TNF alfa epiderme	>= 15	3	3,75	3,22	4,26	0,3	6,68	0,53
		< 15	8	3,77	7,28	0,49	0	20,67	
X24	TNF alfa derme	>= 15	4	5,93	11,56	0,225	0	23,26	0,69
		< 15	9	7,57	14,92	0,4	0	45,57	

D.P.: Desvio Padrão

A relação absoluta entre os níveis de TNF alfa na epiderme e na derme foi obtida pela fórmula: Delta do TNF alfa = TNF alfa na epiderme – TNF alfa na derme

Tabela 6 Relação absoluta entre os níveis de TNF alfa na epiderme e na derme

Cód.	TNF alfa	n	Média	D.P.	Mediana	Mínimo	Máximo	<i>p valor</i>
x23	na epiderme	9	4,57	6,70	0,81	0	20,67	
x24	na derme	9	3,81	7,81	0,32	0,02	23,26	
x30	Delta (epi-derme)	9	0,76	10,58				

6 DISCUSSÃO

As características qualitativas dos pacientes são concordantes com os dados da literatura. No Brasil, mesmo a inexistência de estudos de prevalência faz-nos supor que ela é menor, pela sua população miscigenada, topografia e clima tropical, que favorecem a maior incidência de radiação ultravioleta, reconhecida como terapêutica. Outro dado semelhante refere-se à faixa etária de início das lesões, média de 27 anos que, combina com a idade média de início da psoríase na população geral, entre 27-29 anos (Farber e Nall, 1974). Tanto a extensão como a gravidade e a duração prolongada da psoríase na população do estudo são próprios da demanda de um Hospital Universitário, referência em pesquisa sobre a doença. Sessenta e cinco por cento dos pacientes tinham psoríase grave (PASI > 18) (Mizutani et al., 1997), com média geral de 26,2. Esse fato explica também, a grande proporção de pacientes do grupo que já havia utilizado tratamento sistêmico. Ainda em relação à terapia, chama a atenção o uso indiscriminado de corticosteróide tópico facilitado pelo fácil acesso.

Dois motivos principais estão relacionados a disparidade dos estudos em relação a prevalência das manifestações articulares na psoríase (6,8% a 30%) (Carneiro et al., 1994): o início insidioso, que pode ser interpretado como lesão por esforços repetidos (LER) e o viés: examinador dermatologista ou reumatologista. A revisão sistemática da anamnese aumenta a sensibilidade do diagnóstico, já que o paciente não correlaciona a queixa articular com as manifestações dermatológicas. Nessa casuística 30% dos pacientes tinham queixas articulares.

Sabe-se que a depressão acompanha frequentemente as doenças crônicas,

ainda mais quando associadas a modificações estéticas cutâneas. Torna-se difícil caracterizá-la como fator causal/agravante ou secundária, assim como o alcoolismo. De qualquer forma, a depressão foi a doença mais associada, presente em 7 pacientes. Os pacientes relatavam maior dificuldade para formalização nos empregos, separação conjugal e abstinência sexual do parceiro, como os principais fatores agravantes da depressão. Na maioria das vezes tentavam esconder as lesões com vestuário, tinham tendência ao isolamento social e ciclo restrito de amizades. Amigdalite de repetição foi a segunda doença, seguida de diabetes e dislipidemia. Sabe-se que a psoríase gutata tem associação com infecções de repetição, no entanto a forma em placa também pode ser exacerbada por infecções de vias aéreas superiores, como observada em 2 pacientes. Além disso, a forma gutata pode ser caracterizada como uma fase de transição em muitos pacientes e, não é por acaso que em vários pacientes são observadas lesões puntiformes, milimétricas, concomitantes e sincrônicas com as lesões em placa, também presente em dois casos da nossa casuística. Figura 19.



Figura 19 Paciente com lesões gutatas que coalescem e formam placas

Apenas um paciente tinha aumento dos níveis de colesterol, dado que deve ser valorizado, pela sua associação cada vez mais descrita em pacientes com psoríase e relacionada ao aumento do risco de doença coronariana (Mallbris et al., 2006). De forma justa, a avaliação da qualidade de vida nas doenças crônicas tem sido cada vez mais investigada nos trabalhos atuais. Apesar das dificuldades em quantificar uma pergunta subjetiva, vários questionários têm tido sucesso nesta avaliação e, associados ao PASI podem ajudar a quantificar a gravidade da doença. De maneira pontual tentamos analisar alguns aspectos que por vezes fogem da consulta “tradicional” através do índice de agravo psicossocial e em relação à visão do surto atual pelo paciente e pelo médico. Não houve correlação do PASI com o índice, já que há grandes variações quanto aos aspectos culturais e sociais, o que merece uso de questionários mais amplos em que esses valores sejam mais caracterizados (Inanir et al., 2006). A visão dos pacientes em relação ao momento

da doença na grande maioria das vezes foi pior que a interpretação dos médicos. Essa pergunta é relevante, e implica numa mudança da abordagem terapêutica com enfoque no doente maior que na doença.

O prurido tem aspectos moleculares e neurofisiológicos semelhantes à dor. A substância P e outros neuropeptídeos induzem a degranulação dos mastócitos e contribuem para supra-regular a liberação do TNF- α (Theoharides et al., 1998). Tem natureza subjetiva, sendo, portanto de difícil definição e mensuração. Esteve presente em 18 pacientes e, em nove casos foi classificado como intenso, que pode ser relacionado à atividade da doença. Nas dermatites crônicas expressa o aspecto emocional ligado a doença, haja vista que uma boa proporção relatou seu agravamento à noite, período em que há redução dos focos de atenção, que permite ao paciente dedicar-se àquele estímulo. Do ponto de vista psicanalítico, trata-se de uma forma de prazer, que por final torna-se autoperpetuante. Nesse estágio, não se pode dizer, se há prurido pela lesão, ou se toma-se a lesão pelo prurido. A coçadura é um trauma e pode induzir o fenômeno isomórfico de Koebner.

Estresse, palavra de origem inglesa que segundo Aurélio significa “conjunto de reações do organismo a agressões de ordem física, infecciosa ou psíquica, capazes de perturbar a homeostase”. Esse fator agravante apresentou correlação direta com o prurido, como tal é imponderável e merece tratamento. Afinal, um exacerba o outro e espelham as manifestações subjetivas da doença.

“A psoríase é a doença inflamatória mais comum mediada por linfócitos T” (Krueger et al., 2000). Essa frase de impacto, ganha sentido não somente pelo estudo da célula propriamente dita, mas também pelos seus mecanismos de ação, células-alvos e, principalmente, pela sua forma de comunicação. Saber sobre ela, sem conhecer as citocinas relacionadas é como trabalhar com um engenheiro sem

conhecer as suas obras.

Nos últimos 30 anos o foco de estudo da psoríase mudou completamente e não faltaram motivos para isto. Desde a observação de que a inflamação antecedia às manifestações clínicas e que a melhora clínica ocorria após redução do infiltrado inflamatório, passando por outros marcos como: a eficácia da ciclosporina, a “indução” de psoríase em camundongos imunodeficientes, a “cura” da psoríase em pacientes submetidos a transplante de medula e a descoberta da rede de citocinas e quimocinas, culminando com o advento dos biológicos, moduladores específicos da inflamação via inibição da célula T ou bloqueio do TNF- α .

