

**BETINA WERNER**

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA COMPARATIVA  
DE BIÓPSIAS DE PELE DE PACIENTES COM PSORÍASE  
ANTES E APÓS TRATAMENTO COM ACITRETIN**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, no Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Pediatria, com área de concentração em Dermatopatologia.**

**Orientador: Prof. Dr. José Hermênio Cavalcante Lima Filho**

**CURITIBA**

**2006**

Werner, Betina

Avaliação histológica e imuno-histoquímica comparativa de biópsias de pele de pacientes com psoríase antes e após tratamento com acitretin / Betina Werner. – Curitiba, 2006.

xvi, 82 f.

Orientador: José Hermênio Cavalcante Lima Filho

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências da Saúde.

1. Psoríase 2. Acitretin 3. Biópsia de pele I. Título II. Werner, Betina III. Lima Filho, José Hermênio Cavalcante IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências da Saúde.

NLM WR  
205

***À pele, de todos os tipos e todas as raças  
o maior e mais exposto órgão do corpo humano  
que mostra as doenças da carne e as chagas da alma.***

## AGRADECIMENTOS

Ao PROF. DR. HERMÊNIO C. LIMA, pela orientação e apoio na realização desta Tese de Doutorado, e por todo o estímulo no desenvolvimento da minha curiosidade científica em imunodermatologia e além.

À DRA. FABIANE MULINARI BRENNER, pessoa chave na realização desta pesquisa, por todas as opiniões, sugestões, críticas e revisões; pelo privilégio de tê-la como parceira e amiga.

Ao PROF. DR. JESUS SANTAMARIA, chefe do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas, UFPR, pelo suporte na realização da pesquisa.

À DRA. SANDRA MORITZ, aos médicos residentes do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas, UFPR (2003-2005), DRA. ISABELA POFFO, DRA. MAIRA MUKAI, DRA. DANIELA BADZIAK, DR. FERNANDO MANDELLI, DRA. MICHELE BARROS, DRA. LEILA CAVALIN e DR. MAURICIO SATO, e doutorandas de Medicina da UFPR, FERNANDA ROSAS e PRISCILA KAKIZAKI, pela colaboração na realização das entrevistas, exames físicos, fotografias e biópsias dos pacientes envolvidos na pesquisa. Sem eles, este trabalho seria impossível.

Aos PACIENTES envolvidos na pesquisa, por contribuírem mais do que eles poderiam imaginar para a realização deste estudo.

À DRA. ALMUT BÖER, dermatopatologista do Stiftung Dermatologikum de Hamburgo, Alemanha, pela oportunidade de usufruir de uma bolsa de estudos naquele Instituto e realizar todas as colorações imuno-histoquímicas desta tese.

Ao PROF. DR. VOLKER STEINKRAUS, diretor chefe do Stiftung Dermatologikum de Hamburgo, Alemanha, pelo apoio irrestrito enquanto estive naquele país.

À MARTINA BRESCH, bióloga e técnica do laboratório de imuno-histoquímica do Stiftung Dermatologikum de Hamburgo, Alemanha, pela incansável busca da reação imuno-histoquímica perfeita.

A THOMAS FALK, biólogo e cientista do Stiftung Dermatologikum de Hamburgo, Alemanha, pelo suporte e sugestões ao estudo.

Ao DR. JOSÉ FILLUS NETO, simplesmente por tudo. A minha gratidão é imensurável e eterna.

Ao DR. SÉRGIO Z. SERAFINI, por todo o aprendizado em coisas da pele e da vida; por ser modelo e fonte de inspiração, e por todas as sugestões para este trabalho.

À PROF. DRA. MÔNICA CAT, pelas contribuições na dissertação e formatação desta tese.

À DRA. LEIDE PAROLIN MARINONI e todas as MÉDICAS E MÉDICAS RESIDENTES DO SERVIÇO DE DERMATOLOGIA PEDIÁTRICA do Hospital de Clínicas, UFPR, pelo apoio e carinho.

À MINHA FAMÍLIA, por simplesmente existirem e terem feito de mim, quem sou, e em especial ao meu pai, PROF. DR. PEDRO R. WERNER, por ser exemplo de vida e ter revisado este manuscrito, e ao CARLOS SCHNER, pelo amor, paciência e compreensão (mais uma vez).

***Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,  
nunca tem medo e nunca se arrepende.***

**Leonardo da Vinci (1452-1519)**

# SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	3
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1 PSORÍASE.....	4
2.1.1 Conceitos Gerais.....	4
2.1.2 Epidemiologia e Genética.....	6
2.1.3 Patogênese.....	7
2.1.4 Fatores Desencadeantes.....	12
2.1.5 Psoríase na infância.....	12
2.1.6 Histopatologia.....	13
2.1.7 Tratamento.....	14
2.2 Acitretin.....	17
2.2.1 História.....	17
2.2.2 Farmacologia dos Retinóides.....	17
2.2.3 Mecanismo de Ação.....	18
2.2.4 Indicações e Reações Adversas.....	19
2.2.5 Uso de Retinóides na População Pediátrica.....	21
2.3 Diferenciação e Queratinização da Epiderme.....	22
2.3.1 Queratinas.....	23
3 MATERIAL E MÉTODO.....	25
3.1 Desenho do estudo.....	25
3.1.1 Critérios de Inclusão.....	25
3.1.2 Critérios de Exclusão.....	26
3.1.3 Acompanhamento Clínico e Esquema Terapêutico do Acitretin.....	26
3.2 Avaliação histológica.....	27

3.3 Método imuno-histoquímico.....	28
3.3.1 Avaliação das Reações Imuno-histoquímicas.....	30
3.4 Análise estatística.....	31
4 RESULTADOS.....	33
4.1 PACIENTES E DADOS CLÍNICOS.....	33
4.2 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	36
4.3 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA.....	43
5 DISCUSSÃO.....	51
5.1 Tratamento com acitretin.....	51
5.2 Avaliação histológica.....	53
5.2.1 Considerações Gerais.....	53
5.2.2 Queratinócitos Necróticos/Apoptóticos.....	53
5.2.3 Queratinócitos em Mitose.....	54
5.2.4 Espessura da Epiderme e do Platô Suprapapilar.....	55
5.2.5 Neutrófilos na Camada Córnea.....	57
5.2.6 Inflamação da Epiderme e Derme.....	57
5.2.7 Capilares Sangüíneos da Derme Papilar.....	59
5.2.8 Eosinófilos e Plasmócitos.....	60
5.3 Avaliação imuno-histoquímica.....	60
5.3.1 Citoqueratina 10 (CK10).....	61
5.3.1.1 Considerações gerais.....	61
5.3.1.2 Camada basal.....	62
5.3.2 Citoqueratina 16 (CK16) .....	62
5.3.3 Citoqueratina 19 (CK19) .....	63
5.3.4 Ki67.....	64
5.3.5 CD1a.....	64
6 CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 – PACIENTE NÚMERO 2. ASPECTO DA DOENÇA ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE MELHORA DAS LESÕES APÓS O USO DA MEDICAÇÃO.....34
- FIGURA 2 – PACIENTE NÚMERO 3. ASPECTO DA DOENÇA ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE MELHORA DAS LESÕES APÓS O USO DA MEDICAÇÃO.....35
- FIGURA 3 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 5. QUERATINÓCITOS NECRÓTICOS/APOPTÓTICOS (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.....38
- FIGURA 4 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 14. FIGURAS DE MITOSE NA EPIDERME (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.....3
- FIGURA 5 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 10. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA EPIDERME ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO SIGNIFICATIVA DA ESPESSURA APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....39
- FIGURA 6 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 11. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA EPIDERME ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO SIGNIFICATIVA DA ESPESSURA APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....39
- FIGURA 7 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DOS PLATÔS SUPRA-PAPILARES (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. NÃO HOUE

	DIFERENÇA SIGNIFICATIVA NESSA MEDIDA APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	40
FIGURA 8 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 11. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DOS PLATÔS SUPRA-PAPILARES (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. NÃO HOUE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA NESSA MEDIDA APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	40
FIGURA 9 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. PRESENÇA DE NEUTRÓFILOS ANTES (SETAS) E AUSÊNCIA DOS MESMOS DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.....	41
FIGURA 10 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 3. COMPARAÇÃO DO GRAU DE INFLAMAÇÃO NA EPIDERME ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO DA INFLAMAÇÃO APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	41
FIGURA 11 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 12. COMPARAÇÃO DO GRAU DE INFLAMAÇÃO NA DERME ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. NÃO HOUE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA DA INFLAMAÇÃO APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	42
FIGURA 12 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. PRESENÇA DE VASOS SANGÜÍNEOS DILATADOS NA DERME PAPILAR E AUSÊNCIA DOS MESMOS DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.....	42
FIGURA 13 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 17. PRESENÇA DE VASOS SANGÜÍNEOS DILATADOS (SETAS) NA DERME PAPILAR E AUSÊNCIA DOS MESMOS DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.....	43
FIGURA 14 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 10. COMPARAÇÃO DA IMUNOREATIVIDADE DA	

- EPIDERME PARA O ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE AUMENTO NA PORCENTAGEM DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....45
- FIGURA 15 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 12. COMPARAÇÃO DA IMUNOREATIVIDADE DA EPIDERME PARA O ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE AUMENTO NA PORCENTAGEM DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....45
- FIGURA 16 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 11. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA CAMADA BASAL DA EPIDERME PELA NEGATIVIDADE DE REAÇÃO AO ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. A CAMADA BASAL ERA MAIS ESPESSA ANTES DO USO DO MEDICAMENTO.....46
- FIGURA 17 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 12. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA CAMADA BASAL DA EPIDERME PELA NEGATIVIDADE DE REAÇÃO AO ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. A CAMADA BASAL ERA MAIS ESPESSA ANTES DO USO DO MEDICAMENTO.....46
- FIGURA 18 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE, INTENSIDADE DA REAÇÃO E NÚMERO DE QUERATINÓCITOS POSITIVOS PARA O ANTICORPO CK16 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. O NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS ERA MAIOR ANTES DO USO DO MEDICAMENTO.....47
- FIGURA 19 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 2. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE, INTENSIDADE DA REAÇÃO E NÚMERO DE QUERATINÓCITOS POSITIVOS PARA O ANTICORPO CK16 ANTES E DEPOIS DO

	TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. O NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS ERA MAIOR ANTES DO USO DO MEDICAMENTO.....	47
FIGURA 20 –	FOTOMICROGRAFIAS DA BIÓPSIA DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 15 ANTES DO TRATAMENTO COM ACITRETIN. MODELO DO PADRÃO DA REATIVIDADE DO ANTICORPO CK19. REAÇÃO NEGATIVA NA EPIDERME E POSITIVA NA GLÂNDULA ÉCRINA (CONTROLE INTERNO).....	48
FIGURA 21 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE PARA O ANTICORPO KI67 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	48
FIGURA 22 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 7. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE PARA O ANTICORPO KI67 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	49
FIGURA 23 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 10. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE DAS CÉLULAS DE LANGERHANS (SETAS) PARA O ANTICORPO CD1A ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	49
FIGURA 24 –	FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 15. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE DAS CÉLULAS DE LANGERHANS (SETAS) PARA O ANTICORPO CD1A ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO.....	50

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	RELAÇÃO DOS ANTICORPOS, CLONES, FONTES COMERCIAIS, DILUIÇÕES E MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO ANTIGÊNICA.....	31
TABELA 2 –	COMPARAÇÃO DOS VALORES DE MÉDIA, MEDIANA, VALOR MÍNIMO, VALOR MÁXIMO, DESVIO PADRÃO E P DAS VARIÁVEIS QUERATINÓCITOS NECRÓTICOS/APOPTÓTICOS, QUERATINÓCITOS EM MITOSE, ESPESSURA DA EPIDERME, ESPESSURA DO PLATÔ SUPRAPAPILAR E RELAÇÃO ESPESSURA/PLATÔ ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.....	38
TABELA 3 –	COMPARAÇÃO DOS VALORES DE MÉDIA, MEDIANA, VALOR MÍNIMO, VALOR MÁXIMO, DESVIO PADRÃO E P DAS VARIÁVEIS PORCENTAGEM DE CÉLULAS POSITIVAS PARA CK10 E CK16, NÚMERO MÉDIO DE CAMADAS DE CÉLULAS NEGATIVAS PARA CK10 NA CAMADA BASAL, E MÉDIA DE CÉLULAS POSITIVAS POR CAMPO DE GRANDE AUMENTO PARA KI67 E CD1A ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

CK10	–	Citoqueratina 10
CK16	–	Citoqueratina 16
CK19	–	Citoqueratina 19
CGA	–	Campo de Grande Aumento (no Microscópio)
H.E.	–	Hematoxilina e Eosina
HLA	–	Human Leukocyte Antigen
IFN- $\gamma$	–	Interferon Gama
IL-1	–	Interleucina 1
IL-2	–	Interleucina 2
IL-4	–	Interleucina 4
IL-10	–	Interleucina 10
FDA	–	Food and Drug Administration
LFA-1	–	Lymphocyte Function Antigen 1
LFA-3	–	Lymphocyte Function Antigen 3
PASI	–	Psoriasis Area Severity Index
TBS	–	Tris-buffered-saline solution
TGF- $\alpha$	–	Tissue Growing Factor Alfa
TGF- $\beta$	–	Tissue Growing Factor Beta
TNF- $\alpha$	–	Tumor Necrosis Factor Alfa

## RESUMO

O acitretin é uma droga muito utilizada para o tratamento da psoríase mas o seu exato mecanismo de ação é desconhecido. Estudos que comparam alterações histológicas e expressão imuno-histoquímica de diversos anticorpos em biópsias de pele antes, durante, ou depois do tratamento da psoríase com acitretin são raros. Este trabalho teve como objetivo comparar os efeitos daquela droga em biópsias de pele de 17 pacientes com psoríase antes e após tratamento de quatro meses. Realizou-se um estudo longitudinal prospectivo e cego e se analisou parâmetros histológicos e reações imuno-histoquímicas citoqueratinas (CK) 10, 16 e 19, Ki67 e CD1a. Nove pacientes eram homens (53%) e oito pacientes, mulheres (47%) com mediana de 47 anos. A medida do PASI antes do tratamento foi de 13,2 e depois, 5,35 ( $p < 0,01$ ). Na avaliação histológica se notou que o número de queratinócitos necróticos/apoptóticos e de figuras de mitose, a presença ou ausência de eosinófilos e plasmócitos, e o grau de inflamação da derme não tiveram variação estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). A espessura da epiderme diminuiu após o tratamento ( $p < 0,01$ ) e a medida do platô supra-papilar não mostrou variação ( $p > 0,05$ ). No entanto, a relação espessura/platô foi maior antes do tratamento ( $p < 0,01$ ). A inflamação da epiderme diminuiu ( $p = 0,01$ ), e casos com neutrófilos na camada córnea e vasos sanguíneos dilatados e tortuosos na derme papilar também diminuíram após o uso do acitretin ( $p < 0,01$  e  $p = 0,01$ , respectivamente). A positividade para CK10 aumentou após o tratamento ( $p < 0,01$ ) e este anticorpo mostrou que o número de camadas de células na camada basal da epiderme era maior antes do uso do acitretin ( $p < 0,01$ ). Na avaliação da CK16 se notou diminuição na porcentagem de queratinócitos positivos com o uso de acitretin ( $p < 0,01$ ). Nenhum caso foi positivo para a CK19 em nenhum momento do estudo. A média do número de queratinócitos positivos para Ki67 foi maior antes do uso da droga em estudo ( $p < 0,01$ ). O número de células de Langerhans foi menor depois do tratamento ( $p < 0,01$ ). Concluiu-se que, após o uso do acitretin, as alterações histológicas típicas da psoríase são revertidas. A frequência de queratinócitos necróticos foi maior do que esperado, e a de figuras de mitose foi menor. Notou-se que o platô suprapapilar na psoríase não é afinado, mas a relação espessura da epiderme/espessura do platô é maior. O comportamento da expressão da CK10, CK16 e Ki67 foi como esperado: o número de células positivas para o primeiro anticorpo aumentou após o tratamento, e diminuiu para os outros dois. A negatividade da camada basal da epiderme para o CK10 revelou que há uma expansão da mesma na psoríase; isto pode explicar a impressão de presença de figuras de mitose “acima da camada basal”. A presença de menor número de células de Langerhans após o uso do acitretin é fato inédito, já que o CD1a não foi testado anteriormente em situações como esta. Não é possível afirmar, contudo, se esta variação é provocada pela droga ou inerente à resolução da doença.

**Palavras-chave:** Psoríase, Acitretin, Histologia, Imuno-histoquímica, Célula de Langerhans.

## ABSTRACT

Acitretin has been shown to be effective in the treatment of psoriasis but its mechanism of action is poorly understood. There are very few studies that focus on histological and immunohistochemical differences before and after treatment of psoriasis with acitretin. This is a prospective blind study of 17 patients with psoriasis treated with acitretin for four months with biopsies taken before and after therapy. Histological features and immunohistochemical reactions to cytokeratins (CK) 10, 16, and 19, Ki67 and CD1a were evaluated. There were nine males and eight females with median age of 47 years. Median PASI was 13.2 before and 5.35, after ( $p < 0.05$ ). Number of apoptotic keratinocytes, mitotic figures in epidermis, plasma cells and eosinophils in dermis, and amount of dermal inflammation did not show significant variation after usage of acitretin ( $p > 0.05$ ). Epidermal thickness diminished after treatment ( $p < 0.01$ ) but not the thickness of suprapapillary plate ( $p > 0.05$ ). Nevertheless, the epidermal/suprapapillary thickness ratio was 2.6 times higher before treatment ( $p < 0.01$ ). After treatment with acitretin, epidermal inflammation reduced, the number of cases with neutrophils in the horny layer decreased and dilated papillary vessels were less commonly seen ( $p = 0.01$ ,  $p < 0.01$  and  $p = 0.01$ , respectively). Immunohistochemical analysis showed more positive epidermal cells to CK10 ( $p < 0.01$ ) and less to CK16 ( $p < 0.01$ ) after treatment. CK10 reaction revealed a thicker basal cell layer in the epidermis of untreated cases ( $p < 0.01$ ). CK19 was negative in all cases tested, either before or after treatment. The Ki67 positive cell index was higher before treatment ( $p < 0.01$ ) and the same was seen with the Langerhans' cell marker, CD1a ( $p < 0.01$ ). In conclusion, acitretin therapy caused improvement in histological features typical of psoriasis. Necrotic keratinocytes were more common than expected, and the opposite was true for mitotic figures. Suprapapillary plates in psoriasis are not thin, but the epidermal/suprapapillary thickness ratio is increased. Immunohistochemical results found for CK10, CK16 and Ki67 were as expected: the amount of positive cells for CK10 was higher after treatment, and for CK16 and Ki67, was lower. Basal cell layer is expanded in psoriasis, as shown by the negative cells seen with CK10, and that may explain the presence of mitotic figures "above" that region. CD1a positive cells were less frequent after the treatment, and that finding has to be investigated further to determine its role in acitretin mechanism of action. This is the first instance in which Langerhans' cells are investigated under acitretin effects.

**Key words:** Psoriasis, Acitretin, Histology, Immunohistochemistry, Langerhans's Cells.

## 1 INTRODUÇÃO

A psoríase é considerada uma doença de pele mediada por linfócitos T com padrão de citocinas do tipo Th1 onde as placas eritematosas e descamativas, aspecto clínico típico da doença, são o evento final do descontrole do sistema imunológico (AUSTIN et al., 1999; KRUEGER, 2002; LEBWOHL, 2003; SOBELL; HALLAS, 2003, GUDJONSSON et al., 2004; NICKOLOFF; NESTLE, 2004; BOWCOCK; KRUEGER, 2005; SCHON; BOEHNCKE, 2005; BOVENSCHEN; SEYGER; VAN de KERKHOF, 2005). Sabe-se que há uma influência genética na manifestação da doença mas não existe clareza no modo de herança (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; BOWCOCK; BARKER, 2003; VAN de KERKHOF, 2003). De um modo geral, a psoríase afeta 2% da população mundial (ELDER; NAIR; VOORHEES, 1994; CHRISTOPHERS, 2001; VAN de KERKHOF, 2003). Homens e mulheres são acometidos de modo semelhante e em todas as idades, mas há dois picos de maior incidência: ao redor dos 25 e ao redor dos 55 anos (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003). A psoríase é uma doença crônica, com remissões e recidivas, e a cura ainda não foi encontrada (CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003). A biópsia de pele de placas psoriásicas mostra hiperplasia regular da epiderme, acúmulos de neutrófilos na camada córnea, vasos dilatados e tortuosos na derme papilar, e infiltrado inflamatório perivascular na derme superficial, entre outros (WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005).