Apesar de todas as possíveis implicações do TNF- α na psoríase e do uso terapêutico dos inibidores específicos dessa citocina apresentarem resultados surpreendentes, as investigações laboratoriais não fornecem o mesmo respaldo. Após a clonagem do TNF- α , surgiram diversos estudos exaltando a sua importância em diversas doenças, entre elas, a psoríase. Austin et al avaliaram a capacidade dos linfócitos em expressar algumas citocinas através de citometria de fluxo. Os pacientes com psoríase em mais de 10% de área corporal foram comparados com controles. Os linfócitos foram separados do sangue (n=14) e da epiderme (n=11) e avaliados quanto à capacidade de expressão de citocinas, comparando com indivíduos controles. Poucos linfócitos expressavam citocinas sem estimulação com ionomicina e não houve diferença entre pacientes com psoríase e controles. O exame *in vitro*, após estimulação, demonstrou que no sangue 50% dos linfócitos dos pacientes com psoríase expressavam TNF- α e 36% do grupo controle (P=0.048). Sessenta por cento dos linfócitos da epiderme expressavam TNF- α . Três foram avaliados quanto à proporção de células CD8+ e CD4+, mostrando que havia maior produção de células T CD8+, 73%, versus células T CD4+, 59%, com significância

marginal. Uma porcentagem maior de células da epiderme produzia a citocina em comparação com o sangue 73% vs 35% para CD8+, e 59% vs 37% para CD4+, respectivamente (Austin et al., 1999). Já Uyemura et al, realizaram um trabalho *in vivo* quantificando a expressão de citocinas pela reação em cadeia de polimerase (PCR) em pacientes com psoríase nas lesões e em áreas não acometidas (n=5), comparando com controles (n=2). Foi realizada análise semiquantitativa baseada na intensidade da banda obtida pela hibridização radioativa. Em todos os fragmentos cutâneos obtidos notou-se expressão do TNF- α com intensidade das bandas de moderada a elevada nas lesões (5/5); moderada na pele não comprometida (5/5) e leve em apenas 1 controle (1/2). Foi ainda avaliada a presença de moléculas de adesão, por imunistoquímica, que mostrou uma relação direta com os níveis do RNAm do TNF- α (Uyemura et al., 1993). Bonifati et al quantificaram o TNF- α , através do método ELISA, no fluido de bolhas induzidas por pressão negativa, tanto nas lesões de psoríase (n=20) como em áreas não comprometidas (n=20) e compararam com indivíduos-controles (n=10). Além disso, compararam a extensão e a gravidade da doença com os níveis da citocina. Foram incluídos apenas pacientes com lesões ativas e o fragmento retirado da margem da lesão. Os níveis do TNF- α foram, em média, 4.7 vezes maiores nas lesões do que nas áreas não acometidas; e 17 vezes maiores, em média, que nos controles. Também no soro dos pacientes com psoríase os níveis da citocina foram mais elevados. A quantificação na pele foi maior que no sangue e, houve uma correlação direta entre os níveis de TNF- α e a gravidade da doença, principalmente em relação ao eritema (Bonifati e Ameglio, 1999). Gomi et al selecionaram 21 pacientes com psoríase vulgar ativa, sem tratamento com PASI entre 8 e 57.6 e, avaliaram por radioimunoensaio a quantidade de TNF- α no soro dos pacientes, comparando com controles (n=21). Foi observada

tendência de aumento da citocina, mas sem significância estatística em relação aos controles. Nos casos com aumento da citocina, não houve correlação com o PASI (Gomi et al., 1991). Mizutani et al avaliaram a função imunológica dos monócitos no sangue periférico em pacientes com psoríase, mensurando a capacidade de produção de citocinas inflamatórias, entre elas o TNF- α . Utilizaram o método ELISA no sobrenadante da cultura de monócitos. A função dos monócitos na produção da citocina (PBMC – Peripheral Blood Monocytes) foi significativamente mais elevada nos pacientes com psoríase (n=63) do que no grupo controle (n=20; p = 0,01). Pacientes com lesões ativas (agravamento nas últimas 2 semanas) apresentaram níveis mais elevados de TNF α (p< 0,02). Houve correlação da gravidade da doença entre as formas leve e moderada em atividade com os níveis da citocina. Alguns pacientes fizeram teste de estimulação amigdalina com aumento do TNF- α . Sete pacientes com teste positivo foram submetidos a tonsilectomia, cinco obtiveram melhora clínica e apresentaram redução do TNF α . Doze pacientes iniciaram metotrexato, e 8 obtiveram boa resposta, que foi acompanhada pela redução da citocina (Mizutani et al., 1997). Já Ettehadi et al, estudaram por ELISA os receptores do TNF. Em relação ao p55 (TNF-RI), houve imunorreatividade em 12/16 das lesões com psoríase e em apenas 1/10 das áreas não comprometidas (6 pacientes e 4 controles). Esse resultado foi proporcionalmente maior que o segundo receptor p75 (TNFRII), que demonstrou imunorreatividade em 9/16 das áreas com lesão e 0/10, em áreas sem lesão (Ettehadi et al., 1994)

Outros autores, porém, utilizando o método ELISA, não observaram esse aumento do TNF- α no fluido de bolhas obtidas por sucção de placa psoriásica (n=5) e no estrato córneo de pacientes com psoríase pustulosa (n=5), quando comparados com controles (n=10). A quantificação no soro foi indetectável em todos os casos

(Takematsu et al., 1989). Da mesma forma Schlaak et al avaliaram a produção de TNF- α por linfócitos *in vitro* da epiderme de dois pacientes, após estimulação com lecitina, e encontraram apenas um leve aumento (Schlaak et al., 1994). Fransson avaliou a influência do TNF- α na proliferação e diferenciação em cultura de queratinócito de pacientes com psoríase, comparando com voluntários saudáveis. Concluiu que não havia diferença significativa em relação aos marcadores de proliferação como citoqueratina 16, Ki-67, involucrina e filagrina, quando era associado o TNF- α na cultura (modelo equivalente da pele) (Fransson, 2000). Em outro trabalho o TNF- α demonstrou efeito citostático em queratinócitos normais (Symington, 1989).

Os trabalhos de investigação laboratorial do TNF- α na psoríase são contraditórios em relação ao aumento do mesmo tanto nas lesões quanto no sangue. A análise crítica é baseada nas diferentes metodologias que contemplam amostra pequena, critérios de inclusão e exclusão limitados, uso de testes *in vitro* (não expressam as influências de outras citocinas pelo funcionamento em rede).

Na nossa casuística, a quantificação da proteína TNF- α no soro foi realizada pelo método ELISA e seus resultados variaram entre 0,028 a 2178 pg/ml. Apenas 5/20 dos pacientes e 4/10 dos controles apresentaram níveis aumentados de TNF- α , mostrando que não houve diferença estatisticamente significativa. Os níveis séricos de TNF- α dos pacientes com psoríase da nossa casuística são semelhantes aos controles. Esse resultado é concordante com a maioria dos investigadores (Gomi et al., 1991; Mizutani et al., 1997; Austin et al., 1999) e apresenta um pilar forte. No exercício da sua função a distância – mecanismo endócrino – a citocina terá níveis, proporcionalmente, muito elevados; desencadeando uma série de respostas inflamatórias, semelhantes a sepse. Mas, como a psoríase não é doença infecciosa,

pode-se admiti-la como causadora da SIRS (síndrome da resposta inflamatória sistêmica), que poderia ser desencadeada pelo TNF- α , com ou sem a participação sinérgica da IL-6, pela formação de proteínas de fase aguda. Em apenas uma pequena fração dos pacientes com psoríase as manifestações clínicas de aumento da temperatura corporal (que deve ser aferida na mucosa oral ou retal), hiporexia, emagrecimento, adinamia, queda do estado geral, são percebidas; mesmo nos casos em que as lesões são extensas (eritrodermia) e têm duração prolongada. Os dois pacientes com eritrodermia, isto é, acometimento de mais de 90% de área corporal, mantinham atividades laborativas sem perda de rendimento, fato que é muito diferente do observado nos pacientes sépticos ou no eritema nodoso hansênico (Moraes et al., 2001), situações que há aumento sérico da citocina. Por outro lado, na psoríase pustulosa generalizada e mesmo em alguns casos eritrodérmicos, tais manifestações são evidentes e os níveis elevados da citocina explicariam esses achados, o que não foi confirmado por e Takematsu et al. (Takematsu et al., 1989). Apesar disso, alguns autores encontraram elevação significativa dos níveis séricos da citocina em relação aos controles (Bonifati e Ameglio, 1999; Arican et al., 2005).

Foi realizada ainda análise estatística dos níveis séricos da citocina, quando maiores que 15pg/ml, em relação a outras variáveis como história de eritrodermia, intensidade do prurido, artralgia e níveis da citocina na derme e na epiderme. Em todos as situações, não houve significância estatística.

Mas, partindo do princípio que a pele é um dos maiores tecidos do organismo e o linfócito T (efetor da inflamação na doença) circula pelos tecidos em alta velocidade, as células T poderiam ter alta capacidade de formação da citocina, mas que seria liberada apenas em circunstâncias específicas no microambiente

cutâneo, induzida pela IL-1, por exemplo. Os queratinócitos são as maiores fontes dos precursores de IL-1 (Mizutani et al., 1991) e, além disso, há maior expressão dos seus receptores na epiderme lesada (Groves et al., 1994); o que poderia determinar um ciclo vicioso e representar um dos aspectos da autoperpetuação das lesões. Essa hipótese é concordante com Austin et al, que da mesma maneira, só encontraram aumento da capacidade de formação de TNF- α no sangue, após estimulação *in vitro* com ionomicina (Austin et al., 1999). Da mesma forma, Mizutani et al não observaram aumento sérico, mas estudando a função imunológica dos monócitos pelo PBMC-ELISA na formação do TNF- α , notaram aumento significativo da capacidade dessas células, preparadas com endotoxina, em produzirem a citocina (Mizutani et al., 1997).

Apesar da expressão epidérmica e dérmica do TNF- α em pacientes com psoríase e controles não apresentarem diferenças estatisticamente significantes em nossa casuística, esse resultado ampliou as possibilidades de análise. Partindo da premissa que várias funções ligadas a citocina têm vínculos com o desenvolvimento da psoríase, três ponderações merecem destaque:

1. O ensaio laboratorial utilizado não foi capaz de quantificar de forma real a expressão do TNF- α .

Toda avaliação laboratorial (cutânea e sérica) do TNF- α foi realizada no Laboratório de Hanseníase que tem grande experiência na determinação da expressão de mRNA de várias citocinas tanto pelo PCR comum, quanto em tempo real. Alguns trabalhos nesse laboratório foram precursores na investigação do TNF- α na hanseníase e sua regulação tanto pela pentoxifilina como pela talidomida (Sampaio et al., 1991; Sampaio et al., 1993; Teles et al., 2002). Os resultados do

RT-PCR foram repetidos e analisados por outro investigador que não conhecia a divisão dos grupos e nem a gravidade da doença. O resultado final, dado em número de cópias relativas, refere-se à relação da do mRNA do TNF- α com o mRNA da GAPDH (D-gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase) – uma proteína constitutiva. Portanto, o mRNA da GAPDH servia de controle de qualidade do ensaio, no mesmo paciente. O GAPDH foi escolhido como controle pelo fato de ser expresso de maneira constante e abundante nas células de mamíferos.

2. O resultado do RT-PCR em tempo real foi capaz de quantificar de forma ideal a expressão do mRNA do TNF- α nos grupos, que apesar de não elevada é muito importante na doença.

❖ Diferenças em relação a afinidade e a quantidade de receptores.

Para exercer suas funções o TNF- α depende integralmente de seus receptores, e sob esta óptica, a presença de mais receptores, principalmente p55 (TNF-RI), mas também de p75 (TNFR-II) na membrana celular pode explicar o motivo porque mesmo indivíduos com níveis mais elevados da citocina não têm expressão clínica da doença, e outros com níveis semelhantes à população em geral apresentam alguma manifestação. O aumento na capacidade de ligação com um dos receptores, como TNFRI, poderia exacerbar a ativação do NF- κ B e secundariamente, a transcrição de citocinas pró-inflamatórias. Ettehadi et al observaram que nos pacientes com psoríase havia maior imunorreatividade dos receptores em relação aos controles nas amostras cutâneas (Ettehadi et al., 1994).

❖ A susceptibilidade individual pelo polimorfismo do TNF- α .

O polimorfismo de um nucleotídeo na região promotora que leva a substituição da guanina pela adenina nas posições -308 ou -238 está relacionada com a gravidade de algumas doenças como a hanseníase. Na psoríase, apesar da falta de consenso, tem sido demonstrado o polimorfismo em algumas formas da doença (Hohler et al., 1997).

Os dois itens anteriores explicariam porque níveis semelhantes de TNF- α poderiam desencadear/agravar a doença em indivíduos predispostos, enquanto em outros não. Na psoríase, especificamente, a predisposição pode estar relacionada a maior susceptibilidade do queratinócito.

- ❖ A casuística relativamente pequena não foi capaz de depurar as variações fisiológicas e individuais dos níveis da citocina.

Partindo do princípio que os níveis de TNF- α estão muito elevados nas lesões de psoríase, mesmo os estudos com casuística limitada poderiam mostrar diferenças nos pacientes com psoríase em relação aos controles. Deve-se considerar os critérios de inclusão e exclusão rígidos deste estudo numa amostra homogênea em relação a forma clínica (90% em placas). Dois pacientes desenvolveram a forma eritrodérmica pela disseminação e coalescência de lesões em placa).

- ❖ A citocina teria função primordial como deflagradora da doença. Nas lesões recentes de psoríase há maior atividade inflamatória em proporção a hiperplasia queratinocítica. Com a evolução da doença há inversão nessa proporção. A meia vida curta do TNF- α conciliada as características de pleotropismo e sinergismo com outras citocinas

como IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-8, a tornariam breve ou mesmo intermitente. Essas citocinas, assim como alguns fatores de crescimento teriam ação autoperpetuadora.

- ❖ O inibidores específicos biológicos como infliximabe e etanercepte teriam ação mais importante na “cascata” de citocinas e mediadores de crescimento dependentes do TNF- α do que propriamente na sua ligação aos receptores

Como uma medicação que tem meia vida de eliminação de 102 horas (etanercepte) poderia proporcionar esse grande período de remissão (6 meses a 1 ano) em alguns pacientes, sabendo que o TNF- α é prontamente liberado após estímulos variados? Como a psoríase depende de uma rede engenhosa e bem articulada, ao inibirmos toda linha de montagem e não apenas a ligação da citocina, espera-se que a recidiva seja mais tardia.

Por final, uma forma de especulação, poderia ser permitida devido a grande variação individual dos níveis da citocina entre os indivíduos. Ao elevarmos o p valor para $\leq 0,2$; a diferença do TNF- α na epiderme dos pacientes com psoríase e dos controles teria significância estatística.