A psoríase pode ser tratada de diversas maneiras, com medicamentos tópicos ou sistêmicos, radiação ultravioleta natural ou artificial, ou usando uma droga isoladamente, ou combinando esquemas terapêuticos (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; SAMPAIO; RIVITTI, 2001; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE (2005). O acitretin é um composto derivado da vitamina A muito utilizado para o tratamento da psoríase (MURRAY et al., 1991; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; CAMP, 1998; KUIJPERS et al., 1998; LING, 1999; SAURAT, 1999; SAMPAIO; RIVITTI, 2001; GEIGER, 2003; CARLIN; CALLIS; KRUEGER, 2003; LEBWOHL, 2003; VAN de

KERKHOF, 2003; MARTINS; ARRUDA, 2004; LEE; KOO, 2005; SCHON; BOEHNCKE, 2005; PSORIASIS GUIDELINES, 2006) e de outras doenças inflamatórias ou neoplásicas da pele (STEIJLEN, et al., 1993; McKENNA; MURPHY, 1999; MEHTA; RYTINA; STERLING, 2000; GIANNOTTI, et al., 2003; SMIT et al., 2004b). Sabe-se que os retinóides influenciam a proliferação, queratinização e diferenciação das células epiteliais, e também interferem na resposta imune; no entanto, o exato mecanismo de ação do acitretin que provoca a melhora clínica da psoríase ainda é desconhecido (GOTTLIEB et al., 1996; GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999; GEIGER, 2003; LEE; KOO, 2005).

Estudos que comparam alterações histológicas e expressão imuno-histoquímica de inúmeros anticorpos, em biópsias de pele antes, durante, ou depois do tratamento da psoríase com várias drogas, são comuns na literatura (ELLIS et al., 1986; GOTTLIEB et al., 1992; ELIAS et al., 1993; VALLAT et al., 1994; KRUEGER et al., 1995; ASADULLAH et al., 1999; ABRAMS et al., 2000; ASADULLAH et al., 2001; GOTTLIEB et al., 2002; VISSERS et al., 2004; ELIAS; BARR; NANDA, 2004; BOVENSCHEN et al., 2005). Contudo, investigações deste tipo com retinóides são raras (GOTTLIEB et al., 1996; KUIJPERS et al., 1998; SMIT et al., 2004a).

## 1.1 OBJETIVOS

- Avaliar a resposta clínica de pacientes com psoríase em placas submetidos a quatro meses de tratamento com acitretin.
- Discutir as diferenças histológicas e imuno-histoquímicas encontradas nas biópsias de pele daqueles pacientes, antes e depois da terapia estipulada, incluindo:
  - número de queratinócitos necróticos/apoptóticos e de queratinócitos em mitose;
  - espessura da epiderme e do platô suprapapilar;
  - presença de neutrófilos na camada córnea;
  - grau de inflamação na epiderme e derme superficial;
  - presença de capilares sangüíneos dilatados e tortuosos na derme papilar;
  - presença de eosinófilos e plasmócitos na derme superficial;
  - expressão e intensidade da reação para as citoqueratinas 10, 16 e 19;
  - número de queratinócitos positivos para os anticorpos Ki67 (marcador proliferativo) e CD1a (marcador de células de Langerhans).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 PSORÍASE

#### 2.1.1 Conceitos Gerais

A psoríase é uma doença sistêmica inflamatória que afeta primariamente a pele, mas que pode acometer também as articulações em 5% dos casos (CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; ELDER; NAIR; VOORHEES, 1994; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005). Ela se enquadra no grupo das dermatites chamadas papulo-descamativas e se manifesta com placas e pápulas eritematosas e descamativas que podem ser localizadas ou generalizadas. As escamas geralmente têm cor “prateada” e, quando retiradas por curetagem, apresentam aspecto e consistência semelhante a raspas de parafina (“sinal da vela”) e em seguida se observa o sinal de Auspitz (“orvalho sangrante”) aonde inúmeros focos de hemorragia puntiforme podem ser vistos. O acometimento das superfícies corpóreas extensoras, em particular joelhos e cotovelos, é muito característico da psoríase, bem como o fenômeno isomórfico de Koebner, que é o aparecimento de placas de psoríase em locais de trauma físico (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; SAMPAIO; RIVITTI, 2001; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005). Este fenômeno ocorre em 38 a 76% dos pacientes com a doença, e a lesão característica de psoríase geralmente aparece 7 a 14 dias após a injúria na pele (CAMP, 1998). O número e o tamanho das lesões são variáveis. Couro cabeludo, palmas, plantas, mucosas e unhas podem ser afetados pela psoríase, e quando a doença tem predileção pelas flexuras, ela é chamada de “invertida” (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; SAMPAIO; RIVITTI, 2001; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005). Prurido é um sintoma que pode existir, especialmente nos períodos de exacerbação da doença (CAMP, 1998; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003). Homens e mulheres são afetados de modo semelhante, e a idade mais comum de início é ao redor dos 25 ou ao redor

dos 55 anos, caracterizando dois picos de maior incidência. O curso da doença é crônico, com inúmeros episódios de remissão e recidiva e até hoje não se encontrou modo de curá-la (CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003). Apesar da psoríase afetar significativamente a qualidade de vida do paciente, a sobrevida é semelhante à da população em geral (ELDER; NAIR; VOORHEES, 1994; LEBWOHL, 2003).

A psoríase tem inúmeras formas de manifestação clínica. As mais importantes são a psoríase *guttata*, a psoríase eritrodérmica, a psoríase pustulosa e a psoríase em placas (vulgar), que é a forma mais comum, descrita anteriormente. A psoríase *guttata* é aquela que se apresenta de maneira abrupta com inúmeras pápulas e placas pequenas e disseminadas, que geralmente aparecem após um episódio de infecção de vias aéreas superiores de causa estreptocócica; este tipo de psoríase é mais comum em crianças. A forma eritrodérmica é uma forma grave de psoríase e se caracteriza por eritema e descamação generalizados, envolvendo pelo menos 90% da superfície corpórea. A forma pustulosa é caracterizada pela presença de pústulas sub-córneas e pode ser generalizada (forma de Von Zumbusch), localizada, ou acometer as palmas e plantas (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; SAMPAIO; RIVITTI, 2001; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005). As formas eritrodérmica e pustulosa aparecem em menos de 3% dos pacientes com psoríase (LEBWOHL, 2003).

CHRISTOPHERS (2001) propôs uma outra maneira de classificar as formas clínicas da psoríase, combinando o tipo das lesões, idade de início da doença e a presença ou não de história familiar. O autor baseou o seu estudo na avaliação do registro de 3700 pacientes com psoríase em Kiel, na Alemanha. Pacientes com psoríase do tipo I apresentam a doença mais cedo – ao redor dos 16 ou 21 anos, mulheres e homens, respectivamente, geralmente mais extensa e recorrente, têm pais com psoríase em 44% dos casos – e há associação com genes do HLA. Já o grupo de doentes com psoríase do tipo II tem o início da doença ao redor dos 50 anos, sendo menos extensa, e os pais não apresentam a doença – não há associação com genes do HLA. Além destes fatores, o grau de envolvimento da superfície corpórea, as características do comportamento das lesões (se “estáveis”

ou “instáveis”) e o número de recorrências também influenciaria na evolução clínica da doença.

### 2.1.2 Epidemiologia e Genética

Estima-se que a prevalência da psoríase esteja entre 0,5% e 4,8%, com os valores variando entre países e raças (LEBWOHL, 2003; NALDI, 2004). Acredita-se que, de um modo geral, a psoríase afeta 2% da população mundial (ELDER; NAIR; VOORHEES, 1994; CHRISTOPHERS, 2001; VAN de KERKHOFF, 2003). Segundo alguns estudos, a prevalência da doença nos Estados Unidos da América varia entre 1,4% (CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; CAMP, 1998; NALDI, 2004), 3% (LEBWOHL, 2003) e 4,6% (CHRISTOPHERS, 2001; VAN de KERKHOFF, 2003). Já em descendentes africanos e asiáticos este número cai para algo em torno de 0,5% (VAN de KERKHOFF, 2003; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; CAMP, 1998). No entanto, os estudos epidemiológicos de boa qualidade e em grande escala são pouco numerosos e a prevalência precisa da doença nas diversas partes do mundo não é conhecida (CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; CAMP, 1998; CHRISTOPHERS, 2001; NALDI, 2004).

Sabe-se que há uma influência genética na manifestação da doença mas não existe clareza no modo de herança (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; BOWCOCK; BARKER, 2003; VAN de KERKHOFF, 2003). A concordância do aparecimento da doença em gêmeos monozigóticos varia entre 63 a 72% (ELDER, NAIR; VOORHEES, 1994; BOWCOCK; KRUEGER, 2005; KRUEGER; ELLIS, 2005). Esta falta de concordância total em gêmeos monozigóticos sugere herança do tipo multifatorial e interação entre predisposição genética e fatores ambientais (KRUEGER; ELLIS, 2005). CHRISTOPHERS (2001) aponta que, interessantemente, nos melhores estudos epidemiológicos sobre psoríase, não foi encontrada nenhuma diferença na prevalência da doença com a evolução dos anos. Este fato contrasta com outras doenças de fundo imunológico como dermatite atópica, artrite reumatóide, doença de Crohn e diabetes melito, que apresentam prevalências em níveis crescentes. Aquele autor especula que talvez fatores ambientais não sejam tão importantes na patogênese da psoríase quando comparada com outras doenças.

Atualmente, oito *loci* diferentes de susceptibilidade para a psoríase foram descobertos e são chamados de PSORS1 a 8 (BOWCOCK; KRUEGER, 2005; KRUEGER; ELLIS, 2005). O locus PSORS1 é o mais amplamente estudado; ele fica na região do complexo de histocompatibilidade maior (MHC), no cromossomo 6p21, que contém genes que codificam proteínas relacionadas à função do sistema imune, entre eles, os genes do HLA (BOWCOCK; KRUEGER, 2005; KRUEGER; ELLIS, 2005). Todos os antígenos de classe I, HLA-B13, B17, B39, B57, Cw6 e Cw7, e de classe II, HLA-DR4 e DR7, mostram associação significativamente aumentada com o desenvolvimento de psoríase, mas o HLA-Cw6 é o que carrega o maior risco relativo no aparecimento da doença (ELDER; NAIR; VOORHEES, 1994). GUDJONSSON et al. (2003) mostraram que indivíduos homocigotos para aquele gen têm um risco relativo maior de desenvolver psoríase quando comparados a indivíduos heterocigotos. Por outro lado, ELDER, NAIR e VOORHEES (1994) afirmam que: (1) de um modo geral, a incidência da psoríase em indivíduos que apresentam algum alelo do HLA implicado na patogênese da doença é menor que 70% e isto significa que a psoríase tem diversas causas; (2) para cada indivíduo com psoríase que carrega um determinado alelo de susceptibilidade há 10 outros indivíduos sãos que carregam o mesmo alelo; e (3) apenas um alelo do HLA não é suficiente para desencadear a doença e é necessário um ou mais genes para desenvolver psoríase, e não apenas diferenças no meio externo.

### 2.1.3 Patogênese

A característica marcante da psoríase, e que é responsável pelo seu aspecto clínico típico, é a hiperplasia da epiderme com intensa descamação. Na psoríase, a atividade mitótica dos queratinócitos da camada basal é 50 vezes maior que na pele normal, o que faz com que os queratinócitos levem apenas três a cinco dias para atingir a camada córnea, em contraste com os 28 a 30 dias na epiderme normal (SCHON; BOEHNCKE, 2005). WEINSTEIN, McCULLOUGH e ROSS (1985) encontraram um ciclo celular dos queratinócitos de 36 horas na pele psoriásica, comparado às 311 horas do mesmo ciclo na pele normal. Diversos estudos mostram que o número de queratinócitos que expressam Ki67 (proteína marcadora da proliferação celular) em biópsias de pele de pacientes com psoríase é

caracteristicamente elevado, refletindo alta taxa de proliferação celular (SOINI et al., 1994; KAWASHIMA et al., 2004; BOVENSCHEN; SEYGER; VAN de KERKHOFF, 2005). Por isto que no passado, ao se analisar as biópsias de pele de pacientes com psoríase, os estudiosos consideravam o queratinócito como a peça chave na patogênese da doença, e agentes antiproliferativos como o arsênico e o metotrexate eram utilizados no tratamento da doença (SOBELL; HALLAS, 2003; NICKOLOFF; NESTLE, 2004). Acreditava-se que o queratinócito *per se* era anormal e sofria de proliferação descontrolada; isto provocaria a expressão de marcadores anômalos de proliferação e diferenciação que, por sua vez, atrairiam células inflamatórias para a pele (KRUEGER, 2002; SOBELL; HALLAS, 2003). Este enfoque mudou completamente quando se obteve sucesso no tratamento da psoríase com ciclosporina, droga que age no bloqueio da liberação de citocinas (MUELLER; HERRMANN, 1979; ELLIS et al., 1986; GOTTLIEB et al., 1992). A partir da década de 80 a psoríase passou a ser vista como uma doença imune-mediada, e o foco de pesquisa mudou do queratinócito para as células inflamatórias (SOBELL; HALLAS, 2003).

Muitas hipóteses foram postuladas ao longo dos anos para tentar explicar a psoríase e três fatos são muito peculiares nesta doença: (1) as placas de psoríase representam áreas extremamente bem localizadas de crescimento celular desordenado e inflamação, apesar de quase nunca se transformar ou desenvolver clones de queratinócitos, melanócitos ou linfócitos originando processos neoplásicos; (2) apesar da função de barreira da pele ser alterada pela presença de diferenciação completamente anômala dos queratinócitos, as placas de psoríase são extremamente resistentes à infecção por fungos, vírus e bactérias; e (3) as placas de psoríase regridem completamente, de forma espontânea ou depois de tratamentos, para pele de aspecto praticamente normal (NICKOLOFF, 2001; NICKOLOFF; NESTLE, 2004). Isto demonstra que na psoríase, apesar do aparente descontrole do ciclo mitótico do queratinócito e da inflamação, há sistemas de controle, e isto vem intrigando os pesquisadores ao longo dos anos.

Atualmente a psoríase é considerada uma doença mediada por linfócitos T com padrão de citocinas do tipo Th1 (AUSTIN et al., 1999; KRUEGER, 2002; LEBWOHL, 2003; SOBELL; HALLAS, 2003; MEHLIS; GORDON, 2003; GUDJONSSON, 2004; NICKOLOFF; NESTLE, 2004; BOWCOCK; KRUEGER,

2005; SCHON; BOEHNCKE, 2005; BOVENSCHEN; SEYGER; VAN de KERKHOF, 2005). Vários estudos corroboraram para esta conclusão, mas alguns foram determinantes na definição da psoríase como doença mediada por linfócitos T, e serão brevemente comentados a seguir.

GOTTLIEB et al. (1995) trataram 10 pacientes portadores de psoríase com DAB<sub>389</sub>IL-2, uma proteína de fusão composta por interleucina 2 humana e fragmentos da toxina diftérica, que especificamente bloqueia a proliferação de linfócitos ativados, mas não tem nenhuma ação sobre queratinócitos. A maioria dos pacientes tratados com aquela droga melhorou, e os autores concluíram que a psoríase tem uma base imunológica na sua fisiopatologia. No ano seguinte, WRONE-SMITH e NICKOLOFF (1996) induziram psoríase com a injeção de linfócitos T ativados em camundongos SCID que receberam enxertos de pele clinicamente normais provenientes de pacientes com psoríase. Mais tarde, utilizando o mesmo modelo de experimento, os mesmos autores (NICKOLOFF; WRONE-SMITH, 1999) provocaram psoríase com injeção de linfócitos ativados do tipo CD4 purificados, e não CD8. ASADULLAH et al. (1999, 2001), estudando parâmetros diferentes em dois trabalhos, provaram que a psoríase pode melhorar com o uso de interleucina 10 (IL10) – citoquina do tipo Th2 e antagonista da reação inflamatória do tipo Th1 – que geralmente é encontrada em menor quantidade na psoríase. ABRAMS et al. (2000) utilizaram uma imunoglobulina anti-antígeno 4 associado ao linfócito citotóxico (CTLA4) para o tratamento de pacientes com psoríase. O CTLA4 é uma molécula importante na ligação entre linfócitos e macrófagos, e conseqüentemente na ativação dos linfócitos. O bloqueio daquela ligação provocou melhora clínica nos pacientes com psoríase. GOTTLIEB et al. (2002) provocaram a melhora clínica da psoríase com o uso do efalizumab, um anticorpo anti-CD11a. Esta proteína faz parte do antígeno associado à função leucocitária do tipo 1 (LFA-1), que é uma das moléculas de adesão dos linfócitos necessária na ligação com queratinócitos, linfócitos ou células endoteliais para induzir inflamação. SKOV et al. (2003) mostraram que alguns pacientes com psoríase obtiveram melhora parcial e estatisticamente não significativa após o tratamento com um anticorpo monoclonal anti-CD4, induzindo a depleção daquela população de linfócitos T. GHORESCHI et al. (2003) estudaram a interleucina 4 (IL-4) para o tratamento da psoríase. Aqueles

autores induziram uma resposta inflamatória do tipo Th2 e obtiveram melhora clínica da doença.

Alguns acreditam que a patogênese da psoríase é baseada numa variação da resposta inflamatória de hipersensibilidade do tipo IV, centrada na ativação de linfócitos T e que representa uma forma de resposta inflamatória com citocinas do tipo Th1 (KRUEGER, 2002; LEBWOHL, 2003; SOBELL; HALLAS, 2003; KRUEGER; ELLIS, 2005). De maneira hipotética e simplista, uma célula apresentadora de antígeno como a célula de Langerhans, macrófago ou célula dendrítica, detecta e processa um “antígeno da psoríase”, ainda desconhecido, entra na circulação e vai a um linfonodo periférico. Lá, a célula apresentadora de antígeno apresenta este “antígeno da psoríase” a diversos linfócitos CD4 inativados, até que encontre um linfócito T CD4 que tenha a capacidade de reconhecer aquele determinado antígeno. Linfócitos T CD4 ativados se proliferam e deixam o linfonodo, entrando na circulação linfática. Ao passarem pela pele, e entrando em contato com aquele “antígeno da psoríase” já apresentado, secretam principalmente fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina 2 (IL-2) e interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), principiando o processo inflamatório, “auto estimulando-se” e recrutando cada vez mais linfócitos para o local. Estas citocinas são diretamente mitogênicas para os queratinócitos e células endoteliais, provocando aumento da espessura da epiderme e aumento na vascularização local. Além disso, aquelas citocinas ativam linfócitos CD8, e estes, por sua vez, interagem com queratinócitos causando injúrias reversíveis nos mesmos. Este processo mimetiza o que acontece no mecanismo de reparação de ferida na epiderme, e os queratinócitos passam a expressar marcadores anormais de proliferação e diferenciação. SOBELL e HALLAS (2003), contudo, comentam que o reconhecimento de um antígeno específico (“antígeno da psoríase”) pode servir como um gatilho para o desencadeamento da doença, mas que ele, por si só, não seria suficiente para manter a psoríase em atividade.

Não há dúvidas que o linfócito T tem um papel bem determinado na gênese e manutenção da psoríase, como exposto anteriormente, mas o seu grau de importância é debatido, com questionamentos em relação à colaboração de outras células, como neutrófilos e células de Langerhans, por exemplo (NICKOLOFF et al., 2000). PRINZ (2001) especula que estreptococos de uma infecção prévia de vias aéreas superiores são os principais fatores na gênese da doença: as lesões da

psoríase representam uma reação antibacteriana asséptica da pele contra aquelas bactérias, sendo que os linfócitos T estimulados naquela infecção reagem de maneira cruzada com os queratinócitos da pele. Já outros estudiosos defendem um papel importante da imunidade inata da pele no desenvolvimento da psoríase (CURRY et al., 2003; BOS et al., 2005). O conceito de “sistema imune da pele” (*SIS – skin immune system*) foi elaborado há quase 20 anos (BOS et al., 1987) e mais tarde se provou que os queratinócitos são capazes de liberar citocinas pró-inflamatórias em resposta a estímulos externos, iniciando uma inflamação cutânea antígeno-independente, que faz parte da resposta imune inata do ser humano (BARKER et al. (1991). BOS et al. (2005) sugerem que a psoríase é iniciada por uma hiper-atividade do sistema imune inato da pele que é estimulado por um gatilho ainda desconhecido. Esta resposta imune exagerada das células do sistema imune inato (queratinócitos, células *natural killer*, neutrófilos e células dendríticas) recruta outras células inflamatórias, principalmente linfócitos do tipo Th1 por via provavelmente antígeno-independente. Linfócitos Th1 passam a liberar inúmeras citocinas pró-inflamatórias, em especial o IFN- $\gamma$ , que agem sobre os queratinócitos, provocando hiperplasia da epiderme, e sobre os vasos sanguíneos, promovendo aumento da vascularização local, entre outros. Ainda segundo aqueles autores, a natureza crônica do processo da psoríase reflete ou uma ineficiência do sistema imune inato de se auto-controlar com medidas de *downregulation*, ou o gatilho inicial de todo o processo, ainda desconhecido, provoca estimulação incessante. A melhora da psoríase com o uso de anticorpos monoclonais anti-TNF- $\alpha$  (infliximab e etanercept) (SCHOPF; AUST; KNOP, 2002; SOBELL; HALLAS, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005), uma das principais citocinas que fazem parte da imunidade inata (BOS et al., 2005), é outro fato que implica o descontrole da imunidade inata na fisiopatologia da doença.