3. O resultado do RT-PCR em tempo real foi capaz de quantificar de forma ideal a expressão do mRNA do TNF- α nos grupos, que teria uma importância secundária

De qualquer forma, os níveis da citocina na pele parecem baixos, tanto pela sua baixa expressão no PCR comum (feita em 5 pacientes), e em comparação aos pacientes com hanseníase reacional observado em outras análises.

A terapêutica que é capaz de levar à remissão por mais tempo na psoríase é a fototerapia e pode, por esse motivo, ser colocada como a primeira medicação nos algoritmos de tratamento da psoríase extensa. A síntese e a liberação do TNF-alfa é significativamente aumentada por promotores tumorais e pela radiação ultravioleta. Assim, a exposição dos queratinócitos humanos normais e linhagens celulares de carcinoma epidermóide à RUVB resulta em aumento da expressão do mRNA do TNF- α (Tsuru et al., 2001).

A natureza dúbia do TNF- α pode ser explorada ainda por alguns relatos. Dereure et al demonstraram que 2 pacientes com diagnóstico de artrite reumatóide soronegativa desenvolveram lesões de psoríase com confirmação histopatológica, após uso de infliximabe e etanercepte. Não tinham história pessoal ou familiar de psoríase (Dereure et al., 2004). Takematsu et al e Creaven et al fizeram administração intravenosa de TNF- α recombinante em 5 pacientes com doses elevadas variando de 50.000 a 500.000U/m² de área corporal, durante pelo menos 5 dias. Quatro pacientes apresentaram excelente resposta clínica (Creaven e Stoll, 1991; Takematsu et al., 1991). A boa resposta dos pacientes pela administração de TNF- α recombinante levanta a hipótese de que uma das vias de sinalização para inflamação ou apoptose pode ser ativada na dependência da concentração desta citocina. Níveis muito elevados poderiam supra-regular a via apoptótica e antiinflamatória.

Finalmente, num trabalho de investigação, Carneiro et al em 2004, não observaram a presença de TNF alfa na epiderme, nos vasos, no infiltrado inflamatório e nem nas glândulas sudoríparas de 30 pacientes com psoríase em placas (dados não publicados) através de exame por imunistoquímica em material parafinado.

Não houve diferença estatística entre a expressão do TNF- α na epiderme e na derme em nove pacientes com psoríase da nossa casuística. A “comunicação” entre os dois microambientes parece ser eficiente, equilibrando o perfil de citocinas. Apesar disso, a literatura mostra que há diferenças em relação às linhagens de linfócitos presentes na epiderme (CD8+ > CD4+) e na derme (CD8+ = CD4+) nas placas de psoríase (Austin et al., 1999).

A relação com o PASI, PASI-eritema, intensidade do prurido e artralgia entre os dois grupos não apresentou significância estatística. Essas últimas avaliações tiveram o intuito de explorar ao máximo a relação do TNF- α com outras variáveis. Em relação às manifestações articulares, talvez a quantificação sinovial da citocina, pudesse expressar diferenças significativas em relação aos controles como observado por Patsch et al. (Patsch et al., 1997).

A importância do TNF- α e a grande prevalência da psoríase não deixarão que os pesquisadores desistam de esclarecer melhor a implicação desta complexa citocina inflamatória na gênese e na manutenção dos mecanismos inflamatórios e autoperpetuantes da proliferação queratinocítica.

7 CONCLUSÕES

1. Não houve aumento da expressão sérica e cutânea (epiderme e derme) do TNF- α nos pacientes com psoríase em relação aos controles da nossa casuística.
2. Não foi possível correlacionar a gravidade e a extensão da doença com a expressão do TNF- α no soro, na derme e na epiderme dos pacientes.
3. A epiderme e a derme apresentaram níveis semelhantes de TNF- α .

8 SUGESTÕES

1. Quantificar na mesma amostra sérica e cutânea os níveis de TNF- α e seus receptores TNFR I e TNFR II.
2. Ampliar, através do RT-PCR em tempo real *multiplex*, o estudo das outras citocinas relacionadas a psoríase.
3. Pesquisar, na população brasileira, o polimorfismo do gen do TNF- α na psoríase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas AK, Lichtman AH. Células e tecidos do sistema imunológico. In: Abbas AK, Lichtman AH, editors. *Imunologia celular e molecular*. 5 ed. São Paulo: Elsevier; 2005a. p. 17-40.
- Abbas AK, Lichtman AH. Citocinas. In: Abbas AK, Lichtman AH, editors. *Imunologia celular e molecular*. 5 ed. São Paulo: Elsevier; 2005b. p. 251-282.
- Abbas AK, Lichtman AH. Processamento de antígenos e apresentação aos linfócitos. In: Abbas AK, Lichtman AH, editors. *Imunologia celular e molecular*. 5 ed. São Paulo: Elsevier; 2005c. p. 83-107.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Mecanismos efetores das resposta imunes. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editors. *Imunologia celular e molecular*. 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2003. p. 236-267.
- Arican O, Aral M, Sasmaz S, Ciragil P. Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. *Mediators Inflamm* 2005; 2005(5):273-9.
- 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-gamma, interleukin-2, and tumor necrosis factor-alpha, defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients. *J Invest Dermatol* 1999; 113(5):752-9.
- Baeuerle PA, Baltimore D. NF-kappa B: ten years after. *Cell* 1996; 87(1):13-20.
- Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 1998; 392(6676):565-8.
- Baker BS, Swain AF, Griffiths CE, Leonard JN, Fry L, Valdimarsson H. Epidermal T lymphocytes and dendritic cells in chronic plaque psoriasis: the effects of PUVA treatment. *Clin Exp Immunol* 1985; 61(3):526-34.
- Barker JN, Sarma V, Mitra RS, Dixit VM, Nickoloff BJ. Marked synergism between tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in regulation of

keratinocyte-derived adhesion molecules and chemotactic factors. *J Clin Invest* 1990; 85(2):605-8.

Bata-Csorgo Z, Hammerberg C, Voorhees JJ, Cooper KD. Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short-term primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes. *J Clin Invest* 1995; 95(1):317-27.

Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996; 334(26):1717-25.

Beljaards RC, Van Beek P, Nieboer C, Stoof TJ, Boorsma DM. The expression of interleukin-8 receptor in untreated and treated psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1997; 289(8):440-3.

Beutler B, Cerami A. Tumor necrosis, cachexia, shock, and inflammation: a common mediator. *Annu Rev Biochem* 1988; 57:505-18.

Bigda J, Beletsky I, Brakebusch C, Varfolomeev Y, Engelmann H, Holtmann H, Wallach D. Dual role of the p75 tumor necrosis factor (TNF) receptor in TNF cytotoxicity. *J Exp Med* 1994; 180(2):445-60.

Bjerke JR, Krogh HK, Matre R. Characterization of mononuclear cell infiltrates in psoriatic lesions. *J Invest Dermatol* 1978; 71(5):340-3.

Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF, Castner BJ, Stocking KL, Reddy P, Srinivasan S, Nelson N, Boiani N, Schooley KA, Gerhart M, Davis R, Fitzner JN, Johnson RS, Paxton RJ, March CJ, Cerretti DP. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature* 1997; 385(6618):729-33.

Bonifati C, Ameglio F. Cytokines in psoriasis. *Int J Dermatol* 1999; 38(4):241-51.

Bos JD, Hulsebosch HJ, Krieg SR, Bakker PM, Cormane RH. Immunocompetent cells in psoriasis. In situ immunophenotyping by monoclonal antibodies. *Arch Dermatol Res* 1983; 275(3):181-9.

Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system (SIS): it is cellular constituents and their interactions. *Immunol Today* 1986; 7:235-240.

- Bos JD, Zonneveld I, Das PK, Krieg SR, van der Loos CM, Kapsenberg ML. The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1987; 88(5):569-73.
- Bos JD, de Boer OJ, Tibosch E, Das PK, Pals ST. Skin-homing T lymphocytes: detection of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) by HECA-452 in normal human skin. *Arch Dermatol Res* 1993; 285(4):179-83.
- Bowcock AM, Barker JN. Genetics of psoriasis: the potential impact on new therapies. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49(2 Suppl):S51-6.
- Bowcock AM, Krueger JG. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(9):699-711.
- Brandrup F, Holm N, Grunnet N, Henningsen K, Hansen HE. Psoriasis in monozygotic twins: variations in expression in individuals with identical genetic constitution. *Acta Derm Venereol* 1982; 62(3):229-36.
- Braun-Falco O, Schmoeckel C. The dermal inflammatory reaction in initial psoriatic lesions. *Arch Dermatol Res* 1977; 258(1):9-16.
- Brewerton DA, Caffrey M, Nicholls A, Walters D, James DC. HL-A 27 and arthropathies associated with ulcerative colitis and psoriasis. *Lancet* 1974; 1(7864):956-8.
- Brotas AM, Salomão-Barreto MA, Vianna SV, Carneiro SCS. Terapia biológica no tratamento da psoríase e da artrite psoriásica. Pôster 193. In: 60º Congresso Brasileiro de Dermatologia; 2005; Brasília; 2005.
- Butcher EC, Picker LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996; 272(5258):60-6.
- Butcher EC, Scollay RG, Weissman IL. Organ specificity of lymphocyte migration: mediation by highly selective lymphocyte interaction with organ-specific determinants on high endothelial venules. *Eur J Immunol* 1980; 10(7):556-61.
- Caput D, Beutler B, Hartog K, Thayer R, Brown-Shimer S, Cerami A. Identification of a common nucleotide sequence in the 3'-untranslated region of mRNA molecules specifying inflammatory mediators. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83(6):1670-4.
- Carneiro SCS, Abulasia LA, Azulay DR. Dermatoses eritemato escamosas. In:

Azulay RD, Azulay DR, editors. *Dermatologia*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 71-83.

Carneiro SCS, Oliveira MLWDR, Vianna U. Psoriasis: a study of osteoarticular involvement in 104 patients. *F Med (BR)* 1994; 109:203-207.

Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72(9):3666-70.

Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Dezutter-Dambuyant C, de Saint-Vis B, Jacquet C, Yoneda K, Imamura S, Schmitt D, Banchereau J. CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF alpha. *J Exp Med* 1996; 184(2):695-706.

Christophers E, Mrowietz U. Psoriasis. In: Freedberg IM EA, Wolff K, et al, editor. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 5 ed. New York: McGraw - Hill; 1999. p. 495-521.

Creaven PJ, Stoll HL, Jr. Response to tumor necrosis factor in two cases of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24(5 Pt 1):735-7.

Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343(2):108-17.

Dereure O, Guillot B, Jorgensen C, Cohen JD, Combes B, Guilhou JJ. Psoriatic lesions induced by antitumour necrosis factor-alpha treatment: two cases. *Br J Dermatol* 2004; 151(2):506-7.

du Vivier A. Psoríase. In: du Vivier A, editor. *Atlas de Dermatologia Clínica*. 3 ed: Elsevier; 2004. p. 69-87.

Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK, Dinarello CA, Springer TA. Induction by IL 1 and interferon-gamma: tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J Immunol* 1986; 137(1):245-54.

Eedy DJ, Burrows D, Bridges JM, Jones FG. Clearance of severe psoriasis after allogenic bone marrow transplantation. *Bmj* 1990; 300(6729):908.

Elder JT, Nair RP, Voorhees JJ. Epidemiology and the genetics of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1994; 102(6):24S-27S.

- Ettehadi P, Greaves MW, Wallach D, Aderka D, Camp RD. Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) biological activity in psoriatic skin lesions. *Clin Exp Immunol* 1994; 96(1):146-51.
- Eucerin. Biblioteca Derma 2^aed Beierdorf Hamburgo. CD-ROM. 2002.
- Farber EM, Nall ML. The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica* 1974; 148(1):1-18.
- FDA. Food and Drug Administration. Disponível em <<http://www.fda.gov/>> Acesso em 02 jan. 2006.
- Fierlbeck G, Rassner G, Muller C. Psoriasis induced at the injection site of recombinant interferon gamma. Results of immunohistologic investigations. *Arch Dermatol* 1990; 126(3):351-5.
- Frampton J, Wagstaff A. Alefacept. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4(4):277-86; discussion 287.
- Fransson J. Tumour necrosis factor-alpha does not influence proliferation and differentiation of healthy and psoriatic keratinocytes in a skin-equivalent model. *Acta Derm Venereol* 2000; 80(6):416-20.
- Friedrich M, Krammig S, Henze M, Docke WD, Sterry W, Asadullah K. Flow cytometric characterization of lesional T cells in psoriasis: intracellular cytokine and surface antigen expression indicates an activated, memory/effector type 1 immunophenotype. *Arch Dermatol Res* 2000; 292(10):519-21.
- Fuhlbrigge RC, Kieffer JD, Armerding D, Kupper TS. Cutaneous lymphocyte antigen is a specialized form of PSGL-1 expressed on skin-homing T cells. *Nature* 1997; 389(6654):978-81.
- Gardembas-Pain M, Ifrah N, Foussard C, Boasson M, Saint Andre JP, Verret JL. Psoriasis after allogeneic bone marrow transplantation. *Arch Dermatol* 1990; 126(11):1523.
- Gelfand JM, Weinstein R, Porter SB, Neimann AL, Berlin JA, Margolis DJ. Prevalence and treatment of psoriasis in the United Kingdom: a population-based study. *Arch Dermatol* 2005; 141(12):1537-41.
- Gomi T, Shiohara T, Munakata T, Imanishi K, Nagashima M. Interleukin 1 alpha, tumor necrosis factor alpha, and interferon gamma in psoriasis. *Arch Dermatol*

1991; 127(6):827-30.

Gordon KB, Papp KA, Hamilton TK, Walicke PA, Dummer W, Li N, Bresnahan BW, Menter A. Efalizumab for patients with moderate to severe plaque psoriasis: a randomized controlled trial. *Jama* 2003; 290(23):3073-80.

Gottlieb AB. Psoriasis. Immunopathology and immunomodulation. *Dermatol Clin* 2001; 19(4):649-57, viii.

Gottlieb AB, Lifshitz B, Fu SM, Staiano-Coico L, Wang CY, Carter DM. Expression of HLA-DR molecules by keratinocytes, and presence of Langerhans cells in the dermal infiltrate of active psoriatic plaques. *J Exp Med* 1986; 164(4):1013-28.

Gottlieb SL, Gilleaudeau P, Johnson R, Estes L, Woodworth TG, Gottlieb AB, Krueger JG. Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB389IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte, pathogenic basis. *Nat Med* 1995; 1(5):442-7.

Grell M, Douni E, Wajant H, Lohden M, Clauss M, Maxeiner B, Georgopoulos S, Lesslauer W, Kollias G, Pfizenmaier K, Scheurich P. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1995; 83(5):793-802.

Grossi CE, Lydyard PM. Células, tecidos e órgãos do sistema imune. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, editors. *Imunologia*. 6 ed. Barueri-São Paulo: Manole; 2003. p. 15-45.

Grossman RM, Krueger J, Yourish D, Granelli-Piperno A, Murphy DP, May LT, Kupper TS, Sehgal PB, Gottlieb AB. Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(16):6367-71.

Groves RW, Sherman L, Mizutani H, Dower SK, Kupper TS. Detection of interleukin-1 receptors in human epidermis. Induction of the type II receptor after organ culture and in psoriasis. *Am J Pathol* 1994; 145(5):1048-56.

Gupta AK, Sibbald RG, Knowles SR, Lynde CW, Shear NH. Terbinafine therapy may be associated with the development of psoriasis de novo or its exacerbation: four case reports and a review of drug-induced psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36(5 Pt 2):858-62.

Hashimoto K, Yoshikawa K. The growth regulation of keratinocytes. *J Dermatol* 1992; 19(11):648-51.

- Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13(3):450-6.
- Higashiyama M, Matsumoto K, Hashimoto K, Yoshikawa K. Increased production of transforming growth factor-alpha in psoriatic epidermis. *J Dermatol* 1991; 18(2):117-9.
- Hohler T, Kruger A, Schneider PM, Schopf RE, Knop J, Rittner C, Meyer zum Buschenfelde KH, Marker-Hermann E. A TNF-alpha promoter polymorphism is associated with juvenile onset psoriasis and psoriatic arthritis. *J Invest Dermatol* 1997; 109(4):562-5.
- <http://www.gene.ucl.ac.uk>. Acesso em 11 dez. 2005.
- Iizuka H, Takahashi H, Honma M, Ishida-Yamamoto A. Unique keratinization process in psoriasis: late differentiation markers are abolished because of the premature cell death. *J Dermatol* 2004; 31(4):271-6.
- Inanir I, Aydemir O, Gunduz K, Danaci AE, Turel A. Developing a quality of life instrument in patients with psoriasis: the Psoriasis Quality of Life Questionnaire (PQLQ). *Int J Dermatol* 2006; 45(3):234-8.
- Janeway CA, Travers P. O desenvolvimento e a sobrevivência dos linfócitos. In: Janeway CA, Travers P, Walport, M., editors. *Imunobiologia. O Sistema Imune na Saúde e na Doença*. 5 ed. Porto Alegre: Art Med; 2002. p. 209-243.
- Jowitt SN, Yin JA. Psoriasis and bone marrow transplantation. *Bmj* 1990; 300(6736):1398-9.
- Jullien D, Prinz JC, Langley RG, Caro I, Dummer W, Joshi A, Dedrick R, Natta P. T-cell modulation for the treatment of chronic plaque psoriasis with efalizumab (Raptiva): mechanisms of action. *Dermatology* 2004; 208(4):297-306.
- Kerdel – Vegas F: psoriasis in South América: geographical and racial factors, in psoriasis: Proceedings of International Symposium Stanford University, edited by EM Faber, AJ Cox. Stanford, CA, Stanford University Press 1971, p35
- Kirby B, Marsland AM, Carmichael AJ, Griffiths CE. Successful treatment of severe recalcitrant psoriasis with combination infliximab and methotrexate. *Clin Exp Dermatol* 2001; 26(1):27-9.
- Kock A, Schwarz T, Kirnbauer R, Urbanski A, Perry P, Ansel JC, Luger TA. Human

keratinocytes are a source for tumor necrosis factor alpha: evidence for synthesis and release upon stimulation with endotoxin or ultraviolet light. *J Exp Med* 1990; 172(6):1609-14.

Kondo S, Sauder DN. Tumor necrosis factor (TNF) receptor type 1 (p55) is a main mediator for TNF-alpha-induced skin inflammation. *Eur J Immunol* 1997; 27(7):1713-8.

Krengel S, Geilen CC, Orfanos CE. Histopathology and electron microscopy of psoriasis. In: Maibac HI, editor. *Psoriasis*. 3 ed. New York: Marcel Dekker; 1998. p. 409-17.

Krueger JG, Walters IB, Miyazawa M, Gilleaudeau P, Hakimi J, Light S, Sherr A, Gottlieb AB. Successful in vivo blockade of CD25 (high-affinity interleukin 2 receptor) on T cells by administration of humanized anti-Tac antibody to patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43(3):448-58.

Kupper TS, Ballard DW, Chua AO, McGuire JS, Flood PM, Horowitz MC, Langdon R, Lightfoot L, Gubler U. Human keratinocytes contain mRNA indistinguishable from monocyte interleukin 1 alpha and beta mRNA. Keratinocyte epidermal cell-derived thymocyte-activating factor is identical to interleukin 1. *J Exp Med* 1986; 164(6):2095-100.

LaDuca JR, Gaspari AA. Targeting tumor necrosis factor alpha. New drugs used to modulate inflammatory diseases. *Dermatol Clin* 2001; 19(4):617-35.

Larrick JW, Morhenn V, Chiang YL, Shi T. Activated Langerhans cells release tumor necrosis factor. *J Leukoc Biol* 1989; 45(5):429-33.

Leigh IM, Navsaria H, Purkis PE, McKay IA, Bowden PE, Riddle PN. Keratins (K16 and K17) as markers of keratinocyte hyperproliferation in psoriasis in vivo and in vitro. *Br J Dermatol* 1995; 133(4):501-11.

Leung DY, Travers JB, Giorno R, Norris DA, Skinner R, Aelion J, Kazemi LV, Kim MH, Trumble AE, Kotb M, et al. Evidence for a streptococcal superantigen-driven process in acute guttate psoriasis. *J Clin Invest* 1995; 96(5):2106-12.

Mallbris L, Granath F, Hamsten A, Stahle M. Psoriasis is associated with lipid abnormalities at the onset of skin disease. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54(4):614-21.

McKenzie RC, Sabin E. Aberrant signalling and transcription factor activation as an explanation for the defective growth control and differentiation of keratinocytes

in psoriasis: a hypothesis. *Exp Dermatol* 2003; 12(4):337-45.

Melski JW, Stern RS. The separation of susceptibility to psoriasis from age at onset. *J Invest Dermatol* 1981; 77(6):474-7.

Meunier L, Gonzalez-Ramos A, Cooper KD. Heterogeneous populations of class II MHC+ cells in human dermal cell suspensions. Identification of a small subset responsible for potent dermal antigen-presenting cell activity with features analogous to Langerhans cells. *J Immunol* 1993; 151(8):4067-80.

Mizutani H, Black R, Kupper TS. Human keratinocytes produce but do not process pro-interleukin-1 (IL-1) beta. Different strategies of IL-1 production and processing in monocytes and keratinocytes. *J Clin Invest* 1991; 87(3):1066-71.

Mizutani H, Ohmoto Y, Mizutani T, Murata M, Shimizu M. Role of increased production of monocytes TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 in psoriasis: relation to focal infection, disease activity and responses to treatments. *J Dermatol Sci* 1997; 14(2):145-53.

Mohan MJ, Seaton T, Mitchell J, Howe A, Blackburn K, Burkhart W, Moyer M, Patel I, Waitt GM, Becherer JD, Moss ML, Milla ME. The tumor necrosis factor-alpha converting enzyme (TACE): a unique metalloproteinase with highly defined substrate selectivity. *Biochemistry* 2002; 41(30):9462-9.