NICKOLOFF e NESTLE (2004) acreditam que o melhor modelo para explicar toda a complexidade da fisiopatologia da psoríase seria o modelo da rede de citocinas. Segundo aqueles autores, tanto um estímulo externo, como um trauma, por exemplo, como um estímulo interno, como neuropeptídeos, drogas, vírus, etc., poderiam servir como gatilho para desencadear a cascata de reações de citocinas que culminaria na ativação de diversas células inflamatórias. Enquanto esta teoria explica muito bem o círculo vicioso da inflamação e proliferação da

epiderme numa placa de psoríase, o modelo não esclarece como, exatamente, o linfócito é induzido a promover esta lesão de pele característica. Também ainda é desconhecido se este gatilho que induz a cascata de citocinas é próprio, definindo a psoríase como doença auto-imune, ou se não é próprio (NICKOLOFF; NESTLE, 2004).

#### 2.1.4 Fatores Desencadeantes

Vários fatores são responsáveis pelo primeiro aparecimento ou pela piora clínica da psoríase (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003). Os mais importantes são traumas mecânicos (fenômeno de Koebner), infecções bacterianas e reações a medicamentos (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003; BOWCOCK; BARKER, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005). Queimaduras solares, infecções virais, alterações endócrinas, e fatores emocionais e de estresse também podem influenciar o curso da doença (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005).

#### 2.1.5 Psoríase na infância

Segundo MORRIS et al. (2001) e KUMAR et al. (2004) a verdadeira incidência da psoríase na infância é desconhecida e se sabe que há diferenças nas formas clínicas de apresentação em adultos e crianças. MORRIS et al. (2001) fizeram um levantamento de 1262 casos de psoríase diagnosticados em crianças entre um mês e 15 anos, nos anos de 1981 a 1995, na capital da Austrália. Os autores encontraram uma distribuição equivalente em relação ao sexo: 47% dos pacientes eram do sexo feminino e 53% do sexo masculino. A maioria dos pacientes tinha menos de nove anos no momento do diagnóstico, e 27% dos casos ocorreram antes dos dois anos de vida. A forma clínica mais comumente encontrada foi em placas (34%), seguida pela dermatite da área da fralda com disseminação para o restante do tegumento (12,7%), psoríase de couro cabeludo (11,5%), psoríase anogenital (8,9%) e psoríase guttata (6,4%). Em 73% dos casos havia diagnóstico de psoríase em um parente de primeiro grau.

KUMAR et al. (2004) estudaram 419 pacientes pediátricos com diagnóstico de psoríase numa cidade da Índia entre 1990 e 2002. Os pesquisadores observaram que esse grupo de casos (pacientes com 14 anos ou menos) representava 12,5% de todos os pacientes com psoríase vistos em um centro especializado. A doença mostrou incidência semelhante entre meninos e meninas (52 e 48%, respectivamente) mas teve seu início mais precoce nos pacientes do sexo masculino (entre seis e 10 anos) que nos pacientes do sexo feminino (entre 10 e 14 anos). Os autores encontraram 4,5% de casos com história de psoríase em mais um membro da família. Em relação à forma de apresentação clínica, a psoríase em placas foi a mais comum (60%), seguida da forma plantar (12,8%) e guttata (9,7%). Cinco crianças (1,1%) apresentavam artrite psoriásica. O sintoma mais comum foi o prurido, acometendo 87% dos pacientes. Fatores de precipitação da doença foram lembrados em 28% dos pacientes, sendo que trauma físico e infecção de garganta foram os mais frequentes. Exacerbação da doença no inverno foi apontado em 32% dos pacientes.

De acordo com RAYCHAUDHURI e GROSS (2000), psoríase na infância é comum pois 31,5% dos 707 pacientes com psoríase investigados apresentaram o início da doença com 16 anos ou menos. Os autores compararam dois grupos: 223 casos de psoríase que iniciaram até os 16 anos, inclusive, e 484 casos de psoríase com diagnóstico após essa idade. No primeiro grupo, 44,4% dos pacientes eram do sexo masculino, e no segundo, 58,9%. História de psoríase em pelo menos um parente de primeiro grau foi encontrada em 48,8% dos casos com psoríase iniciada antes dos 16 anos, contra 36,6% do outro grupo. Nos pacientes com início mais precoce da psoríase, infecção de garganta precedendo o início da doença foi observada em 11,6% dos casos. Já nos pacientes com início da doença na idade adulta, infecção de garganta foi relacionada ao início da psoríase em 7,9% das vezes. Prurido foi relatado em 86,6% da população com início da psoríase na fase pediátrica e 79,7% com início na fase adulta.

#### 2.1.6 Histopatologia

As alterações histopatológicas observadas nas biópsias de pele de pacientes com psoríase variam de acordo com a forma clínica e com a fase de

evolução da doença. Na forma clínica mais comum (psoríase vulgar em placas) e quando a lesão clínica está bem estabelecida, o que geralmente se observa é hiperplasia acentuada e regular da epiderme, hiperqueratose, parakeratose multifocal com acúmulos de neutrófilos na camada córnea constituindo os “microabscessos” de Munro, espongiase de grau discreto a moderado, áreas de ausência da camada granulosa, exocitose de neutrófilos e linfócitos, figuras de mitose acima da camada basal, platôs suprapapilares afinados, papilomatose com edema, vasos dilatados, tortuosos e encostados na membrana basal da epiderme e infiltrado inflamatório constituído por linfócitos e neutrófilos ao redor dos vasos sanguíneos da derme superficial. Eosinófilos e plasmócitos normalmente não são observados, e mastócitos geralmente estão presentes no seu número habitual (WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005). Linfócitos T CD4 predominam na derme e linfócitos T CD8 predominam na epiderme (GOTTLIEB et al., 1995). Os anexos cutâneos e a derme profunda não são alterados. Na psoríase guttata, a hiperplasia epidérmica é menos evidente mas os neutrófilos na camada córnea são característicos. Na forma pustulosa da psoríase, o acúmulo de neutrófilos na epiderme, tanto na camada córnea quanto no estrato de Malpighi, é acentuado e as “pústulas intra-epidérmicas de Kogoj” podem ser observadas. A psoríase eritrodérmica exhibe as mesmas características histopatológicas da psoríase em placas, de um modo geral, mas algumas vezes apresenta características histológicas que podem se assemelhar ao que é visto nas doenças do “grupo eczema” (WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005).

### 2.1.7 Tratamento

Dependendo da forma clínica e gravidade da psoríase, o tratamento pode ser feito com medicamentos tópicos ou sistêmicos e, em algumas situações, a radiação ultravioleta natural ou artificial pode ser utilizada. Como a psoríase é uma doença crônica, muito comumente o paciente é submetido a um rodízio de esquemas terapêuticos, com drogas isoladas ou combinadas, e cada esquema é individualizado, variando de paciente para paciente, dependendo de vários fatores

clínicos e psicológicos (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003; LEBWOHL, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005).

As principais substâncias para tratamento tópico são coaltar, antralina, corticosteróides, análogos da vitamina D3 e retinóides (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005). SCHON e BOEHNCKE (2005) afirmam que 70 a 80% dos pacientes com psoríase podem ser tratados com medicamentos tópicos, pois a doença é limitada. No caso de acometimento mais amplo, são necessários tratamentos sistêmicos ou uso da fototerapia. A combinação do psoraleno tópico ou sistêmico com radiação ultravioleta do tipo A ou B constitui a fotoquimioterapia, e é uma alternativa amplamente utilizada. Dentre as diversas possibilidades para tratamento sistêmico da psoríase se encontram a ciclosporina, o metotrexate e o acitretin (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; SOBELL; HALLAS, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005).

A ciclosporina é um agente imunossupressor isolado do fungo *Tolypocladium inflatum gans* que se liga à proteína ciclofilina do citoplasma do linfócito. Este complexo inibe a calcineurina que é importante na ativação de fatores de transcrição nuclear para a produção de IL2 e TNF- $\alpha$ ; isto faz com que a ciclosporina interfira com a liberação de duas citocinas chave na resposta inflamatória do tipo 1 (MUELLER; HERRMANN, 1979; ELLIS et al., 1986; GOTTLIEB et al., 1992; CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; SOBELL; HALLAS, 2003; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005).

O metotrexate é um análogo do ácido fólico que funciona como inibidor do dihidrofolato, interferindo na síntese de DNA e na divisão celular. Apesar de ter sido considerado eficiente no tratamento da psoríase por seu efeito antiproliferativo sobre os queratinócitos, hoje se sabe que os linfócitos são extremamente mais sensíveis às ações do metotrexate que os queratinócitos, e é por depleção dos linfócitos, e não inibição das mitoses na epiderme, que o metotrexate proporciona sucesso na resposta clínica da psoríase a este medicamento (CAMP, 1998; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; SOBELL; HALLAS, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; MARTINS; ARRUDA, 2004; NICKOLOFF; NESTLE, 2004; SIGMUNSDOTTIR et al., 2004).

Inovações da biotecnologia proporcionaram a formulação de drogas com ação direcionada para interferir em sítios específicos e importantes na patogênese da psoríase, influenciando células inflamatórias, bloqueando citocinas ou interferindo na ligação entre receptores e ligantes de células do sistema imune (KRUEGER, 2002). Há cerca de 40 drogas deste tipo em investigação para o tratamento da psoríase (LEBWOHL, 2003). Dentre elas, três já apresentam evidências científicas suficientes para serem utilizadas no tratamento da psoríase (aprovadas pelo órgão *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos): alefacept, efalizumab e etanercept. O infliximab, anticorpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$ , é aprovado para o tratamento da artrite reumatóide e está em investigação para o uso em psoríase (SCHON; BOEHNCKE, 2005).

O alefacept é uma proteína formada pela fusão entre o primeiro domínio extracelular do antígeno 3 associado à função do linfócito (LFA-3) com a porção Fc da molécula 1 da imunoglobulina humana (IgG1). O segmento LFA-3 do alefacept se liga com a proteína CD2 da superfície dos linfócitos, dificultando a ligação dos linfócitos com as células apresentadoras de antígenos. Células *natural killer* e macrófagos reconhecem a porção Fc do alefacept e induzem a apoptose daqueles linfócitos; isto resulta na destruição seletiva de linfócitos ativados, já que linfócitos inativos, linfócitos B e células *natural killer* apresentam expressão baixa da proteína CD2 (SOBELL; HALLAS, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005).

O efalizumab é um anticorpo monoclonal que se liga seletivamente ao CD11a, molécula que faz parte do antígeno associado à função leucocitária do tipo 1 (LFA-1) (GOTTSLIEB et al., 2002; SOBELL; HALLAS, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005). O LFA-1 é uma das moléculas de adesão dos linfócitos necessária na ligação com queratinócitos, outros linfócitos ou células endoteliais; o efalizumab, portanto, altera a ativação e migração de linfócitos para a pele (GOTTSLIEB et al., 2002; SOBELL; HALLAS, 2003; SCHON; BOEHNCKE, 2005).

Finalmente, o etanercept é uma proteína formada pela fusão do domínio extracelular de dois receptores p75 do TNF- $\alpha$  com a porção Fc da molécula 1 da imunoglobulina humana (IgG1). Aquele medicamento interfere na ação do TNF- $\alpha$ , uma das principais citocinas na reação inflamatória do tipo 1 (SOBELL; HALLAS (2003), SCHON; BOEHNCKE, 2005).

Apesar de a revisão aprofundada de cada droga e esquema terapêutico utilizados no tratamento da psoríase ultrapassarem os objetivos deste trabalho, o acitretin e os retinóides serão discutidos de maneira mais detalhada a seguir.

## 2.2 ACITRETIN

### 2.2.1 História

No final da década de 60 um grupo de investigadores começou a modificar quimicamente a molécula da vitamina A (retinol) para conseguir derivados com a mesma eficiência daquela vitamina, mas com menor número de efeitos colaterais. O primeiro derivado sintetizado laboratorialmente foi o *all-trans*-ácido retinóico (tretinoína), que, no que diz respeito ao grau de toxicidade, não trouxe grandes vantagens quando comparado à vitamina A. Em seguida o composto 13-*cis*-ácido retinóico (isotretinoína) foi produzido, sendo considerado um retinóide de primeira geração. A isotretinoína é ampla e eficazmente utilizada no tratamento de acne (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997). A segunda geração de retinóides é composta por retinóides monoaromáticos, como o etretinato e o seu primeiro metabólito, o acitretin; ambos trouxeram avanços e benefícios no tratamento da psoríase e de outras doenças como ictiose, ceratose palmo-plantar, doença de Darier, pitiríase rubra-pilar, eczema hiperkeratósico das mãos e ceratose liquenóide crônica, entre outras (STEIJLEN, 1993; GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999; GIANNOTTI, 2003). Além disso, os retinóides se mostraram eficazes no tratamento e prevenção de câncer de pele (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999; MEHTA; RYTINA; STERLING, 2000; GIANNOTTI et al., 2003). O acitretin apresenta propriedades farmacológicas melhores que o etretinato: menor ligação em moléculas de lipídeo e eliminação mais rápida (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997).

### 2.2.2 Farmacologia dos Retinóides

O termo retinóides engloba a vitamina A (retinol) e todos os seus derivados, incluindo *all-trans*-ácido retinóico (tretinoína), 13-*cis*-ácido retinóico (isotretinoína), etretinato e acitretin (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SORIATANE®, 2006).

Após a ingestão oral, o acitretin é absorvido no intestino grosso e na mucosa deste órgão é metabolizado para 13-*cis*-acitretin (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SORIATANE®, 2006). A absorção é maior quando associada à ingestão de alimentos e a meia-vida média do acitretin é ao redor de dois dias (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999; LEE; KOO, 2005; SORIATANE®, 2006). O etretinato tem uma meia-vida média de 120 dias e fica depositado no tecido adiposo por longos períodos. Isso faz com que o acitretin seja muito melhor no tratamento de mulheres na idade fértil, já que a teratogenicidade é o efeito colateral mais grave e mais temido dos retinóides. Por outro lado, geralmente ocorre re-esterificação do acitretin em etretinato em maior ou menor grau (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999).

Os efeitos biológicos dos retinóides são atingidos através de proteínas ligadoras de retinóides citoplasmáticas e de receptores de retinóides nucleares (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; LEE; KOO, 2005). Até o momento foram descobertos dois receptores de retinóides nucleares, com diversas isoformas: RAR e RXR. Há três subclasses de cada tipo de receptor: RAR alfa, beta e gama, e RXR alfa, beta e gama. Estes receptores quando ligados aos retinóides agem como fatores de transcrição, inibindo ou estimulando o DNA para transcrição de proteínas (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997). O receptor RXR alfa é o principal receptor encontrado na pele segundo GOLLNICK; DÜMMLER (1997); de acordo com ELDER et al. (1992), o receptor RAR gama é o mais abundante.

### 2.2.3 Mecanismo de Ação

Os retinóides modulam enzimas, interferem na síntese de proteínas, no contato intercelular e na membrana citoplasmática, influenciam citoquinas e fatores de crescimento, e alteram a transcrição de genes (ELIAS, 1986; GOLLNICK; DÜMMLER, 1997). Como consequência, esses compostos influenciam a proliferação, queratinização e diferenciação das células epiteliais, e interferem na resposta inflamatória (GOTTLIEB et al., 1996; GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; GEIGER (2003). Em relação à diferenciação dos queratinócitos, sabe-se que a depleção de vitamina A causa proliferação e diferenciação acelerada daquelas células e quando retinóides são colocados no soro da cultura o grau de

estratificação se reduz e a diferenciação terminal é suprimida (KOPAN; TRASKA; FUCHS, 1987). Segundo GOTTLIEB et al. (1996) se os retinóides são considerados antiqueratinizantes por inibir a diferenciação de queratinócitos, isto faz com que sua ação antipsoriásica seja paradoxal, pois (1) os queratinócitos de placas psoriásicas já têm uma diferenciação incompleta; (2) os retinóides induzem hiperplasia epidérmica do tipo regenerativa quando aplicado topicamente em pele normal; e (3) estudos mostram que os retinóides aumentam o número de reações mediadas por linfócitos T. Um estudo clinicamente controlado que investigou os efeitos do *all-trans*-ácido retinóico (tretinoína) tópico em pele foto-danificada encontrou aumento na espessura da epiderme e da camada granulosa, paraceratose e aumento da expressão da transglutaminase, enzima marcadora da diferenciação terminal do queratinócito (ROSENTHAL et al., 1990). De acordo com ELIAS (1986), estudos morfológicos da epiderme por microscopia óptica mostram que retinóides tópicos e sistêmicos induzem um efeito bifásico: no início do uso do composto há acantose psoriasiforme, hipergranulose e edema intra e intercelular, e mais tarde, a acantose diminui, mas a hipergranulose persiste. Além disso, estudos encontraram níveis elevados de ácido retinóico em extratos de pele com psoríase, quando comparado aos níveis encontrados em pele sadia (SAURAT, 1999). Portanto, o exato mecanismo de ação do acitretin que provoca a melhora clínica da psoríase ainda é motivo de especulação (ELIAS, 1986; GOTTLIEB et al., 1996; GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999). De acordo com GOTTLIEB et al. (1996) uma solução para os paradoxos da ação dos retinóides em psoríase seria a possibilidade de efeito diferenciado sobre pele normal e sobre pele em regeneração, ou ainda, um efeito imunomodulatório desconhecido daqueles compostos.

#### 2.2.4 Indicações e Reações Adversas

A eficácia do tratamento da psoríase com acitretin, em monoterapia ou associado a outro método, é comprovada por inúmeros estudos (MURRAY et al., 1991; KUIJPERS et al., 1998; LING, 1999; GEIGER, 2003; CARLIN; CALLIS; KRUEGER, 2003; MARTINS; ARRUDA, 2004; LEE; KOO, 2005; PSORIASIS GUIDELINES, 2006), mas o grau de resposta terapêutica depende de diversos fatores, incluindo o tipo da psoríase (LING, 1999). Enquanto a psoríase pustulosa e

a psoríase eritrodérmica respondem muito bem ao tratamento com aquela droga, a psoríase vulgar em placas apresenta resultados menos satisfatórios (LING, 1999; GEIGER, 2003; LEE; KOO, 2005). A resposta ao tratamento é dose-dependente, com doses mais elevadas produzindo grande melhora clínica (LING, 1999; GEIGER, 2003). A dosagem de acitretin normalmente utilizada para o tratamento da psoríase é de 0,25 a 0,6 mg por kg/dia (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; MARTINS; ARRUDA, 2004; LEE; KOO, 2005) ou 10 a 25mg/dia, com aumento subsequente da dose ao longo do tratamento (LING, 1999; GEIGER, 2003). Acredita-se que o tratamento da psoríase com o acitretin em monoterapia: (1) causa resposta clínica evidente de maneira gradual e leva entre três a seis meses para ser atingida; (2) provoca remissão completa em menos de 50% dos pacientes; (3) em doses mais altas como 50 a 75mg/dia pode resultar em melhora mais rápida, mas os efeitos colaterais se tornam muito evidentes; e (4) pode induzir uma piora relativa das lesões nos primeiros dois meses de tratamento (LING, 1999; GEIGER, 2003). O acitretin também pode ser útil no tratamento da psoríase das unhas mas pouco afeta o couro cabeludo (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997). Os melhores resultados com o uso do acitretin são obtidos em esquemas terapêuticos combinados com outras drogas de uso tópico, como o calcipotriol, por exemplo, ou com o uso da irradiação ultra-violeta (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999; CARLIN; CALLIS; KRUEGER, 2003).

Efeitos colaterais do acitretin são dose-dependente e podem contribuir para limitar a dose que pode ser utilizada (LING, 1999; GEIGER, 2003; MARTINS; ARRUDA, 2004; LEE; KOO, 2005). Os principais efeitos colaterais do acitretin são ressecamento das mucosas oral e nasal, xerose, queimação e prurido da pele, perda de cabelos, traquioníquia, aumento do nível dos triglicérides séricos e alteração das enzimas hepáticas (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; GEIGER, 2003; LEE; KOO, 2005; SORIATANE®, 2006). Todos estes efeitos adversos melhoram após a interrupção do tratamento e a sua incidência e gravidade variam de acordo com a dose e de paciente para paciente (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997). A teratogenicidade dos retinóides é inevitável e para mulheres em idade fértil, medidas de contracepção seguras devem ser tomadas por pelo menos um mês antes do início do tratamento e até dois anos após a interrupção do mesmo (GOLLNICK;

DÜMMLER, 1997; GEIGER, 2003; MARTINS; ARRUDA, 2004; LEE; KOO, 2005; SORIATANE®, 2006).

O acitretin é formalmente contra-indicado em gestantes, em mulheres amamentando ou com intenção de engravidar por dois anos após o término do tratamento com a droga, hepatopatas, nefropatas, pacientes com níveis muito elevados de colesterol e triglicérides, e pacientes em tratamento concomitante com tetraciclina (fator de risco para hipertensão intracraniana), fenitoína (por competição na proteína sérica de ligação) ou metotrexate (pela hepatotoxicidade) (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; GEIGER, 2003; MARTINS; ARRUDA, 2004; LEE; KOO, 2005; SORIATANE®, 2006).

#### 2.2.5 Uso de Retinóides na População Pediátrica

BRECHER e ORLOW (2003) revisaram o uso de retinóides orais em crianças e adolescentes para tratamento de acne, psoríase e desordens de queratinização e notaram resultados satisfatórios em todas essas condições. Apontaram que os efeitos colaterais em tratamentos de curta duração são geralmente bem tolerados e reversíveis, mas que em tratamentos longos com retinóides, a toxicidade do sistema músculo-esquelético pode ser uma complicação indesejável.