Moraes MO, Sampaio EP, Nery JA, Saraiva BC, Alvarenga FB, Sarno EN. Sequential erythema nodosum leprosum and reversal reaction with similar lesional cytokine mRNA patterns in a borderline leprosy patient. *Br J Dermatol* 2001; 144(1):175-81.

Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17(3):138-46.

Moss ML, Jin SL, Milla ME, Bickett DM, Burkhart W, Carter HL, Chen WJ, Clay WC, Didsbury JR, Hassler D, Hoffman CR, Kost TA, Lambert MH, Leesnitzer MA, McCauley P, McGeehan G, Mitchell J, Moyer M, Pahel G, Rocque W, Overton LK, Schoenen F, Seaton T, Su JL, Becherer JD, et al. . Cloning of a disintegrin metalloproteinase that processes precursor tumour-necrosis factor-alpha. *Nature* 1997; 385(6618):733-6.

Mueller W, Herrmann B. Cyclosporin A for psoriasis. *N Engl J Med* 1979; 301(10):555.

- Mussi A, Bonifati C, Carducci M, D'Agosto G, Pimpinelli F, D'Urso D, D'Auria L, Fazio M, Ameglio F. Serum TNF-alpha levels correlate with disease severity and are reduced by effective therapy in plaque-type psoriasis. *J Biol Regul Homeost Agents* 1997; 11(3):115-8.
- Najarian DJ, Gottlieb AB. Connections between psoriasis and Crohn's disease. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48(6):805-21; quiz 822-4.
- Nakane H, Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Iizuka H. Elafin, a secretory protein, is cross-linked into the cornified cell envelopes from the inside of psoriatic keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2002; 119(1):50-5.
- Neuner P, Urbanski A, Trautinger F, Moller A, Kirnbauer R, Kapp A, Schopf E, Schwarz T, Luger TA. Increased IL-6 production by monocytes and keratinocytes in patients with psoriasis. *J Invest Dermatol* 1991; 97(1):27-33.
- Nickoloff BJ. The cytokine network in psoriasis. *Arch Dermatol* 1991; 127(6):871-84.
- Nickoloff BJ. Creation of psoriatic plaques: the ultimate tumor suppressor pathway. A new model for an ancient T-cell-mediated skin disease. Viewpoint. *J Cutan Pathol* 2001; 28(2):57-64.
- Nickoloff BJ, Karabin GD, Barker JN, Griffiths CE, Sarma V, Mitra RS, Elder JT, Kunkel SL, Dixit VM. Cellular localization of interleukin-8 and its inducer, tumor necrosis factor-alpha in psoriasis. *Am J Pathol* 1991; 138(1):129-40.
- Nickoloff BJ, Turka LA. Keratinocytes: key immunocytes of the integument. *Am J Pathol* 1993; 143(2):325-31.
- O'Quinn RP, Miller JL. The effectiveness of tumor necrosis factor alpha antibody (infliximab) in treating recalcitrant psoriasis: a report of 2 cases. *Arch Dermatol* 2002; 138(5):644-8.
- Oh CJ, Das KM, Gottlieb AB. Treatment with anti-tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) monoclonal antibody dramatically decreases the clinical activity of psoriasis lesions. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42(5 Pt 1):829-30.
- Olaniran AK, Baker BS, Paige DG, Garioch JJ, Powles AV, Fry L. Cytokine expression in psoriatic skin lesions during PUVA therapy. *Arch Dermatol Res* 1996; 288(8):421-5.

- Owen-Schaub LB, Crump WL, 3rd, Morin GI, Grimm EA. Regulation of lymphocyte tumor necrosis factor receptors by IL-2. *J Immunol* 1989; 143(7):2236-41.
- Partsch G, Steiner G, Leeb BF, Dunky A, Broll H, Smolen JS. Highly increased levels of tumor necrosis factor-alpha and other proinflammatory cytokines in psoriatic arthritis synovial fluid. *J Rheumatol* 1997; 24(3):518-23.
- Pfaller K. Human Langerhans cell in a dermal lymphatic vessel. *Nat Cell Biol* 2003; 5(10):867.
- Prinz JC. The role of T cells in psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003; 17(3):257-70.
- Qin JZ, Chaturvedi V, Denning MF, Bacon P, Panella J, Choubey D, Nickoloff BJ. Regulation of apoptosis by p53 in UV-irradiated human epidermis, psoriatic plaques and senescent keratinocytes. *Oncogene* 2002; 21(19):2991-3002.
- Queiro R, Torre JC, Gonzalez S, Lopez-Larrea C, Tinture T, Lopez-Lagunas I. HLA antigens may influence the age of onset of psoriasis and psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30(3):505-7.
- Robert C, Kupper TS. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N Engl J Med* 1999; 341(24):1817-28.
- Sagawa Y, Shiohara T, Imanishi K, Nagashima M. Is sustained production of tumor necrosis factor-alpha relevant to the development of pustular psoriasis? *Dermatology* 1993; 187(2):81-3.
- Salgame P, Abrams JS, Clayberger C, Goldstein H, Convit J, Modlin RL, Bloom BR. Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones. *Science* 1991; 254(5029):279-82.
- Sampaio EP, Kaplan G, Miranda A, Nery JA, Miguel CP, Viana SM, Sarno EN. The influence of thalidomide on the clinical and immunologic manifestation of erythema nodosum leprosum. *J Infect Dis* 1993; 168(2):408-14.
- Sampaio EP, Oliveira RB, Warwick-Davies J, Neto RB, Griffin GE, Shattock RJ. T cell-monocyte contact enhances tumor necrosis factor-alpha production in response to *Mycobacterium leprae*. *J Infect Dis* 2000; 182(5):1463-72.

- Sampaio EP, Sarno EN, Galilly R, Cohn ZA, Kaplan G. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med* 1991; 173(3):699-703.
- Saripalli YV, Gaspari AA. Focus on: biologics that affect therapeutic agents in dermatology. *J Drugs Dermatol* 2005; 4(2):233-45.
- Schlaak JF, Buslau M, Jochum W, Hermann E, Girndt M, Gallati H, Meyer zum Buschenfelde KH, Fleischer B. T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset. *J Invest Dermatol* 1994; 102(2):145-9.
- Schottelius AJ, Mayo MW, Sartor RB, Baldwin AS, Jr. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of kappaB kinase activity and nuclear factor kappaB DNA binding. *J Biol Chem* 1999; 274(45):31868-74.
- Schottelius AJ, Moldawer LL, Dinarello CA, Asadullah K, Sterry W, Edwards CK, 3rd. Biology of tumor necrosis factor-alpha- implications for psoriasis. *Exp Dermatol* 2004; 13(4):193-222.
- Schwarzenberger K, Udey MC. Contact allergens and epidermal proinflammatory cytokines modulate Langerhans cell E-cadherin expression in situ. *J Invest Dermatol* 1996; 106(3):553-8.
- Seckinger P, Zhang JH, Hauptmann B, Dayer JM. Characterization of a tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) inhibitor: evidence of immunological cross-reactivity with the TNF receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(13):5188-92.
- Seishima M, Takemura M, Saito K, Kitajima Y. Increased serum soluble Fas, tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 concentrations in generalized pustular psoriasis. *Dermatology* 1998; 196(3):371-2.
- Shanahan J, Moreland L. Ankylosing Spondylitis: Infliximab Study. Disponível em: <<http://www.health.uab.edu>> Acesso em 05 jan. 2006.
- Shear MJ, Turner FC, Perrault A. Chemical treatment of tumors. Isolation of hemorrhage producing fraction from *Serratia marcescens* culture filtrate. *J Natl Cancer Inst* 1943; 4:81-97.
- Sirsjo A, Karlsson M, Gidlof A, Rollman O, Torma H. Increased expression of inducible nitric oxide synthase in psoriatic skin and cytokine-stimulated cultured keratinocytes. *Br J Dermatol* 1996; 134(4):643-8.

- Sobell JM. Overview of biologic agents in medicine and dermatology. *Semin Cutan Med Surg* 2005; 24(1):2-9.
- Spellberg B. The cutaneous citadel: a holistic view of skin and immunity. *Life Sci* 2000; 67(5):477-502.
- Steinhoff M, Luger TA. The skin cytokine network. In: Bos JD, editor. *Skin Immune System. Cutaneous Immunology and Clinical Immunodermatology*. 3 ed. Florida: CRC Press; 2005. p. 349-72.
- Sterry W, Barker J, Boehncke WH, Bos JD, Chimenti S, Christophers E, De La Brassinne M, Ferrandiz C, Griffiths C, Katsambas A, Kragballe K, Lynde C, Menter A, Ortonne JP, Papp K, Prinz J, Rzany B, Ronnevig J, Saurat JH, Stahle M, Stengel FM, Van De Kerkhof P, Voorhees J. Biological therapies in the systemic management of psoriasis: International Consensus Conference. *Br J Dermatol* 2004; 151 Suppl 69:3-17.
- Streilein JW. Skin-associated lymphoid tissues (SALT): origins and functions. *J Invest Dermatol* 1983; 80 Suppl:12s-16s.
- Symington FW. Lymphotoxin, tumor necrosis factor, and gamma interferon are cytostatic for normal human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1989; 92(6):798-805.
- Takematsu H, Ohta H, Tagami H. Absence of tumor necrosis factor-alpha in suction blister fluids and stratum corneum from patients with psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1989; 281(6):398-400.
- Takematsu H, Ozawa H, Yoshimura T, Hara M, Sakakibara A, Oyama J, Tagami H. Systemic TNF administration in psoriatic patients: a promising therapeutic modality for severe psoriasis. *Br J Dermatol* 1991; 124(2):209-10.
- Tartaglia LA, Pennica D, Goeddel DV. Ligand passing: the 75-kDa tumor necrosis factor (TNF) receptor recruits TNF for signaling by the 55-kDa TNF receptor. *J Biol Chem* 1993; 268(25):18542-8.
- Teles RM, Moraes MO, Geraldo NT, Salles AM, Sarno EN, Sampaio EP. Differential TNFalpha mRNA regulation detected in the epidermis of leprosy patients. *Arch Dermatol Res* 2002; 294(8):355-62.
- Terajima S, Higaki M, Igarashi Y, Nogita T, Kawashima M. An important role of tumor necrosis factor-alpha in the induction of adhesion molecules in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1998; 290(5):246-52.

- Teunissen MBM. Langerhans cells and other skin dendritic cells. In: Bos JD, editor. *Skin Immune System. Cutaneous Immunology and Clinical Immunodermatology*. 3 ed. Florida: CRC Press; 2005. p. 123-182.
- Theoharides TC, Singh LK, Boucher W, Pang X, Letourneau R, Webster E, Chrousos G. Corticotropin-releasing hormone induces skin mast cell degranulation and increased vascular permeability, a possible explanation for its proinflammatory effects. *Endocrinology* 1998; 139(1):403-13.
- Thoma B, Grell M, Pfizenmaier K, Scheurich P. Identification of a 60-kD tumor necrosis factor (TNF) receptor as the major signal transducing component in TNF responses. *J Exp Med* 1990; 172(4):1019-23.
- Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an in vitro model of cachexia. *Science* 1985; 229(4716):867-9.
- Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, Hariri RJ, Fahey TJ, 3rd, Zentella A, Albert JD, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986; 234(4775):470-4.
- Tracey KJ, Vlassara H, Cerami A. Cachectin/tumour necrosis factor. *Lancet* 1989; 1(8647):1122-6.
- Tsuru K, Horikawa T, Budiyanto A, Hikita I, Ueda M, Ichihashi M. Low-dose ultraviolet B radiation synergizes with TNF-alpha to induce apoptosis of keratinocytes. *J Dermatol Sci* 2001; 26(3):209-16.
- Uchi H, Terao H, Koga T, Furue M. Cytokines and chemokines in the epidermis. *J Dermatol Sci* 2000; 24 Suppl 1:S29-38.
- Uyemura K, Yamamura M, Fivenson DF, Modlin RL, Nickoloff BJ. The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin is characterized by a T-helper type 1 cell-mediated response. *J Invest Dermatol* 1993; 101(5):701-5.
- Vandenabeele P, Declercq W, Vercammen D, Van de Craen M, Grooten J, Loetscher H, Brockhaus M, Lesslauer W, Fiers W. Functional characterization of the human tumor necrosis factor receptor p75 in a transfected rat/mouse T cell hybridoma. *J Exp Med* 1992; 176(4):1015-24.
- Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 1992; 10:411-52.

- Vollmer S, Menssen A, Prinz JC. Dominant lesional T cell receptor rearrangements persist in relapsing psoriasis but are absent from nonlesional skin: evidence for a stable antigen-specific pathogenic T cell response in psoriasis vulgaris. *J Invest Dermatol* 2001; 117(5):1296-301.
- Vollmer S, Menssen A, Trommler P, Schendel D, Prinz JC. T lymphocytes derived from skin lesions of patients with psoriasis vulgaris express a novel cytokine pattern that is distinct from that of T helper type 1 and T helper type 2 cells. *Eur J Immunol* 1994; 24(10):2377-82.
- Wang CY, Mayo MW, Baldwin AS, Jr. TNF- and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF-kappaB. *Science* 1996; 274(5288):784-7.
- Weaver AL, Kavanaugh A, Beutler BA, Burmester GR, O'Dell JR. The Evolution of Biologic DMARD Therapy in Rheumatoid Arthritis Management. Disponível em: <www.medscape.com/viewprogram/2109_pnt> Acesso em: 10 jul. 2002.
- Weinberg JM, Bottino CJ, Lindholm J, Buchholz R. Biologic therapy for psoriasis: an update on the tumor necrosis factor inhibitors infliximab, etanercept, and adalimumab, and the T-cell-targeted therapies efalizumab and alefacept. *J Drugs Dermatol* 2005; 4(5):544-55.
- Wikipedia. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Quim%C3%A9ria>> Acesso em 05 jan. 2006.
- Winterfield L, Menter A. Psoriasis and its treatment with infliximab-mediated tumor necrosis factor alpha blockade. *Dermatol Clin* 2004; 22(4):437-47, ix.
- Wollina U, Konrad H. Treatment of recalcitrant psoriatic arthritis with anti-tumor necrosis factor-alpha antibody. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; 16(2):127-9.
- Wrone-Smith T, Nickoloff BJ. Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. *J Clin Invest* 1996; 98(8):1878-87.
- www1.geneticsolutions.com/PageReq?id=3844:1873 Acesso em: 12 nov. 2005.
- www.astrosurf.org/lombry/Bio/lymphocyte.jpg Acesso em 20 dez. 2005.
- Wyeth. Disponível em: <www.enbrel.de/.../was_ist_ein_biological.asp> Acesso em: 05 jan. 2006.

Zachariae H, Overgaard Petersen H, Kissmeyer Nielsen F, Lamm L. HL-A antigens in pustular psoriasis. *Dermatologica* 1977; 154(2):73-7.

ANEXOS

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](#)