Segundo LACOUR et al. (1996), o acitretin é a droga de escolha para o tratamento das desordens de queratinização em crianças. Os autores estudaram 29 crianças com variados distúrbios de queratinização, como ictiose lamelar, eritrodermia ictiosiforme bolhosa e não bolhosa, e síndrome de Sjögren-Larsson, entre outros. Apenas três crianças não tiveram boa resposta ao tratamento e o principal efeito colateral foi ressecamento de mucosas, reversível e relacionado à dose do medicamento. Não houve registro de reações adversas tóxicas ou irreversíveis.

O uso de retinóides para o tratamento de psoríase em crianças é restrito à forma pustular, com bons resultados e efeitos colaterais brandos (SHELNITZ; ESTERLY; HONIG, 1987; ROSINSKA et al., 1988; KOPP et al., 2004). Além disso, os retinóides estão sendo empregados para o tratamento de leucemia promielocítica

aguda e neuroblastoma (BALIS, 1998; REYNOLDS; LEMONS, 2001; ORTEGA et al., 2005).

### 2.3 DIFERENCIAÇÃO E QUERATINIZAÇÃO DA EPIDERME

A epiderme consiste de 10 a 20 camadas de células que possuem propriedades e estruturas diferentes entre si. Apenas as células da camada basal proliferam; à medida que isto acontece, os queratinócitos são empurrados em direção à superfície da epiderme, diferenciando-se com um objetivo terminal, ou seja, morte celular com queratinização completa e eliminação para o meio externo. Durante o processo de deslocamento da camada basal em direção à camada espinhosa, os queratinócitos se tornam maiores e se mantêm metabolicamente ativos, com grande enfoque na produção de queratinas. Quando as células atingem a camada granulosa elas passam a sofrer eventos destrutivos, com perda das organelas citoplasmáticas e com as queratinas se organizando em grandes feixes (macrofilamentos). Em seguida a permeabilidade celular aumenta e a enzima transglutaminase é ativada. Esta enzima provoca eventos que culminam com a morte celular, formação da escama, que não passa de um esqueleto celular cheio de macrofilamentos de queratina, e sua eliminação (KOPAN; TRASKA; FUCHS, 1987).

FREEDBERG et al (2001) comentam que os queratinócitos da camada basal possuem duas alternativas: ou se diferenciam, como explicado anteriormente, ou entram em um ciclo de ativação celular. Segundo aqueles autores, os queratinócitos são ativados em estados patológicos, como no processo de cura de feridas e em doenças da pele, como na psoríase. Este processo de ativação celular pode ser afetado por fatores de crescimento e citocinas, como a IL-1, TNF- $\alpha$ , fator de crescimento transformador  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), TGF- $\beta$  e IFN- $\gamma$ . Os queratinócitos ativados são proliferativos, migratórios, apresentam mudanças no seu citoesqueleto, possuem maior número de receptores de membrana e podem produzir componentes da membrana basal. Além disso, quando ativados, os queratinócitos produzem sinais parácrinos para alertar fibroblastos, células endoteliais, melanócitos e linfócitos, e sinais autócrinos para os queratinócitos vizinhos, acionando uma cascata de eventos pró-inflamatórios e auto-estimulatórios (BARKER et al., 1991;

FREEDBERG et al., 2001). Normalmente, quando o objetivo é alcançado, todo este processo de ativação dos queratinócitos é suspenso por mecanismos de desativação. Acredita-se que a IL-1 é o fator mais importante na ativação dos queratinócitos e que o TNF- $\alpha$  é essencial para a manutenção deste processo (FREEDBERG et al., 2001).

### 2.3.1 Queratinas

As queratinas são proteínas insolúveis na água que se organizam em tonofilamentos de 10 nm (SUN et al., 1983). Elas fazem parte do grupo dos filamentos intermediários juntamente com a vimentina, desmina, neurofilamento e filamento glial; estas proteínas possuem esse nome por se disporem em filamentos com tamanhos intermediários entre os microfilamentos e os microtúbulos (SUN et al., 1983, ALVES; BACCHI; VASSALLO, 1999). A queratina é uma proteína marcadora da origem epitelial da célula e seu peso molecular varia entre 40 a 70 kilodaltons (SUN et al., 1983). As queratinas formam uma família de aproximadamente 20 tipos diferentes. Geralmente queratinas de baixo peso molecular são expressas em epitélios simples ou viscerais, e queratinas de alto peso molecular são expressas em epitélios mais complexos, como a pele (ALVES; BACCHI; VASSALLO, 1999).

À medida que o queratinócito se diferencia, mudam as expressões das queratinas (WEISS et al., 1983; KOPAN; TRASKA; FUCHS, 1987) e o peso das mesmas vai aumentando gradualmente com a diferenciação do queratinócito (KOPAN; TRASKA; FUCHS, 1987). A camada basal expressa as queratinas K5 e K14, com 58 e 50 kilodaltons, respectivamente. As células suprabasais e diferenciadas, além de K5 e K14, possuem as queratinas K1 (67 kilodaltons), K2 (65 kilodaltons), K10 (56,5 kilodaltons) e K11 (56 kilodaltons) (KOPAN; TRASKA; FUCHS, 1987; FREEDBERG et al., 2001). A proteína involucrina também é associada à diferenciação dos queratinócitos, sendo detectada nas células mais superficiais da camada espinhosa e na camada córnea (KOPAN; TRASKA; FUCHS, 1987). O processo de diferenciação celular pode ser afetado por vitaminas, como a vitamina A e a vitamina D3 (FREEDBERG et al., 2001). Quando células da epiderme humana são cultivadas em meio de cultura contendo soro desprovido de vitamina A,

elas passam a se estratificar e se diferenciar de maneira acelerada, com a produção de queratinas de alto peso molecular. Quando retinóides são colocados no soro da cultura, o grau de estratificação reduz e a diferenciação terminal é suprimida. Por outro lado, quando doses excessivas de retinóides são adicionados ao meio de cultura há formação de dois tipos anormais de queratina, a K19 com 40 kilodaltons e a K13, com 52 kilodaltons. A K19 é uma queratina geralmente expressa apenas em alguns epitélios simples e em neoplasias malignas da pele (KOPAN; TRASKA; FUCHS, 1987).

Os queratinócitos ativados expressam queratinas diferentes do que as da pele normal, como a K6, K16 e K17 (FREEDBERG et al., 2001; BHAWAN et al., 2004). BHAWAN et al. (2004) estudaram 67 pacientes com psoríase e analisaram a expressão da queratina K16 na pele com placa psoriásica e na pele clinicamente normal, e compararam os resultados obtidos com 19 voluntários sadios. Aqueles autores encontraram correlação estatisticamente significativa entre a positividade da K16 nas células acima da camada basal com psoríase, tanto nas biópsias de pele da placa psoriásica como nas biópsias de pele clinicamente normal. Por isso os autores especulam que a K16 pode servir como marcador da psoríase numa fase “pré-clínica”. Em outro estudo a queratina K17 teve a sua expressão diminuída nas biópsias de pele de pacientes com psoríase após tratamento tópico com antralina ou análogos da vitamina D (JONG et al. (1991).

## 3 MATERIAL E MÉTODO

### 3.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo longitudinal prospectivo do tipo “antes e depois”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (anexo 1), utilizando biópsias de pele de pacientes com psoríase atendidos no ambulatório de dermatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e que foram tratados por um período de quatro meses com acitretin.

#### 3.1.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos na pesquisa indivíduos voluntários de ambos os sexos e com idade entre 12 e 65 anos que assinaram o termo de consentimento aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, e que apresentavam as seguintes características:

- Pelo menos 10% de envolvimento corpóreo por psoríase vulgar em placas, ou casos que não obtiveram sucesso (ou estavam com recidiva da doença) com outros tratamentos sistêmicos previamente utilizados e suspensos há pelo menos um mês, ou outros tratamentos tópicos suspensos há pelo menos duas semanas.
- Para mulheres em idade reprodutiva, teste sangüíneo de gravidez negativo e anticoncepção por método seguro durante, e por pelo menos dois anos após o término do tratamento.
- Testes laboratoriais normais de função renal, hepática e tireoidiana, e glicemia e trigliceridemia dentro dos limites da normalidade.
- Ausência de evidência de alcoolismo e presença de bom discernimento para seguir instruções médicas.

Durante o tratamento os pacientes foram autorizados a utilizar apenas emolientes tópicos e foram orientados a evitar o uso de qualquer medicação sistêmica sem discussão prévia com a equipe pesquisadora. No caso de pacientes

com menos de 18 anos, o termo de consentimento deveria ser assinado por um responsável.

### 3.1.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos da pesquisa pacientes eritrodérmicos, os que não preencheram os critérios de inclusão na sua totalidade citados anteriormente, e aqueles que apresentaram as seguintes características durante o desenvolvimento da pesquisa:

- Presença de alterações significativas e não passíveis de tratamento medicamentoso dos níveis de triglicérides ou colesterol séricos.
- Desenvolvimento de hiperglicemia ou presença de alterações significativas nos níveis séricos de creatinina e enzimas hepáticas.
- Não seguimento das instruções da equipe pesquisadora em relação à proibição do uso de outros medicamentos tópicos ou sistêmicos para psoríase.
- Não comparecimento às visitas médicas pré-estabelecidas.

### 3.1.3 Acompanhamento Clínico e Esquema Terapêutico do Acitretin

Na primeira visita médica os pacientes selecionados pelos critérios de inclusão foram avaliados clinicamente, examinados e fotografados. O PASI (*Psoriasis Area Severity Index*) foi utilizado como parâmetro para a avaliação clínica da gravidade da psoríase e foi calculado com a fórmula clássica descrita por JACOBSON; KIMBALL (2004) por dois dermatologistas independentes (com posterior cálculo da média). Os pacientes foram submetidos à biópsia de pele por *punch* 4 mm, após anestesia local com xilocaína, na área de maior exuberância da doença no tronco, ou nádegas, ou membros superiores. O acitretin foi iniciado na dose de 0,3 mg/kg de peso por dia e, aos 30 dias, se os exames de controle estivessem dentro dos limites da normalidade, a dose foi aumentada para 0,5 mg/kg de peso por dia. Trinta, 60, 90 e 120 dias após o início do tratamento com o acitretin os pacientes retornaram ao ambulatório para avaliações clínicas, laboratoriais e de exame físico, incluindo o cálculo do PASI. Os pacientes eram livres para consultar ou telefonar aos médicos da equipe pesquisadora para sanar

dúvidas ou relatar efeitos colaterais da medicação. Aos quatro meses do início do tratamento com acitretin, além da avaliação clínica mencionada anteriormente, realizou-se biópsia de pele por *punch* 4 mm, após anestesia local com xilocaína, numa área próxima ao local da primeira biópsia, evitando a cicatriz e procurando sinais de doença residual, se presentes. Calculou-se a porcentagem de melhora clínica dos pacientes com a fórmula  $(100 - (\text{valor do PASI depois} \times 100) / (\text{valor do PASI antes}))$ . Ao terminar a participação na pesquisa, os pacientes eram dispensados e passavam a ser acompanhados de maneira habitual pelos outros médicos do ambulatório do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas, mantendo ou não a terapêutica com acitretin.

### 3.2 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

As amostras de pele foram fixadas em formol tamponado a 10% e submetidas ao procedimento técnico de rotina, no laboratório Diagnose, Curitiba. De cada bloco de parafina, foi confeccionada uma lâmina contendo quatro cortes histológicos de 5µm, com intervalo de 50µm entre eles (cortes escalonados), corados com hematoxilina e eosina (H. E.). Os seguintes parâmetros foram avaliados de maneira cega, ou seja, sem o conhecimento de qualquer informação sobre a amostra ou sobre o paciente, incluindo se pré ou pós-tratamento com acitretin:

1. Queratinócitos necróticos/apoptóticos: contagem e cálculo da média do número de queratinócitos necróticos/apoptóticos – células com citoplasma hipereosinofílico e núcleos picnóticos com cromatina condensada – na epiderme em cada corte histológico.
2. Queratinócitos em mitose: contagem e cálculo da média do número de figuras de mitose em metáfase (cromossomos alinhados no centro do núcleo) ou anáfase (cromossomos separados nos dois pólos do núcleo) na epiderme em cada corte histológico.
3. Espessura da epiderme: medida da espessura do cone epidérmico mais longo em cada corte histológico, na epiderme interfolicular, evitando áreas de artefatos técnicos de inclusão ou de confecção da lâmina, da camada basal até o início da camada córnea, e desconsiderando a

paraceratose, com régua apropriada para microscópios. A média da medida dos quatro cortes histológicos foi calculada.

4. Espessura dos platôs suprapapilares: medida da espessura do platô suprapapilar mais fino de cada corte histológico, na epiderme interfolicular, evitando áreas de artefatos técnicos de inclusão ou de confecção da lâmina, do topo da papila dérmica até o início da camada córnea, e desconsiderando a paraceratose, com régua apropriada para microscópios. A média da medida dos quatro cortes histológicos foi calculada.
5. Relação espessura/platô: cálculo da fração entre a média da espessura da epiderme e a média da espessura do platô suprapapilar.
6. Neutrófilos na camada córnea: avaliação da presença ou ausência dos mesmos nos cortes histológicos.
7. Inflamação da epiderme: graduação da intensidade do componente inflamatório (espongiose, neutrófilos e linfócitos) entre os queratinócitos em ausente (0), discreto (1) e moderado (2), usando uma estimativa geral nos quatro cortes histológicos utilizando a objetiva de 40x.
8. Inflamação da derme: graduação da intensidade do componente inflamatório (neutrófilos e linfócitos) ao redor dos vasos sangüíneos da derme superficial em ausente (0), discreto (1) e moderado (2), usando uma estimativa geral nos quatro cortes histológicos utilizando a objetiva de 40x.
9. Capilares sangüíneos da derme papilar: avaliação das características destes vasos na derme papilar, se eram dilatados, tortuosos e encostados na membrana basal.
10. Eosinófilos: análise da presença ou ausência dos mesmos na derme superficial.
11. Plasmócitos: análise da presença ou ausência dos mesmos na derme superficial.

### 3.3 MÉTODO IMUNO-HISTOQUÍMICO

Todas as reações imuno-histoquímicas foram realizadas no laboratório de imuno-histoquímica do *Stiftung Dermatologikum* de Hamburgo, Alemanha. De cada bloco de parafina, foi confeccionada uma lâmina contendo um corte histológico de 3µm. As lâminas contendo os cortes histológicos foram submetidas ao seguinte procedimento:

1. Colocação na estufa a 65°C, por 20 minutos, para derretimento da parafina.
2. Banho em xilol por 20 minutos.
3. Banhos consecutivos em xilol, por 5 segundos e em soluções com concentrações decrescentes de álcool: 100%, 96% e 70%, um minuto em cada.
4. Lavagem em água destilada.
5. Recuperação antigênica conforme explanação na Tabela 1.
6. Resfriamento em meio ambiente por 20 minutos.
7. Banho em solução TBS (*Tris-buffered-saline solution*) da DAKO, por 5 minutos.
8. Aplicação do anticorpo primário por 60 minutos.
9. Banho em solução TBS (*Tris-buffered-saline solution*) da DAKO, por 5 minutos.
10. Aplicação do anticorpo secundário biotinilado (“kit” de detecção da DAKO), duas gotas, por 15 minutos.
11. Banho em solução TBS (*Tris-buffered-saline solution*) da DAKO, por 5 minutos.
12. Aplicação da estreptavidina-fosfatase alcalina (“kit” de detecção da DAKO), duas gotas, por 15 minutos.
13. Banho em solução TBS (*Tris-buffered-saline solution*) da DAKO, por 5 minutos.
14. Colocação do cromógeno vermelho (“kit” de detecção da DAKO), duas gotas, por 15 minutos.
15. Banho em água destilada por 10 segundos.
16. Coloração de hematoxilina.
17. Banho em água corrente por 10 minutos
18. Banho em água destilada.

19. Desidratação com soluções com concentrações crescentes de álcool, 70%, 96% e 100%.
20. Diafanização com xilol.
21. Colocação automatizada da lamínula.

Os clones dos anticorpos testados, as respectivas companhias, as concentrações utilizadas e o método de recuperação antigênica estão dispostos na tabela 1. Para cada bateria de exames se incluiu um caso controle sabidamente positivo para o anticorpo a ser testado.

TABELA 1 – RELAÇÃO DOS ANTICORPOS, CLONES, FONTES COMERCIAIS, DILUIÇÕES E MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO ANTIGÊNICA

Anticorpo	Clone	Fonte	Diluição	Método de recuperação antigênica
CK16	LLO25	Acris Antibodies, Alemanha	1:75	Microondas (600 Watts de potência), duas vezes de 5 minutos.
CK10	DE-K10	DAKO Cytomation	1:50	Microondas (440 Watts de potência), duas vezes de 5 minutos.
CK19	BA17	DAKO Cytomation	1:75	Microondas (600 Watts de potência), duas vezes de 5 minutos.
CD1a	O10	DAKO Cytomation	1:100	Aquecimento a vapor (95°C), 40 minutos.
Ki67	MIB-1	DAKO Cytomation	1:50	Aquecimento a vapor (95°C), 40 minutos.

### 3.3.1 Avaliação das Reações Imuno-histoquímicas

As reações imuno-histoquímicas foram igualmente avaliadas cegamente, da seguinte maneira:

1. Citoqueratina 10 (CK10): estimou-se a quantidade de queratinócitos positivos para este anticorpo na epiderme (porcentagem de células positivas). Como a CK10 não marca a camada basal da epiderme, o número de camadas de células negativas na camada basal foi calculado com uma média entre os números máximos e mínimos encontrados.
2. Citoqueratina 16 (CK16): avaliou-se a intensidade da reação, que foi graduada em inexistente (0), fraca (1), moderada (2) e forte (3), e se

estimou a quantidade de queratinócitos positivos para este anticorpo na epiderme (porcentagem de células positivas).

3. Citoqueratina 19 (CK19): avaliou-se a presença ou ausência da reação imuno-histoquímica, utilizando ácinos ou ductos de glândulas écrinas como controles internos para a reação.
4. Ki67 e CD1a: contou-se o número de células positivas (coloração nuclear) por campo de grande aumento (400x), em três áreas diferentes da epiderme, selecionando as áreas com maior número de células positivas, com a melhor qualidade de coloração e com menor incidência de artefatos de técnica de inclusão. A média de células positivas por campo de grande aumento foi calculada.

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis de natureza quantitativa foram avaliadas pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon e as variáveis qualitativas dicotômicas foram avaliadas pelo teste binomial. Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística.

As variáveis quantitativas foram: PASI, média de queratinócitos necróticos/apoptóticos ou figuras de mitoses na epiderme, média da espessura da epiderme ou do platô suprapapilar, relação espessura/platô, porcentagem de queratinócitos positivos para os anticorpos CK10 e CK16 na epiderme, média de células negativas para o anticorpo CK10 na camada basal, e média de células positivas para os anticorpos Ki67 e CD1a por campo de grande aumento da epiderme. Para cada uma das variáveis quantitativas do estudo, testou-se a hipótese nula de resultados iguais antes e depois do tratamento *versus* a hipótese alternativa de resultados diferentes. Calculou-se, ainda, os resultados de média, mediana, valor mínimo, valor máximo e desvio padrão para cada um dos momentos de avaliação, para cada uma das variáveis.

As variáveis qualitativas dicotômicas foram: presença ou ausência de neutrófilos na camada córnea, de vasos sangüíneos dilatados e tortuosos na derme papilar, de eosinófilos ou plasmócitos na derme, e se houve, ou não, positividade para o anticorpo CK19. As variáveis categóricas ordinais, ou seja, intensidade do componente inflamatório na epiderme e derme e a intensidade da reação imuno-

histoquímica para CK16 foram transformadas em variáveis qualitativas dicotômicas; agruparam-se as categorias 1 e 2 no caso da inflamação da epideme e derme, e se agruparam as categorias 0 e 1, e 2 e 3, no caso da intensidade da reação imuno-histoquímica para CK16. Estas três últimas variáveis foram analisadas também pelo teste binomial. Para cada uma das variáveis testou-se a hipótese nula de que a probabilidade de presença da característica avaliada antes do tratamento era igual à probabilidade de presença da característica avaliada depois do tratamento, *versus* a hipótese alternativa de probabilidades diferentes.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 PACIENTES E DADOS CLÍNICOS

Dos 23 pacientes que iniciaram o estudo 17 completaram o período de quatro meses de tratamento com acitretin. Nove pacientes eram homens (53%) e oito pacientes eram mulheres (47%). As idades variaram entre 35 e 61 anos, com média e mediana de 47 anos. Nenhum paciente da faixa etária pediátrica preencheu os critérios de inclusão da pesquisa. Havia um paciente adolescente com 15 anos que desistiu da pesquisa após dois meses do início da medicação.

A medida do PASI antes do tratamento variou entre 4,97 e 34,17 (média de 14,85 e mediana de 13,20). Depois do tratamento, o PASI variou entre 1,85 e 30,35 (média de 8,71 e mediana de 5,35). Usando-se o PASI como parâmetro, a melhora clínica dos pacientes com o acitretin foi estatisticamente significativa ( $p = 0,0019$ ) (figuras 1 e 2). De um modo geral, a porcentagem de melhora dos valores de PASI foi de 59,40%, utilizando-se as medianas dos valores do PASI antes e após o uso do acitretin. O valor máximo de melhora foi de 79,64%, e o mínimo foi de -62% (valor negativo traduzindo piora do quadro após uso da medicação). Cinco pacientes (29,40%) obtiveram 75% ou mais de melhora no valor do PASI, e oito (47%) apresentaram pelo menos 50% de melhora daquele índice.

FIGURA 1 – PACIENTE NÚMERO 2. ASPECTO DA DOENÇA ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOVE MELHORA DAS LESÕES APÓS O USO DA MEDICAÇÃO



FIGURA 2 – PACIENTE NÚMERO 3. ASPECTO DA DOENÇA ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE MELHORA DAS LESÕES APÓS O USO DA MEDICAÇÃO



## 4.2 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Observou-se queratinócitos necróticos/apoptóticos em nove casos (53%) antes e seis casos (35%) depois do uso de acitretin. A média do número de queratinócitos necróticos/apoptóticos por corte histológico não teve variação estatisticamente significativa antes e depois do tratamento com acitretin ( $p = 0,4446$ ) (figura 3).

Queratinócitos em mitose foram encontrados em seis casos (35%) antes do tratamento e em cinco casos (29%) depois. A média do número de figuras de mitose por corte histológico não teve variação estatisticamente significativa antes e depois do tratamento com aquela droga ( $p = 0,9442$ ) (figura 4).

A epiderme diminuiu significativamente de espessura após o tratamento com acitretin ( $p = 0,0005$ ), a média variando de 0,50 mm antes para 0,27 mm depois (figuras 5 e 6).

O platô suprapapilar não variou de espessura de maneira estatisticamente significativa após o uso do medicamento em estudo ( $p = 0,0869$ ) (figuras 7 e 8). Antes do tratamento mediu 0,05 mm em média e depois, 0,06 mm em média.

A relação entre a média da espessura da epiderme e a média da espessura do platô suprapapilar antes do uso do acitretin foi 9,2 em média. Depois do tratamento este valor caiu para 4,2. Essa variação foi estatisticamente significativa ( $p = 0,0008$ ).

Houve diminuição estatisticamente significativa de casos com neutrófilos na camada córnea após o uso do acitretin ( $p = 0,0063$ ) (figura 9). Estas células foram observadas na camada córnea de 14 casos (82,3%) antes e quatro casos (23,5%) depois do tratamento.

O grau de inflamação da epiderme diminuiu de maneira estatisticamente significativa após o tratamento com a droga em estudo ( $p = 0,0117$ ) (figura 10).

O grau de inflamação da derme não mostrou variação significativa com o tratamento ( $p = 0,25$ ) (figura 11).

A presença de vasos sangüíneos dilatados e tortuosos na derme papilar diminuiu de maneira estatisticamente significativa após o uso de acitretin ( $p = 0,0156$ ) (figuras 12 e 13). Encontrou-se anormalidades nos vasos sangüíneos de

todos os casos antes do tratamento com acitretin e esta característica se manteve em 10 casos (58%) após o tratamento

Observaram-se eosinófilos em duas biópsias (11,7%) pré tratamento e em cinco biópsias (29,5%) pós. Plasmócitos foram encontrados em apenas dois casos (11,7%) após o tratamento com acitretin. A presença de eosinófilos e plasmócitos antes e depois do tratamento estipulado não foi significativamente diferente ( $p = 0,37$  e  $p = 0,5$ , respectivamente).

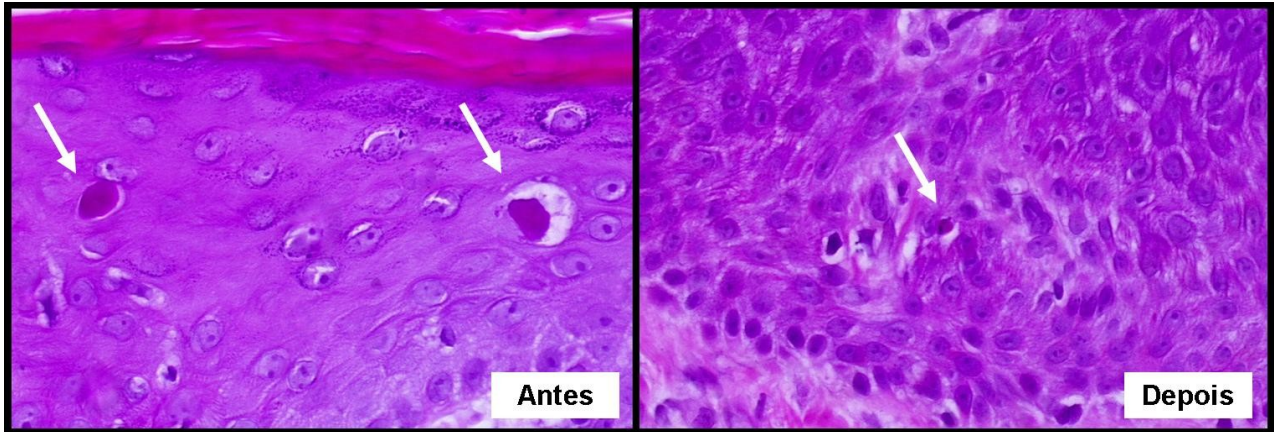
Na tabela 2 são apresentados os resultados de média, mediana, valor mínimo, valor máximo, desvio padrão e os valores de  $p$  dos testes estatísticos para cada um dos momentos de avaliação, no total de 17 pacientes, para as seguintes variáveis: queratinócitos necróticos/apoptóticos, queratinócitos em mitose, espessura da epiderme e espessura dos platôs suprapapilares.

TABELA 2 – COMPARAÇÃO DOS VALORES DE MÉDIA, MEDIANA, VALOR MÍNIMO, VALOR MÁXIMO, DESVIO PADRÃO E P DAS VARIÁVEIS QUERATINÓCITOS NECRÓTICOS/APOPTÓTICOS, QUERATINÓCITOS EM MITOSE, ESPESSURA DA EPIDERME, ESPESSURA DO PLATÔ SUPRAPAPILAR E RELAÇÃO ESPESSURA/PLATÔ ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES

Variável	Status <sup>(1)</sup>	Média	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo	Desvio padrão	Valor de p
Queratinócitos necróticos/apoptóticos	Antes	0,28	0,25	0	1,25	0,38	0,4446
	Depois	0,18	0	0	1,25	0,34	
Figuras de mitose	Antes	0,12	0	0	0,50	0,18	0,9442
	Depois	0,18	0	0	1,75	0,43	
Espessura da epiderme (em mm)	Antes	0,50	0,49	0,25	0,70	0,14	0,0005
	Depois	0,27	0,24	0,12	0,52	0,11	
Platô suprapapilar (em mm)	Antes	0,06	0,05	0,04	0,08	0,01	0,0869
	Depois	0,06	0,06	0,05	0,09	0,01	
Espessura/Platô	Antes	9,20	8,69	3,13	17,31	3,17	0,0008
	Depois	4,27	3,38	2,33	7,18	1,82	

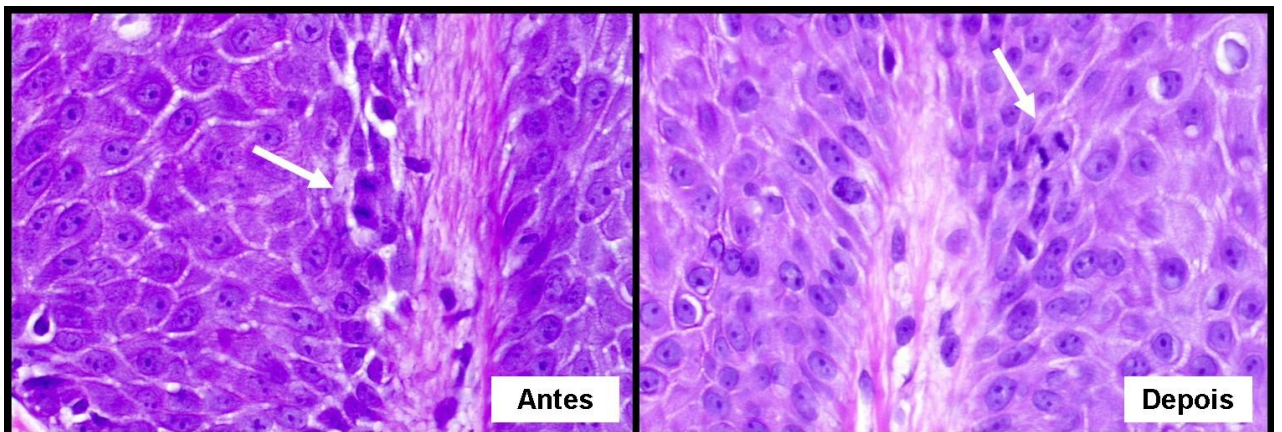
(1) Se antes ou depois do tratamento com acitretin.

FIGURA 3 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 5. QUERATINÓCITOS NECRÓTICOS/APOPTÓTICOS (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES



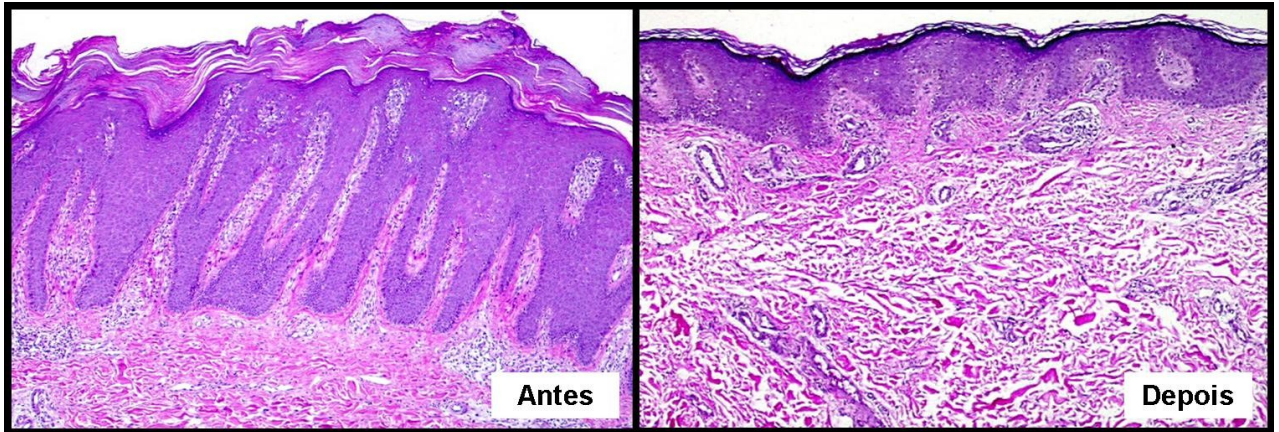
NOTA: H.E., objetiva x40.

FIGURA 4 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 14. FIGURAS DE MITOSE NA EPIDERMIS (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES



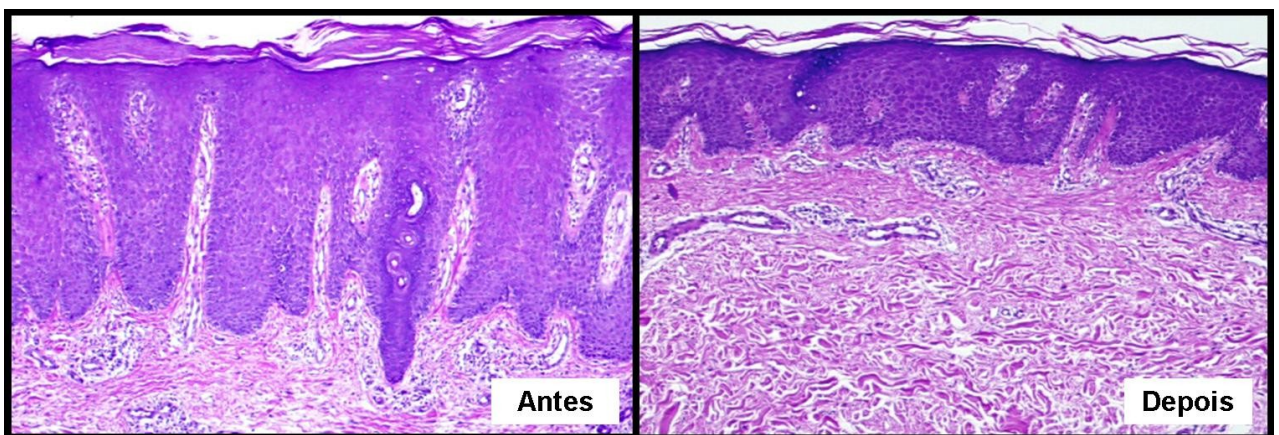
NOTA: H.E., objetiva x40.

FIGURA 5 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 10. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA EPIDERME ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO SIGNIFICATIVA DA ESPESSURA APÓS O USO DO MEDICAMENTO



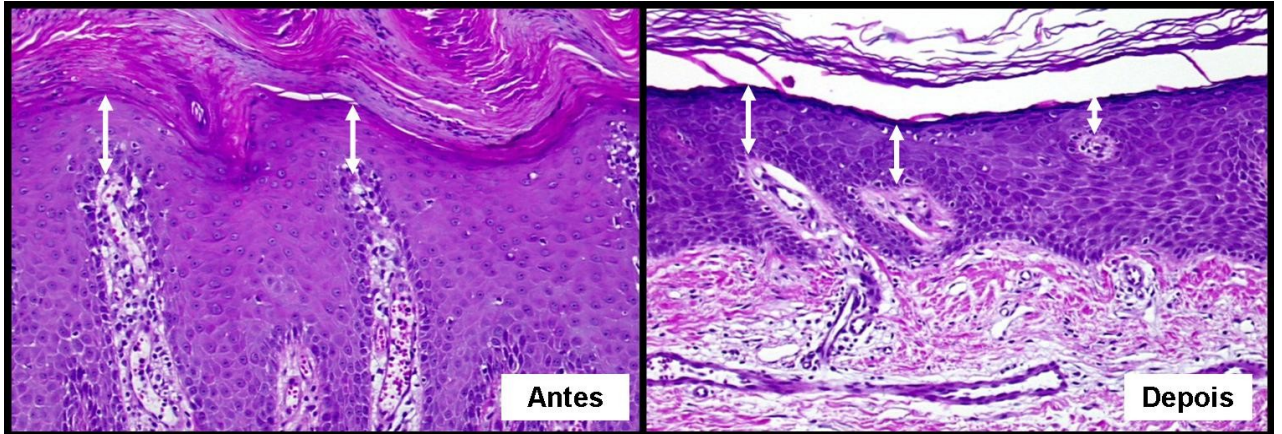
NOTA: H.E., objetiva x4.

FIGURA 6 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 11. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA EPIDERME ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO SIGNIFICATIVA DA ESPESSURA APÓS O USO DO MEDICAMENTO



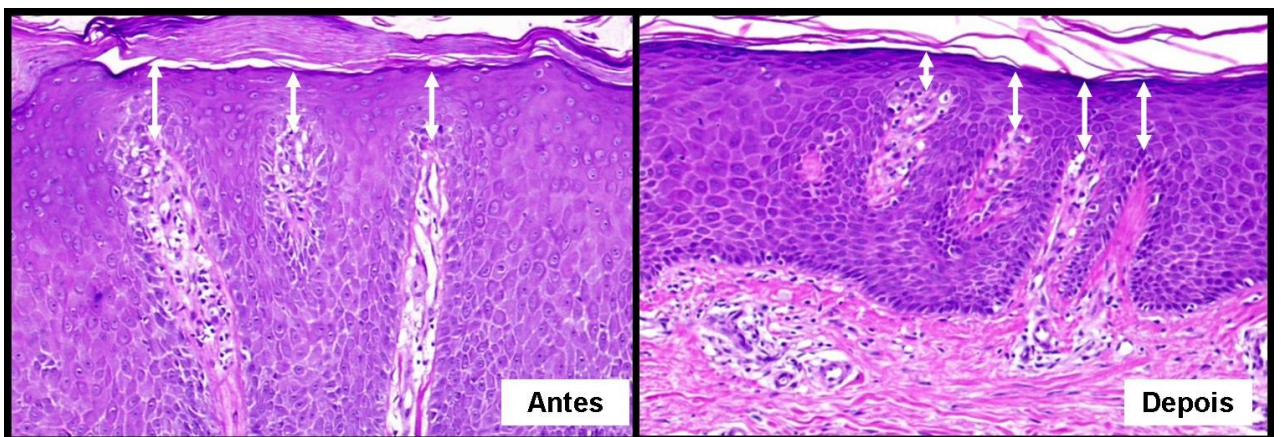
NOTA: H.E., objetiva x4.

FIGURA 7 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DOS PLATÔS SUPRAPAPILARES (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. . NÃO HOUE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA NESSA MEDIDA APÓS O USO DO MEDICAMENTO



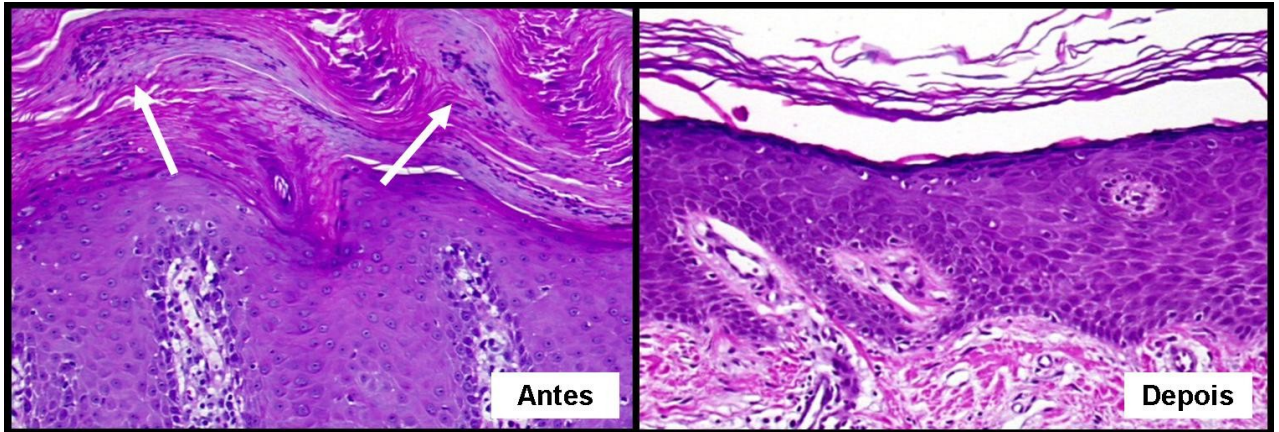
NOTA: H.E., objetiva x4.

FIGURA 8 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 11. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DOS PLATÔS SUPRAPAPILARES (SETAS) ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. NÃO HOUE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA NESSA MEDIDA APÓS O USO DO MEDICAMENTO



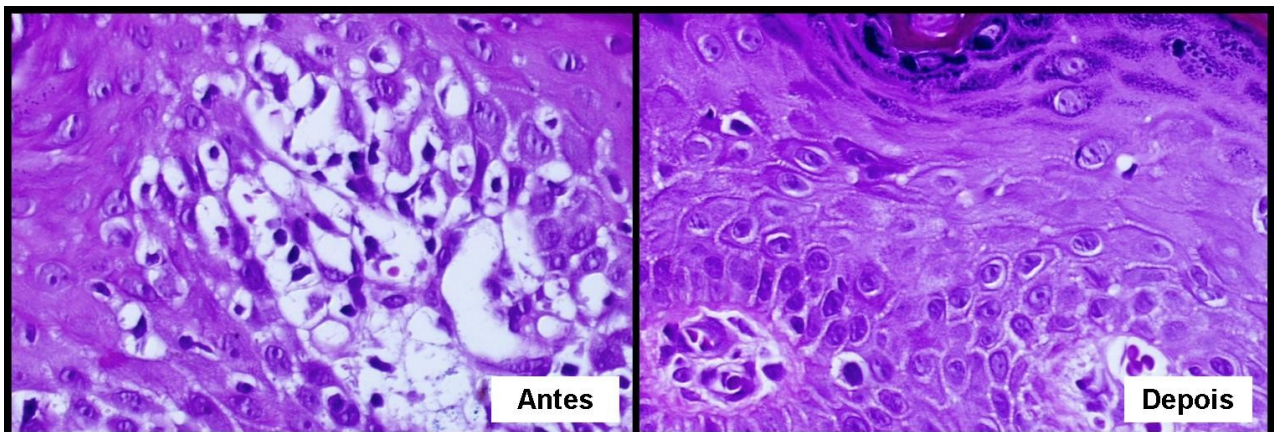
NOTA: H.E., objetiva x4.

FIGURA 9 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. PRESENÇA DE NEUTRÓFILOS ANTES (SETAS) E AUSÊNCIA DOS MESMOS DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES.



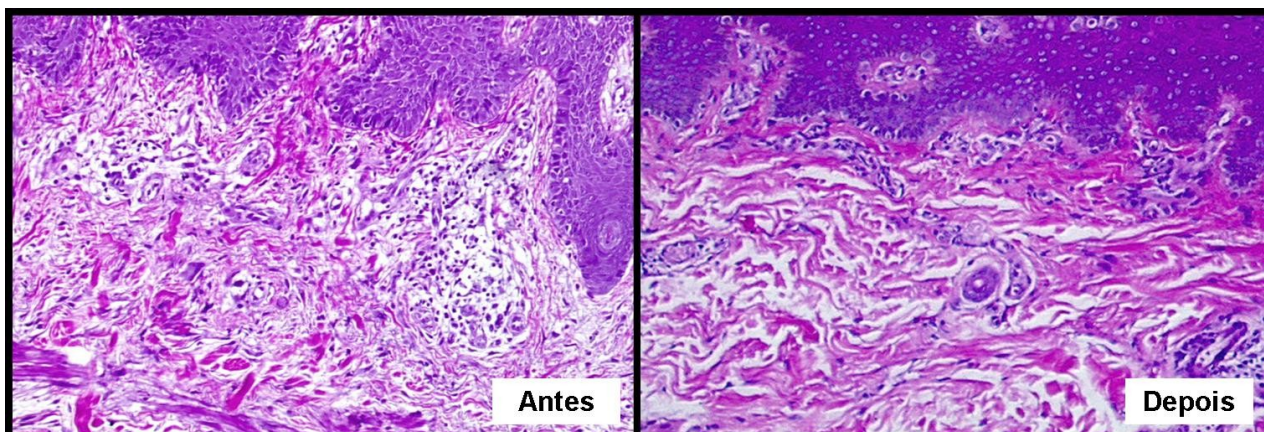
NOTA: H.E., objetiva x4.

FIGURA 10 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 3. COMPARAÇÃO DO GRAU DE INFLAMAÇÃO NA EPIDERMIS ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOVE DIMINUIÇÃO DA INFLAMAÇÃO APÓS O USO DO MEDICAMENTO



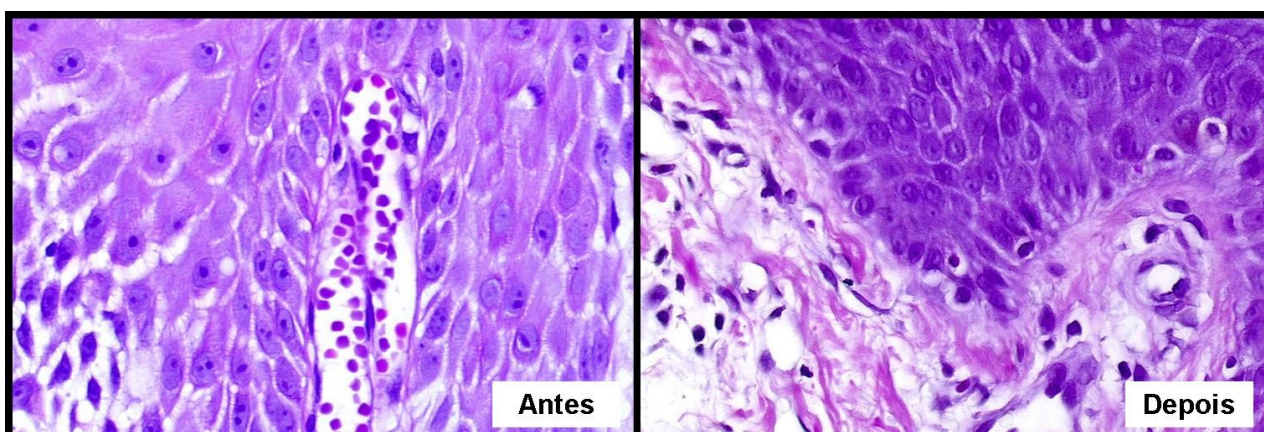
NOTA: H.E., objetiva x40.

FIGURA 11 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 12. COMPARAÇÃO DO GRAU DE INFLAMAÇÃO NA DERME ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. NÃO HOUVE DIFERENÇA SIGNIFICATIVA DA INFLAMAÇÃO APÓS O USO DO MEDICAMENTO



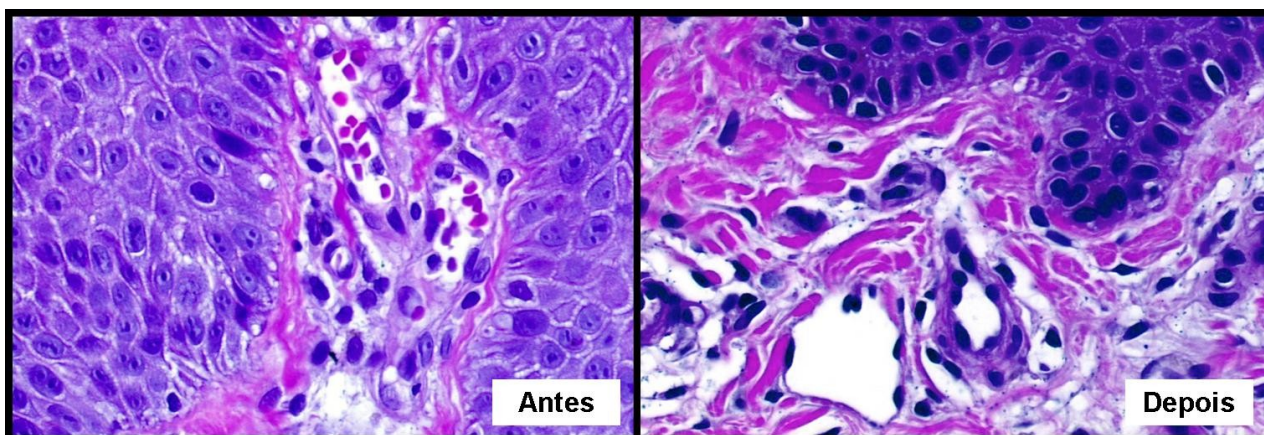
NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 12 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. PRESENÇA DE VASOS SANGÜÍNEOS DILATADOS NA DERME PAPILAR E AUSÊNCIA DOS MESMOS DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES



NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 13 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 17. PRESENÇA DE VASOS SANGÜÍNEOS DILATADOS (SETAS) NA DERME PAPILAR E AUSÊNCIA DOS MESMOS DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES



NOTA: H.E., objetiva x10.

#### 4.3 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

O número de queratinócitos positivos para a citoqueratina 10 (CK10) na epiderme aumentou de maneira estatisticamente significativa após o uso de acitretin ( $p = 0,0031$ ) (figuras 14 e 15). O número de células na camada basal da epiderme foi estatisticamente maior antes do tratamento com acitretin ( $p = 0,0022$ ) (figuras 16 e 17).

A intensidade da reação para citoqueratina 16 (CK16) foi estatisticamente maior antes do tratamento com a droga em estudo ( $p = 0,0156$ ). O número de queratinócitos positivos para CK16 na epiderme diminuiu de maneira estatisticamente significativa após o uso de acitretin ( $p = 0,0029$ ) (figuras 18 e 19).

Todos os casos estudados apresentaram reação negativa para citoqueratina 19 (CK19), tanto antes como depois do tratamento com a droga em estudo (figura 20).

A média de células positivas para o Ki67, por campo de grande aumento, foi significativamente maior antes do tratamento com acitretin ( $p = 0,0038$ ) (figuras 21 e 22).

A média de células positivas para o CD1a, por campo de grande aumento, foi significativamente maior antes do tratamento em estudo ( $p = 0,0077$ ) (figuras 23 e 24).

Na tabela 3 são apresentados os resultados de média, mediana, valor mínimo, valor máximo, desvio padrão e os valores de  $p$  dos testes estatísticos para cada um dos momentos de avaliação, no total de 17 pacientes para as seguintes variáveis: número de queratinócitos positivos para CK10, número de células na camada basal da epiderme, número de queratinócitos positivos para CK16, e a média de células positivas por campo de grande aumento para Ki67 e CD1a.

TABELA 3 – COMPARAÇÃO DOS VALORES DE MÉDIA, MEDIANA, VALOR MÍNIMO, VALOR MÁXIMO, DESVIO PADRÃO E P DAS VARIÁVEIS PORCENTAGEM DE CÉLULAS POSITIVAS PARA CK10 E CK16, NÚMERO MÉDIO DE CAMADAS DE CÉLULAS NEGATIVAS PARA CK10 NA CAMADA BASAL, E MÉDIA DE CÉLULAS POSITIVAS POR CAMPO DE GRANDE AUMENTO PARA KI67 E CD1A ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES

Variável	Status <sup>(4)</sup>	Média	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo	Desvio padrão	Valor de p
Positividade CK10 <sup>(1)</sup>	Antes	55,33	50,00	40,00	80,00	12,46	0,0031
	Depois	75,67	80,00	40,00	87,50	14,53	
Camada basal <sup>(2)</sup>	Antes	2,30	2,50	1,50	3,00	0,49	0,0022
	Depois	1,40	1,50	1,00	2,00	0,39	
Positividade CK16 <sup>(1)</sup>	Antes	51,00	50,00	5,00	70,00	18,54	0,0029
	Depois	20,00	20,00	0,00	50,00	20,35	
Positividade Ki67 <sup>(3)</sup>	Antes	171,56	171,00	42,00	272,67	65,35	0,0038
	Depois	80,52	64,00	12,33	195,33	57,35	
Positividade CD1a <sup>(3)</sup>	Antes	8,86	9,33	4,33	14,00	2,72	0,0077
	Depois	6,23	6,33	3,00	10,00	1,92	

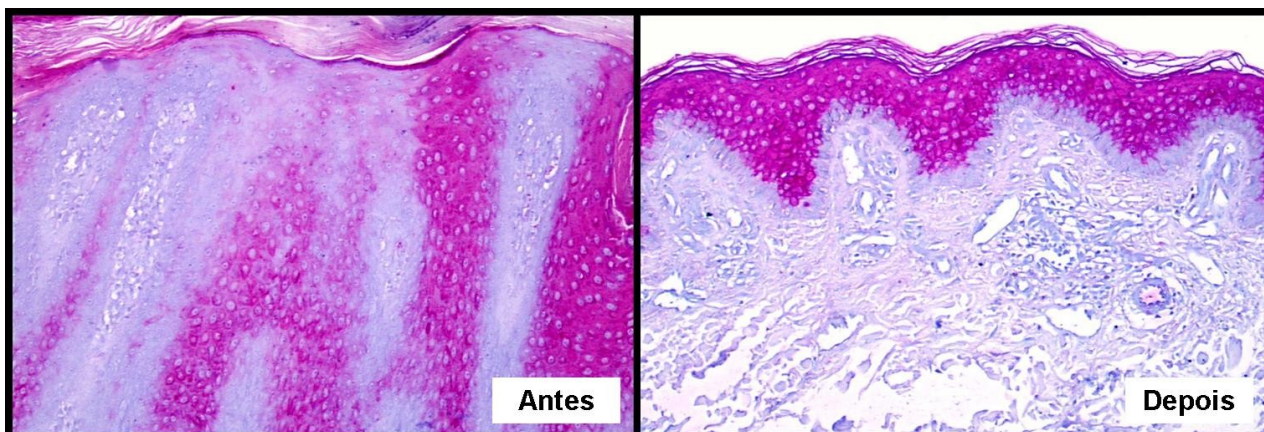
(1) Porcentagem de células positivas na epiderme.

(2) Número médio de células negativas para o anticorpo CK10.

(3) Número médio de células positivas por CGA.

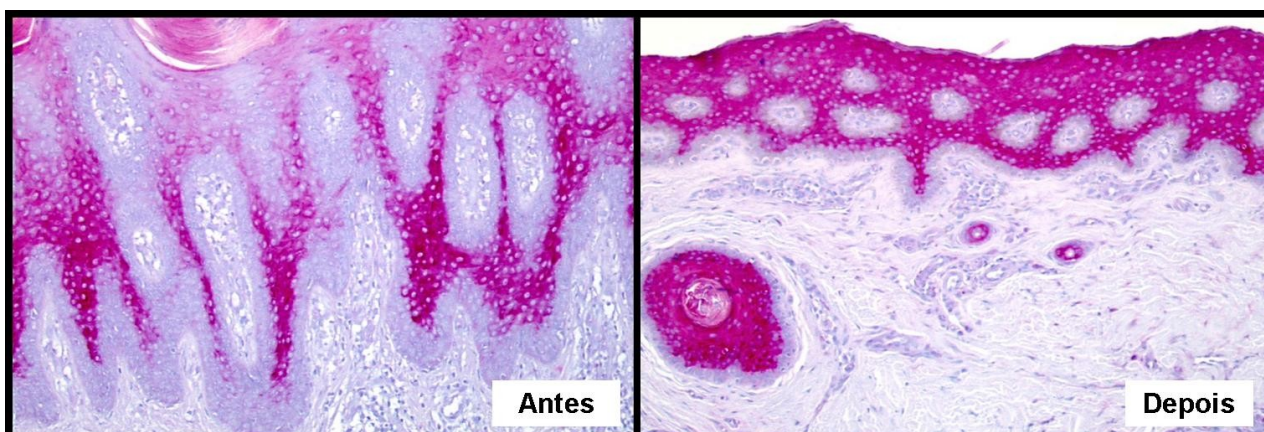
(4) Se antes ou depois do tratamento com acitretin.

FIGURA 14 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 10. COMPARAÇÃO DA IMUNOREATIVIDADE DA EPIDERMIS PARA O ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUVE AUMENTO NA PORCENTAGEM DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO



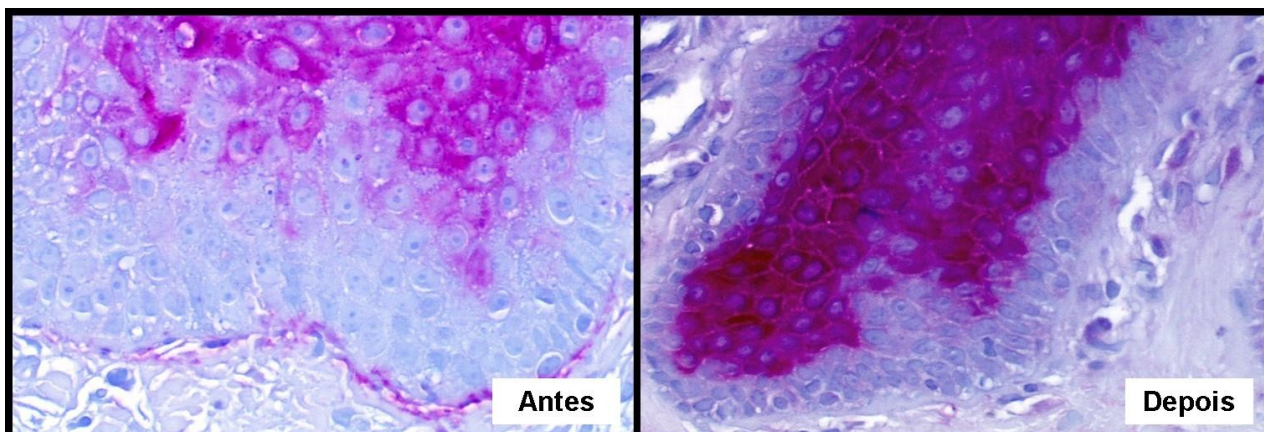
NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 15 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 12. COMPARAÇÃO DA IMUNOREATIVIDADE DA EPIDERMIS PARA O ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUVE AUMENTO NA PORCENTAGEM DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO



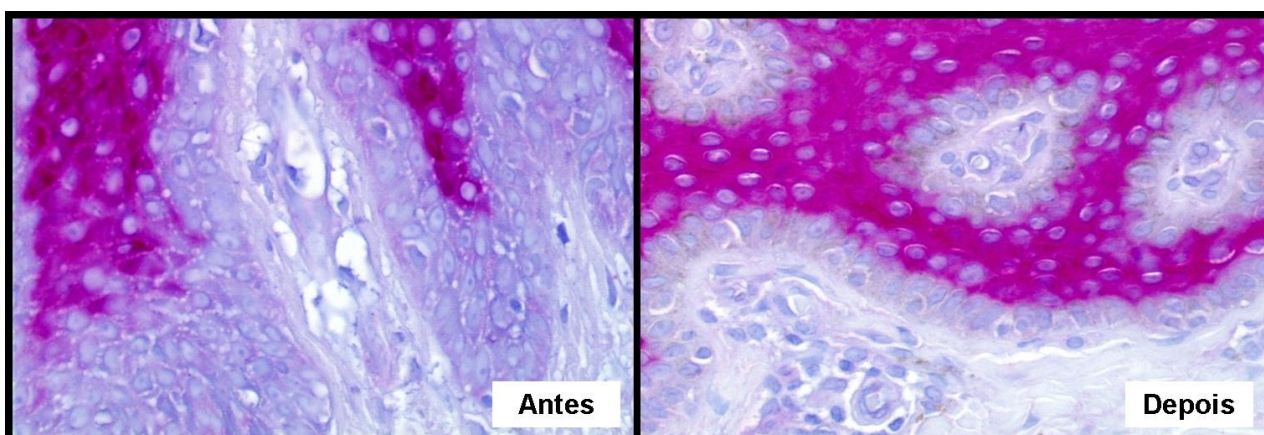
NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 16 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 11. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA CAMADA BASAL DA EPIDERME PELA NEGATIVIDADE DE REAÇÃO AO ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. A CAMADA BASAL ERA MAIS ESPESSA ANTES DO USO DO MEDICAMENTO



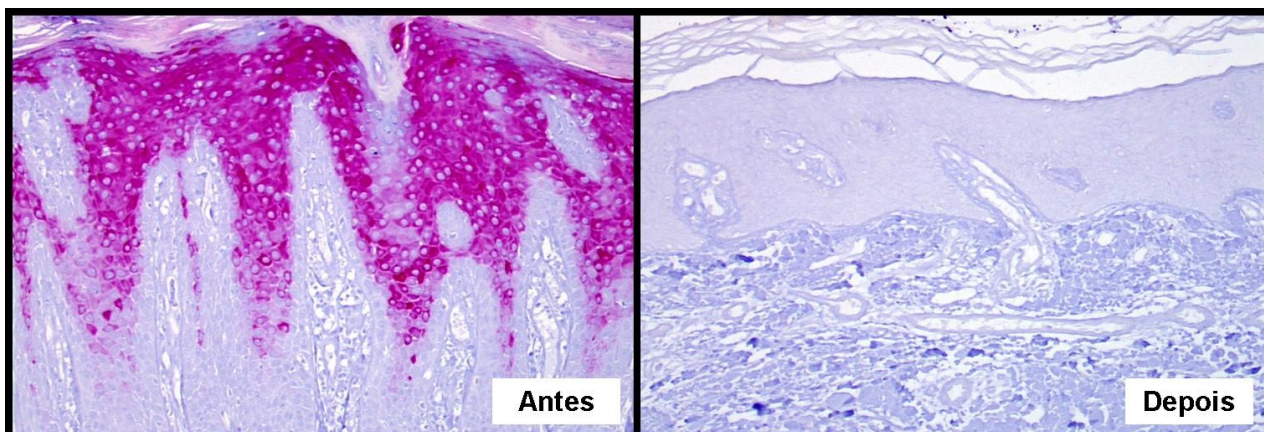
NOTA: H.E., objetiva x40.

FIGURA 17 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 12. COMPARAÇÃO DA ESPESSURA DA CAMADA BASAL DA EPIDERME PELA NEGATIVIDADE DE REAÇÃO AO ANTICORPO CK10 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. A CAMADA BASAL ERA MAIS ESPESSA ANTES DO USO DO MEDICAMENTO



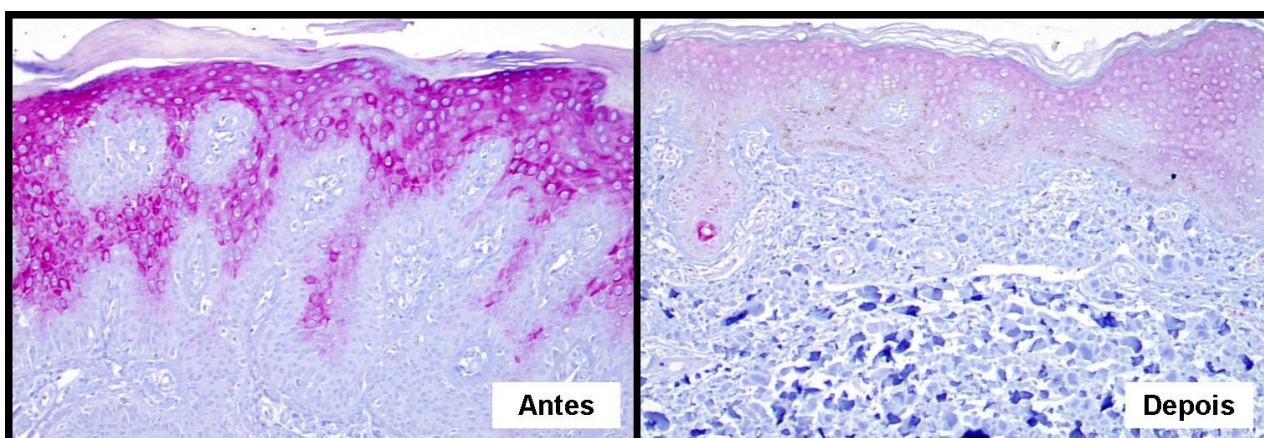
NOTA: H.E., objetiva x40.

FIGURA 18 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE, INTENSIDADE DA REAÇÃO E NÚMERO DE QUERATINÓCITOS POSITIVOS PARA O ANTICORPO CK16 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. O NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS ERA MAIOR ANTES DO USO DO MEDICAMENTO



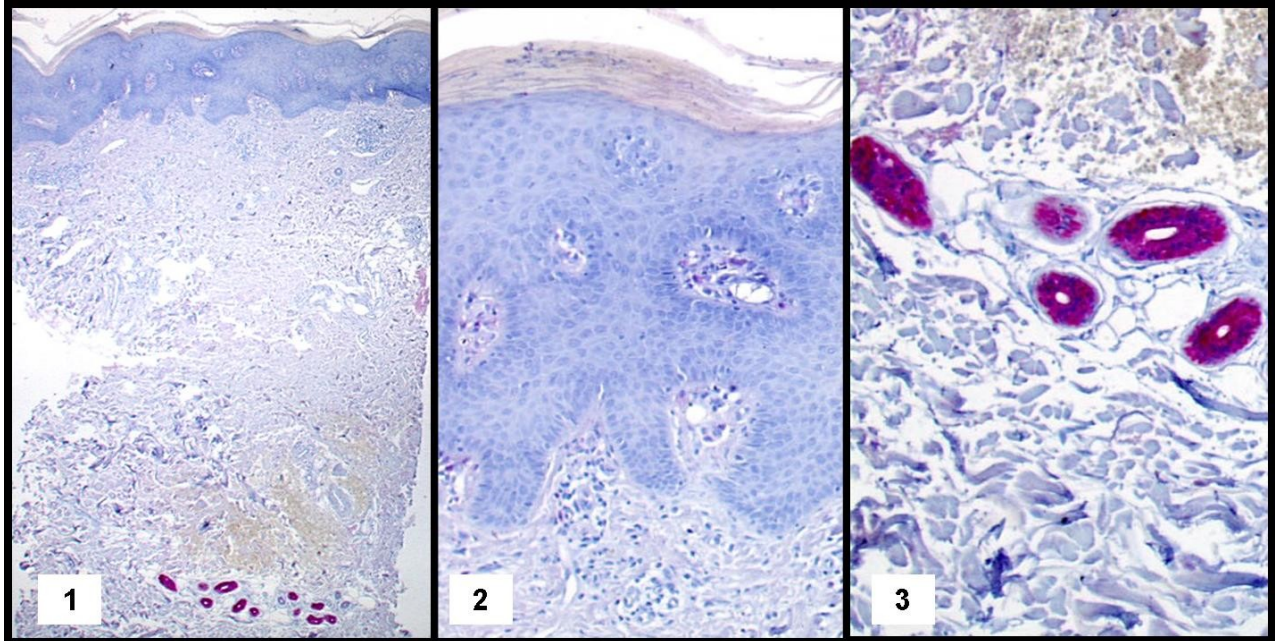
NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 19 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 2. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE, INTENSIDADE DA REAÇÃO E NÚMERO DE QUERATINÓCITOS POSITIVOS PARA O ANTICORPO CK16 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. O NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS ERA MAIOR ANTES DO USO DO MEDICAMENTO



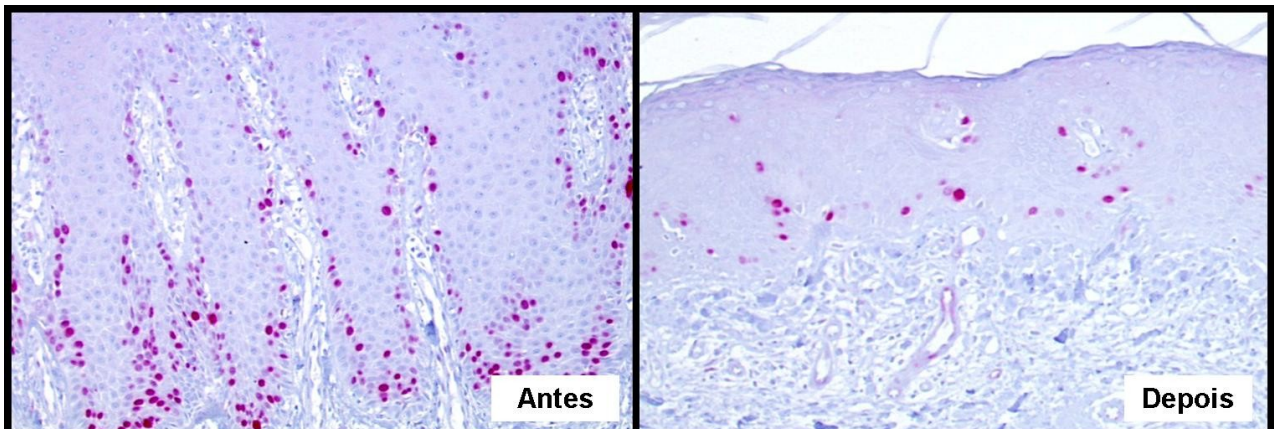
NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 20 – FOTOMICROGRAFIAS DA BIÓPSIA DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 15 ANTES DO TRATAMENTO COM ACITRETIN. MODELO DO PADRÃO DA REATIVIDADE DO ANTICORPO CK19. REAÇÃO NEGATIVA NA EPIDERMIS E POSITIVA NA GLÂNDULA ÉCRINA (CONTROLE INTERNO)



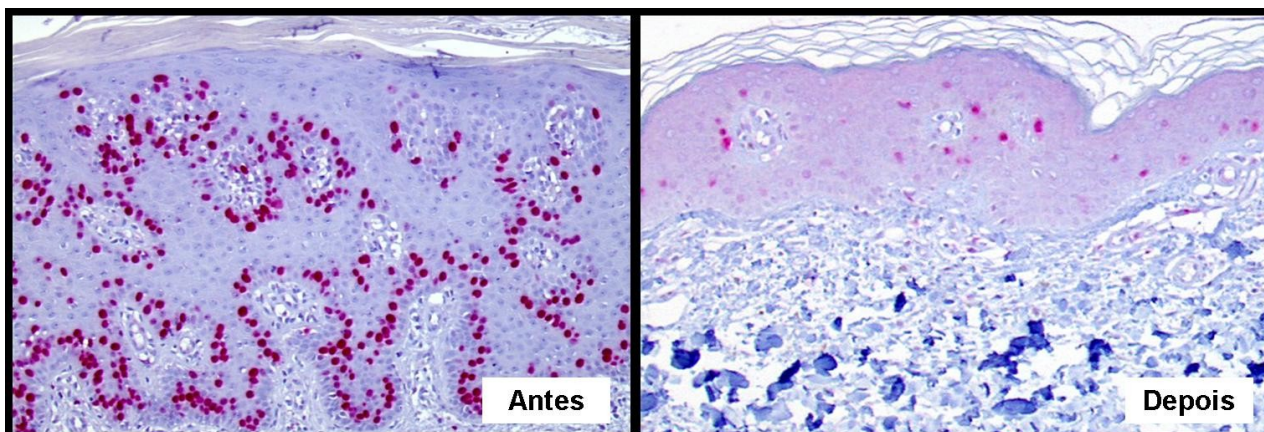
NOTA: 1) H.E., objetiva x2; 2) H.E., objetiva x10; 3) H.E., objetiva x10.

FIGURA 21 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 1. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE PARA O ANTICORPO KI67 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUVE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO



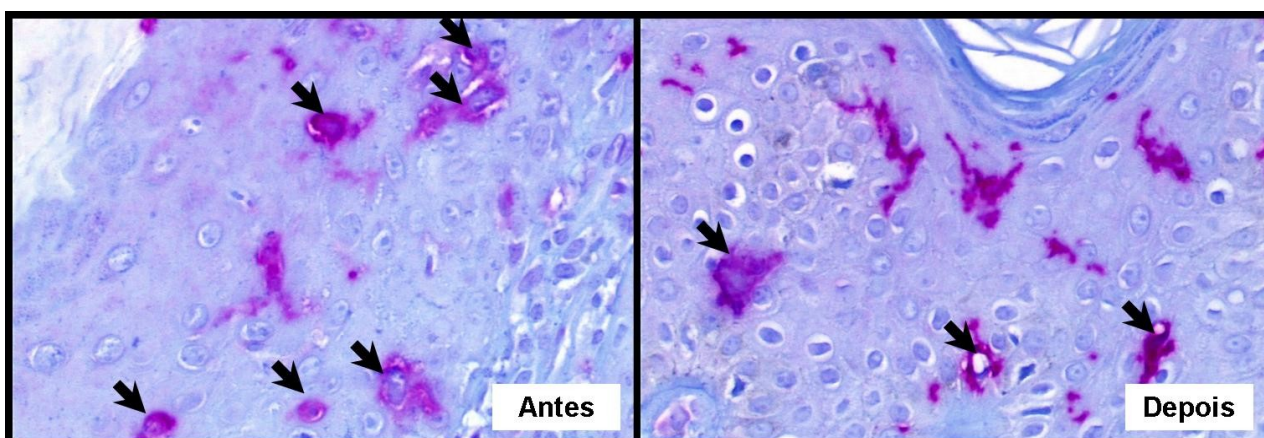
NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 22 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 7. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE PARA O ANTICORPO KI67 ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO



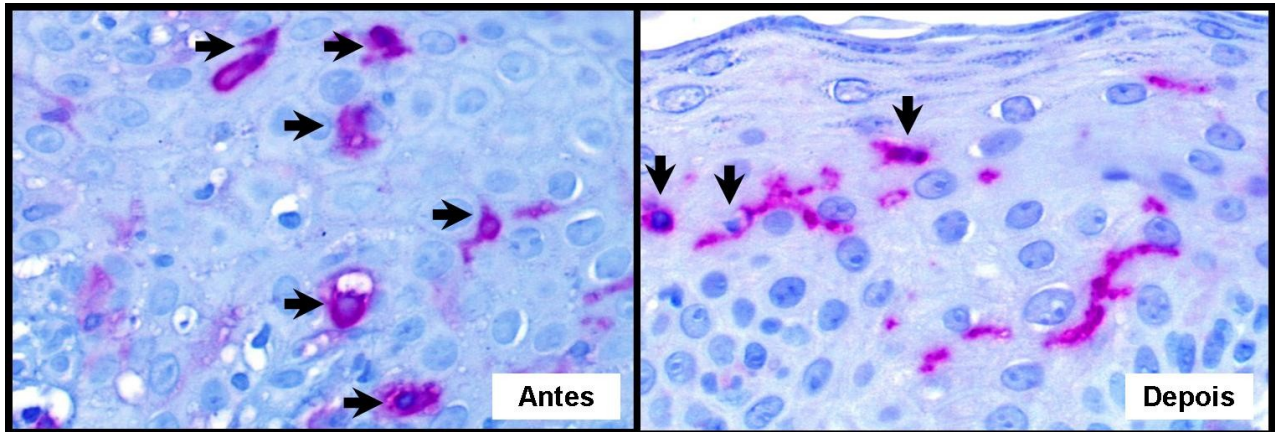
NOTA: H.E., objetiva x10.

FIGURA 23 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 10. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE DAS CÉLULAS DE LANGERHANS (SETAS) PARA O ANTICORPO CD1A ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO



NOTA: H.E., objetiva x40.

FIGURA 24 – FOTOMICROGRAFIAS DAS AMOSTRAS DE PELE DO PACIENTE NÚMERO 15. COMPARAÇÃO DA POSITIVIDADE DAS CÉLULAS DE LANGERHANS (SETAS) PARA O ANTICORPO CD1A ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO COM ACITRETIN POR QUATRO MESES. HOUE DIMINUIÇÃO NO NÚMERO DE CÉLULAS POSITIVAS APÓS O USO DO MEDICAMENTO



NOTA: H.E., objetiva x40.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 TRATAMENTO COM ACITRETIN

A escolha do acitretin para o tratamento dos pacientes com psoríase envolvidos na pesquisa teve como motivações: (1) o acitretin é uma droga consagrada para o tratamento desta doença (MURRAY et al., 1991; CHRISTOPHERS; MROWIETZ, 1999; GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; CAMP, 1998; KUIJPERS et al., 1998; LING, 1999; SAURAT, 1999; SAMPAIO; RIVITTI, 2001; GEIGER, 2003; SOBELL; HALLAS, 2003; CARLIN; CALLIS; KRUEGER, 2003; LEBWOHL, 2003; VAN de KERKHOF, 2003; MARTINS; ARRUDA, 2004; LEE; KOO, 2005; SCHON; BOEHNCKE, 2005; PSORIASIS GUIDELINES, 2006); (2) os dermatologistas do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas da UFPR tem experiência com o uso da droga para este fim; (3) no Brasil, o acitretin (Neotigason®) é uma droga cara, mas incluída na lista de medicamentos de alto custo do Ministério da Saúde que pode ser disponibilizada a pacientes matriculados na Secretaria de Saúde Estadual e atendidos no Hospital de Clínicas da UFPR; (4) estudos que comparam alterações histológicas e reações imuno-histoquímicas em biópsias de pele com psoríase antes e depois do tratamento com acitretin são escassos (KUIJPERS et al., 1998); e (5) o exato mecanismo de ação do acitretin que provoca a melhora clínica da psoríase não é completamente compreendido (GOLLNICK; DÜMMLER, 1997; SAURAT, 1999; GEIGER, 2003; SOBELL; HALLAS, 2003; LEE; KOO, 2005). O intervalo de quatro meses para a realização da biópsia foi estipulado porque se mostrou que o pico de melhora clínica com o uso do acitretin é entre três e seis meses (MURRAY et al., 1991; KUIJPERS et al., 1998; LING, 1999; GEIGER, 2003; LEE; KOO, 2005).

Apesar deste trabalho não ter enfoque clínico e a discussão detalhada dos aspectos da resposta terapêutica ao acitretin ir além do seu objetivo, o índice de melhora clínica avaliada pelo PASI foi calculado com o intuito de se ter uma idéia da melhora da doença em geral, com conseqüente reflexo nas alterações histológicas e imuno-histoquímicas observadas nas biópsias de pele (JACOBSON; KIMBALL,

2004). No presente estudo, após os quatro meses de tratamento, a porcentagem de melhora do PASI foi de 59,4%, em média. Cinco pacientes (29,4%) obtiveram 75% ou mais de melhora, e oito (47%) apresentaram pelo menos 50% de melhora naquele índice. Há dois estudos em que esse índice pôde ser calculado para comparação. No trabalho de KUIJPERS et al. (1998), dez pacientes tratados com acitretin por três meses apresentaram 35% de melhora no PASI; este índice subiu para 63% de melhora após seis meses de uso da medicação (sete pacientes). Já MURRAY et al. (1991) relataram 61% de melhora na estimativa do PASI em 49 pacientes que usaram acitretin por três meses. Ou seja, a melhora clínica obtida com o acitretin no presente estudo é semelhante aos índices mostrados na literatura.

Até onde se sabe, este é o maior estudo já realizado em que se compara alterações histológicas e expressão imuno-histoquímica de CK10, CK16, CK19, Ki67 e CD1a em biópsias de pele de pacientes com psoríase antes e depois do tratamento com acitretin. Apenas três trabalhos semelhantes utilizando retinóides foram encontrados na literatura médica. GOTTLIEB et al. (1996) estudaram biópsias de pele de dez pacientes antes e depois do tratamento com etretinato (retinóide mono-aromático que origina o acitretin), e compararam alterações histológicas, expressão de marcadores imuno-histoquímicos (filagrina, CK16,  $\alpha$ 3-integrina, Ki67, CD3, CD8, CD25, HLA-DR), distribuição de lipídeo neutro na epiderme e achados de microscopia eletrônica. SMIT et al. (2004a) avaliaram os efeitos do bexaroteno (retinóide seletivo para o receptor RXR) em biópsias de pele de 29 pacientes, confrontando aspectos histológicos e imuno-histoquímicos (p53, Ki67, transglutaminase, CK10, CK13, CK16, CK19, CD4, CD8) antes e depois do tratamento com aquela droga por três meses. O artigo de KUIJPERS et al. (1998) é o único que pesquisa o acitretin do ponto de vista imuno-histoquímico. Esses autores estudaram biópsias de pele de dez pacientes antes e depois de um tratamento de três meses com acitretin ou liarozole oral e analisaram a expressão de Ki67, transglutaminase, CK16, CK4, SKALP, E-FABP e elastase; estudo histológico convencional não foi realizado.

## 5.2 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

### 5.2.1 Considerações Gerais

As seguintes características histológicas classicamente descritas nos livros textos de dermatopatologia estavam presentes em todas as biópsias de pele antes do tratamento com acitretin, confirmando o diagnóstico de psoríase: acantose psoriasiforme, aumento da camada córnea com presença de paraceratose, neutrófilos em meio às zonas de paraceratose (vista em 15 casos), espongiase multifocal, hipogranulose, exocitose de neutrófilos e linfócitos, papilomatose da derme, edema na derme papilar, vasos dilatados, tortuosos e encostados na membrana basal da epiderme e infiltrado inflamatório perivascular na derme superficial (WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005).

### 5.2.2 Queratinócitos Necróticos/Apoptóticos

Segundo PAUS et al. (1993), o termo apoptose refere-se à morte celular programada e se caracteriza por condensação da cromatina e citosol, e encolhimento significativo da célula, sem evidência de reação inflamatória. Aqueles autores acreditam que a apoptose é diferente da necrose, onde a morte celular é induzida e geralmente suscita resposta inflamatória. FARBER e ACKERMAN (2002) consideram a apoptose como sinônimo de necrose, e afirmam que não é possível determinar a causa da morte celular se avaliando as características morfológicas da célula morta. Neste manuscrito adotou-se apoptose e necrose como sinônimos, já que o mecanismo de morte celular na psoríase não é avaliado.

Até onde se sabe, o presente é o único trabalho que avalia queratinócitos necróticos/apoptóticos em biópsias de pele de pacientes com psoríase e essas células foram observadas em sete casos (41%). Esse achado é contrário ao que diz WEEDON (2002), ACKERMAN et al., (2005), McKEE; CALONJE; GRANTER (2005), e MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO (2005) que não mencionam a presença de queratinócitos necróticos/apoptóticos na descrição histológica da psoríase, e contradiz o estudo de PAUS et al. (1993) que não incluiu a psoríase na lista de

doenças que caracteristicamente cursam com células desse tipo. O presente estudo indica que a psoríase é uma doença que pode cursar com queratinócitos necróticos/apoptóticos nas biópsias de pele. Esse achado é corroborado por BIANCHI et al. (1994) e HUSSEIN; AL-BADAIWY; GUIRGUIS (2004) que encontraram um perfil genético “pró-apoptótico” na psoríase.

BIANCHI et al. (1994) estudaram a expressão de bcl-2 e transglutaminase tecidual em biópsias de pele de cinco pacientes com psoríase – o bloqueio da proteína bcl-2 inicia o processo da apoptose e libera a expressão do gene que codifica a enzima transglutaminase. Os autores acharam expressão diminuída de bcl-2 e aumentada de transglutaminase nos casos estudados. Além disso, relataram “a análise morfológica da pele psoriásica revelou vários queratinócitos com condensação da cromatina e citoplasma típicos de células apoptóticas”, mas aqueles autores não informaram o número de células deste tipo por caso, nem o método de quantificação. Resultados semelhantes foram vistos por HUSSEIN; AL-BADAIWY; GUIRGUIS (2004): baixa expressão de bcl-2 e alta expressão de p53, uma proteína indutora da morte celular. Por outro lado, TAKAHASHI et al. (2002) encontraram uma expressão aberrante de moléculas relacionadas à apoptose representando uma supressão deste processo na psoríase.

Apesar do número de casos com queratinócitos necróticos/apoptóticos ter sido reduzido para cinco (29%) depois do uso do acitretin, a variação não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Os únicos trabalhos que comparam as alterações histológicas antes e depois do tratamento com retinóides não pesquisaram a presença daquelas células (GOTTLIEB et al., 1996; SMIT et al., 2004a). A presença de queratinócitos necróticos/apoptóticos após os quatro meses de tratamento com acitretin não tem significado determinado, não sendo possível determinar se é sinal de doença residual ou se é efeito da própria droga.

### 5.2.3 Queratinócitos em Mitose

Apenas seis dos 17 casos (35%) apresentavam figuras de mitose antes do uso de acitretin, com menos de uma figura de mitose por corte histológico, em média, e esta variável não exibiu mudança estatisticamente significativa após o tratamento ( $p > 0,05$ ), quando quatro casos mostraram esta característica (23%).

Este resultado é diferente do exposto por ACKERMAN et al. (2005) e MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO (2005), onde o achado de figuras de mitose em biópsias de pele de psoríase, segundo eles, é comum. Do mesmo modo, no presente estudo, a frequência de figuras de mitose foi menor do que o encontrado por ELLIS et al., 1986; SOINI et al., 1994; ASADULLAH et al., 1999 e ASADULLAH et al., 2001. Esses estudos usaram variados sistemas de contagem de figuras de mitose na epiderme e nenhum dos quatro estudos menciona qual foi o critério histológico utilizado para determinação do que foi considerado uma figura de mitose. ELLIS et al. (1986) observaram uma média de 2,1 figuras de mitose por campo de grande aumento em biópsias de pele de 21 pacientes com psoríase, e este número baixou para 0,6 após o tratamento com ciclosporina por sete semanas ( $p < 0,05$ ). SOINI et al. (1994) calcularam o número de figuras de mitoses em 20 casos de psoríase e encontraram 10% dos queratinócitos em mitose. ASADULLAH et al. (1999) e ASADULLAH et al. (2001) compararam o número de queratinócitos em mitose em biópsias de pele de pacientes com psoríase antes e depois de um tratamento com IL-10 por 71 dias. Aqueles autores encontraram uma média de 24 figuras de mitose por corte histológico antes e oito depois do tratamento ( $p < 0,05$ ).

No presente estudo, a contagem foi feita por média do número de figuras de mitose encontrado por corte histológico, semelhante ao que fez os dois últimos estudos comentados. O valor encontrado foi muito menor: menos de uma mitose por corte histológico no presente trabalho contra 24 nos trabalhos de ASADULLAH et al. (1999) e ASADULLAH et al. (2001). Talvez o baixo número de queratinócitos em mitose encontrado na presente pesquisa seja devido ao rigor de se considerar as figuras de mitose apenas aquelas que estivessem em metáfase ou anáfase. De qualquer maneira, a contagem de figuras de mitose não reflete o grau de proliferação epidérmica inerente à psoríase, já que o anticorpo Ki67 mostrou um número muito maior de queratinócitos em processo de divisão celular, como será discutido posteriormente. Além disso, esse parâmetro não pode ser utilizado como critério de melhora da doença pois a variação não foi estatisticamente significativa após o tratamento estipulado.

#### 5.2.4 Espessura da Epiderme e do Platô Suprapapilar

Nas biópsias de pele das placas psoriásicas do presente estudo, a mediana das médias das espessuras da epiderme calculadas para cada caso foi de 0,49 mm. O método de medição se baseou nos trabalhos de ELIAS (1993), ELLIS et al. (1986), ELIAS; NANDA; BARR (2003) e ALPER et al. (2004), onde as medidas foram calculadas desde a base da camada basal até o topo da camada granulosa ou início da área de paraceratose, calculando-se a média em mais de uma região. ALPER et al. (2004) relataram valores médios de 0,36 mm (pele do tronco), 0,5 mm (pele do cotovelo), 0,53 mm (pele da perna) e 0,61 mm (pele do joelho). Já ELLIS et al. (1986) e ELIAS; NANDA; BARR (2003) observaram um valor médio de 0,34 mm e 0,52 mm, respectivamente, e não detalharam as localizações das biópsias. Apesar da localização da biópsia influenciar na medida do valor da espessura da epiderme, nota-se que os resultados obtidos no presente estudo se assemelham aos achados na literatura.

No presente estudo, a epiderme diminuiu significativamente de espessura após o tratamento com acitretin ( $p < 0,01$ ). A variação da espessura da epiderme em biópsias de pele de pacientes com psoríase antes e após um determinado tratamento é investigada em diversos trabalhos (ELLIS et al., 1986; ELIAS; NANDA; BARR, 1991; ELIAS et al., 1993; VALLAT et al., 1994; GOTTLIEB et al., 1995; KRUEGER et al., 1995; ASADULLAH et al., 1999; ABRAMS et al., 2000; ASADULLAH et al., 2001; GOTTLIEB et al., 2002). Apenas ELIAS et al. (1993) não observaram diminuição significativa deste parâmetro após o tratamento com propiltiuracil por oito semanas. A variação na espessura da epiderme parece ser um bom parâmetro histológico para correlação com a melhora clínica da psoríase.

Não se observou variação da espessura do platô suprapapilar após o tratamento com acitretin ( $p > 0,05$ ). Este fato é contrário ao que é descrito nos principais livros textos de dermatopatologia, onde o afinamento do platô suprapapilar é dado como característica histológica importante da psoríase (WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005). O estudo de ALPER et al. (2004) corrobora os presentes resultados. Os pesquisadores analisaram histologicamente 64 biópsias de pele de pacientes com psoríase e compararam com 57 biópsias de pacientes saudáveis. Aqueles autores não encontraram diferença significativa entre a espessura do platô suprapapilar dos dois grupos ( $p > 0,05$ ). Portanto, acredita-se que existe

uma falsa impressão de afinamento dos platôs suprapapilares na psoríase, já que se encontrou uma relação espessura/platô 2,6 vezes maior nas biópsias de pele realizadas antes do tratamento com acitretin, e houve diminuição estatisticamente significativa deste valor após o tratamento ( $p < 0,01$ ).

#### 5.2.5 Neutrófilos na Camada Córnea

O presente trabalho mostrou presença de neutrófilos na camada córnea de 15 casos. Este achado é concordante com a literatura científica, pois a presença dessas células na camada córnea é citada como altamente característica mas não exclusiva da psoríase, podendo ser encontrada em casos de dermatofitose, impetigo e pitiríase liquenóide aguda (MAGRO; CROWSON, 1997; WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005).

Houve diminuição estatisticamente significativa de casos com neutrófilos na camada córnea após o uso do acitretin ( $p < 0,01$ ). Até onde se sabe, os estudos de GOTTLIEB et al. (1995), ASADULLAH et al. (1999) e ASADULLAH et al. (2001) são os únicos que mencionam a variação na presença de neutrófilos em biópsias de pele de pacientes com psoríase antes e após um tratamento. Aqueles trabalhos mostraram resultados semelhantes ao do presente estudo, apesar das drogas utilizadas não serem retinóides. O desaparecimento dos neutrófilos da camada córnea nas biópsias de pele parece ser um bom parâmetro para avaliação da eficácia do tratamento anti-psoriásico, no entanto, não é possível especular se este resultado é uma ação direta da droga ou inerente à melhora da doença.

#### 5.2.6 Inflamação da Epiderme e Derme

No presente estudo, graduou-se a intensidade do componente inflamatório na epiderme ou derme em ausente (0), discreto (1) e moderado (2), usando-se uma estimativa geral na coloração de H.E. Igualmente na coloração de rotina, ELLIS et al. (1986) e ASADULLAH et al. (2001) fizeram uma estimativa do número de linfócitos e neutrófilos na epiderme e ao redor dos vasos sangüíneos da derme superficial, antes e depois de tratamentos com ciclosporina e IL-10, respectivamente. O primeiro contou o número de células inflamatórias por campo de

grande aumento e o segundo, por área em mm<sup>2</sup>. No entanto, a maioria dos estudos da literatura que avaliam a diferença no grau de resposta inflamatória da epiderme e derme, antes e depois de diversos tratamentos para a psoríase, o fazem através da quantificação da expressão de marcadores imuno-histoquímicos para linfócitos, macrófagos, receptores de fatores pró-inflamatórios ou de crescimento, citocinas e moléculas de adesão intercelular, entre outros (GOTTLIEB et al., 1992; VALLAT et al., 1994; GOTTLIEB et al., 1995; KRUEGER et al., 1995; GOTTLIEB et al., 1996; ABRAMS et al., 2000; ASADULLAH et al., 2001; GOTTLIEB et al., 2002; SMIT et al., 2004a; VISSERS et al., 2004; BOVENSCHEN et al., 2005).

Dos trabalhos que pesquisaram a ação de retinóides sobre a resposta inflamatória da psoríase, GOTTLIEB et al. (1996) usaram um sistema de análise de imagem para contar o número de células positivas para CD3, CD8 e CD25 (marcador de linfócito T ativado) em biópsias de pele de dez pacientes com psoríase antes e depois do tratamento com etretinato por dois meses. Aqueles pesquisadores observaram redução do número de linfócitos tanto na epiderme como na derme dos casos tratados. SMIT et al. (2004a) adotaram um sistema de contagem de células inflamatórias numa escala de 0 a 5, onde 0 representava nenhuma célula inflamatória positiva para o anticorpo pesquisado, e 5 equivalia a 76 a 99% de células positivas para o anticorpo. Eles observaram diminuição do infiltrado linfocitário na derme de um modo geral, após três meses de tratamento com bexaroteno em 29 pacientes. Notaram que o número de linfócitos CD4 diminuiu significativamente apenas na derme, e não na epiderme. Já com os linfócitos CD8 foi o contrário: eles diminuiriam significativamente de número apenas na epiderme.

No presente estudo, apenas o grau de inflamação da epiderme diminuiu de maneira estatisticamente significativa após o tratamento com acitretin ( $p = 0,01$ ); a inflamação na derme não apresentou variação importante ( $p > 0,05$ ). VALLAT et al. (1994), GOTTLIEB et al. (1995) e GOTTLIEB et al. (1996) observaram resultados semelhantes. Esses pesquisadores encontraram associação mais significativa da melhora clínica da psoríase com diminuição do infiltrado inflamatório na epiderme que na derme. Segundo GOTTLIEB et al. (1996) o padrão de resposta clínica observada com o uso do etretinato, ou seja, diminuição mais acentuada da espessura da placa e da descamação, e não tanto do eritema, poderia sugerir que o etretinato age mais sobre a proliferação epidérmica do que sobre a inflamação. Os

autores afirmam que o seu trabalho prova o contrário, já que o etretinato causou diminuição tanto na espessura quanto no grau de inflamação da pele, este último parâmetro em níveis comparáveis aos atingidos com o uso de ciclosporina em um estudo prévio (GOTTLIEB et al., 1992).

Portanto, os resultados obtidos na presente pesquisa em conjunto com os achados descritos por GOTTLIEB et al. (1996) e SMIT et al. (2004a) indicam um efeito antiinflamatório dos retinóides. No entanto, não é possível determinar se a redução da inflamação é ação direta dos retinóides ou conseqüência do controle da proliferação epidérmica e conseqüente redução na expressão de moléculas pró-inflamatórias pelos queratinócitos.

#### 5.2.7 Capilares Sangüíneos da Derme Papilar

Na psoríase, os capilares sangüíneos da derme papilar são dilatados, tortuosos e muito próximos à membrana basal da epiderme (MAGRO; CROWSON, 1997; WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005). Esta característica foi encontrada em todas as biópsias de pele do presente estudo antes do tratamento com acitretin.

A diminuição no número de casos com capilares sangüíneos anormais na derme papilar após o tratamento foi estatisticamente significativa ( $p = 0,01$ ), mas 10 casos mantiveram essa característica depois do uso do acitretin (59% dos casos). GOTTLIEB et al. (1995) observaram resultados semelhantes: capilares papilares dilatados e tortuosos foram encontrados antes, mas não depois do tratamento com toxina seletiva para linfócitos. Já ASADULLAH et al. (1999) e ASADULLAH et al. (2001) notaram que todas as características histológicas da psoríase sumiram ou ficaram menos evidentes após o tratamento com IL-10, exceto a anormalidade vascular na derme papilar.

Não se encontraram estudos que avaliaram esta característica em pacientes com psoríase sob efeito de retinóides. Contudo, ousa-se especular que, ou a anormalidade vascular é a última a desaparecer no processo de melhora da psoríase, ou o acitretin tem pouca influência sobre vasos sangüíneos. Como comentado anteriormente, GOTTLIEB et al. (1996) apontaram que o principal padrão de resposta clínica observada com o uso do etretinato é a diminuição da

espessura da placa e da descamação, e não tanto do eritema. Esta experiência com retinóides é compartilhada pelos dermatologistas envolvidos na pesquisa (comunicação pessoal e observação própria) que também notaram que os pacientes que tomaram acitretin apresentavam melhora primeiro da espessura da placa, especialmente na região central.

Além disso, a presença de vasos anormais na derme papilar pode ser um grande auxiliar do dermatopatologista quando a análise microscópica é feita sem ciência de tratamento prévio da psoríase.

### 5.2.8 Eosinófilos e Plasmócitos

No presente estudo, observaram-se dois casos com eosinófilos antes, e cinco depois do tratamento com acitretin. Plasmócitos foram encontrados apenas em dois casos depois do uso do acitretin. Sabe-se que a presença de eosinófilos e plasmócitos em biópsias de pele não é típica da psoríase (MAGRO; CROWSON, 1997; WEEDON, 2002; ACKERMAN et al., 2005; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005; MOBINI; TOUSSAINT; KAMINO, 2005). A presença de plasmócitos em biópsias de psoríase é relatada em pacientes com AIDS (HORN; HERZBERG; HOOD, 1990; McKEE; CALONJE; GRANTER, 2005).

GOTTLIEB et al. (1996) e SMIT et al. (2004a), únicos trabalhos que comparam alterações histológicas em biópsias de pele antes e depois do tratamento da psoríase com retinóides, não citaram eosinófilos e plasmócitos. SCHOPF et al. (1998) pesquisaram a variação da contagem de eosinófilos no sangue de 10 pacientes com psoríase tratados com etretinato, e não encontraram variação significativa deste índice após o tratamento.

A presença de eosinófilos e plasmócitos antes e depois do tratamento estipulado não foi significativamente diferente ( $p > 0,05$ ), mas a observação de maior número de eosinófilos e presença de plasmócitos após o uso de acitretin é um fato interessante, e permite cogitar influência da droga na resposta inflamatória. Recomenda-se mais estudos do tipo “antes e depois” com drogas variadas e enfoque nestas células para avaliar a reprodutibilidade e significado deste achado.

## 5.3 AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

### 5.3.1 Citoqueratina 10 (CK10)

#### 5.3.1.1 Considerações gerais

De acordo com KOPAN; TRASKA; FUCHS (1987) e FREEDBERG et al. (2001), a CK10 está presente em queratinócitos diferenciados e é tipicamente ausente em células da camada basal da epiderme. No trabalho realizado por BOVENSCHEN, SEYGER e VAN de KERKHOF (2005) a psoríase apresentou menor grau de positividade para a CK10 quando comparada à dermatite atópica e líquen plano. Como a psoríase é considerada uma doença de pele que apresenta algum tipo de distúrbio no processo de diferenciação e queratinização da epiderme, a análise da positividade para a CK10 é usada como parâmetro para avaliação da resposta terapêutica (SMIT et al., 2004a; VISSERS et al., 2004).

BOVENSCHEN, SEYGER e VAN de KERKHOF (2005) utilizaram um método digital para a avaliação da área da epiderme positiva para a CK10 e encontraram um valor médio de 41% em seis casos de psoríase analisados. SMIT et al. (2004a) utilizaram uma escala de 0 a 5 para avaliação da positividade para aquele anticorpo, onde 0 correspondia à negatividade da reação, e 5, positividade acentuada. Aqueles autores observaram aumento estatisticamente significativo no grau de positividade após três meses de terapia com bexaroteno. VISSERS et al. (2004) avaliaram a porcentagem da área epidérmica positiva para a CK10 com o auxílio de um programa de análise de imagem. Aqueles autores compararam os índices antes e depois de tratamentos com calcipotriol e/ou betametasona por um mês e notaram que a porcentagem da área da epiderme positiva para o CK10 variou de 40 e 50% antes do tratamento, para 68 a 75% após ( $p < 0,001$ ).

No presente estudo, o número de queratinócitos positivos para CK10 na epiderme aumentou de 50% de células epidérmicas positivas antes para 80% de células positivas após o tratamento com acitretin ( $p < 0,01$ ). O método de quantificação adotado neste estudo, ou seja, estimativa da porcentagem de células positivas para o CK10 na epiderme, apesar de diferente, é comparável ao de BOVENSCHEN, SEYGER e VAN de KERKHOF (2005) e VISSERS et al. (2004) e produziu resultados semelhantes. O restabelecimento da diferenciação epidérmica para mais próxima da normalidade, como mostrado pelos resultados da positividade

para o CK10 deste e dos dois trabalhos anteriormente discutidos, parece ser um bom parâmetro para avaliação da eficácia terapêutica de drogas anti-psoriásicas.

#### 5.3.1.2 Camada basal

Como o anticorpo contra a CK10 não reage com as células da camada basal, utilizou-se desta coloração para avaliar a espessura da mesma antes e depois do tratamento com acitretin. BOVENSCHEN, SEYGER e VAN de KERKHOFF (2005) e VISSERS et al. (2004) não atentaram para este fato em suas pesquisas.

O número de camadas de células na camada basal da epiderme foi estatisticamente maior antes do tratamento com acitretin ( $p < 0,01$ ), mostrando que na psoríase há uma expansão patológica daquela camada. Este resultado é corroborado pelo trabalho de PATTERSON et al. (1984) onde o anticorpo 4F2 foi usado para marcar células basais da epiderme. Os autores notaram uma maior reatividade para aquele anticorpo em suspensões celulares de amostras provenientes de epiderme psoriásica.

O achado de expansão da camada basal na psoríase pode explicar a falsa impressão da localização das figuras de mitose “acima” da mesma, como apontado por ACKERMAN et al. (2005) e MOBINI TOUSSAINT e KAMINO (2005), e por outros trabalhos que notaram positividade para o marcador de proliferação celular Ki67 também “acima” daquela região (SOINI et al., 1994; GOTTLIEB et al., 1995; KRUEGER et al., 1995; KAWASHIMA et al., 2004; BOVENSCHEN et al., 2005). Além disso, como afirmado por KOPAN; TRASKA; FUCHS (1987), apenas as células da camada basal da epiderme normalmente proliferam.

#### 5.3.2 Citoqueratina 16 (CK16)

Segundo KOPAN; TRASKA; FUCHS (1987), os retinóides são reguladores importantes da diferenciação terminal da epiderme e a CK16 é um marcador amplamente utilizado na análise imuno-histoquímica da resposta terapêutica da psoríase aos mais diversos agentes terapêuticos (GOTTLIEB et al., 1992; VALLAT et al., 1994; GOTTLIEB et al., 1995; KRUEGER et al., 1995; GOTTLIEB et al., 1996; KUIJPERS et al., 1998; GOTTLIEB et al., 2002; SMIT et al., 2004a) pois quando presente, ela indica queratinização anômala da epiderme (FREEDBERG et al., 2001).

A intensidade da reação e o número de queratinócitos positivos para CK16 na epiderme das biópsias de pele analisadas no presente estudo foram estatisticamente maiores antes do tratamento com acitretin ( $p = 0,01$  e  $p < 0,01$ , respectivamente). Em nenhum caso a coloração era inexistente ou de fraca intensidade antes da terapia, e seis casos se tornaram completamente negativos após o uso do acitretin. De modo semelhante, os três trabalhos que comparam os efeitos imuno-histoquímicos de retinóides em biópsias de pele de pacientes com psoríase observaram redução significativa da expressão de CK16 após o tratamento (GOTTLIEB et al., 1996; KUIJPERS et al., 1998; SMIT et al., 2004a). A reatividade para a CK16 parece ser um bom marcador de resposta terapêutica aos retinóides mas a mudança no padrão da expressão da CK16 não pode ser aferida à ação exclusiva dessa classe de medicamentos, já que outros esquemas terapêuticos com toxina seletiva a linfócitos (GOTTLIEB et al., 1995), PUVA (GOTTLIEB et al., 1992; VALLAT et al., 1994) e efalizumab (GOTTLIEB et al., 2002) produziram efeitos semelhantes. Portanto, a diminuição da expressão de reatividade para CK16 significa melhora da psoríase independentemente da droga utilizada no tratamento.

### 5.3.3 Citoqueratina 19 (CK19)

De acordo com KOPAN; TRASKA; FUCHS (1987) a expressão de CK19 é induzida em culturas celulares de epiderme em soluções com alta concentração de retinóides. No presente estudo, todos os casos estudados apresentaram reação negativa para CK19, tanto antes como depois do tratamento com acitretin. Nas 29 biópsias de pacientes com psoríase estudadas por SMIT et al. (2004a) em nenhuma houve detecção imuno-histoquímica da CK19 antes ou depois do tratamento com bexaroteno. Expressão daquela queratina também não foi observada em casos de ictiose e doença de Darier tratados com ácido retinóico tópico (STEIJLEN et al., 1993). Parece que a indução desta queratina anômala só ocorre *in vitro*. Este fato pode significar ou que esta queratina não é induzida pelo uso de retinóides sistêmicos ou que há discrepâncias entre os experimentos realizados *in vivo* e *in vitro*.

#### 5.3.4 Ki67

A proteína Ki67 se acumula no núcleo de todas as células que estão em vias de divisão, e desaparece rapidamente quando a célula entra em repouso (SOINI et al., 1994). Por esta razão é o marcador de escolha para avaliar o índice de proliferação celular em doenças como a psoríase, onde há altos níveis de multiplicação dos queratinócitos da pele (SOINI et al., 1994; VALLAT et al., 1994; GOTTLIEB et al., 1995; KRUEGER et al., 1995; GOTTLIEB et al., 1996; KUIJPERS et al., 1998; ASADULLAH et al., 2001; KAWASHIMA et al., 2004; SMIT et al., 2004a; VISSERS et al., 2004; BOVENSCHEN et al., 2005; BOVENSCHEN; SEYGER; VAN de KERKHOF et al., 2005).

O método de quantificação da positividade dos queratinócitos para Ki67 no presente estudo, ou seja, contagem de células positivas por campo microscópico de grande aumento, foi baseado ao descrito por KUIJPERS et al. (1998), ASADULLAH et al. (2001) e SMIT et al. (2004a) que contaram o número daquelas células por área de mm<sup>2</sup>.

No presente estudo se observou que a média de células Ki67 positivas por campo de grande aumento foi significativamente maior antes do tratamento com acitretin que depois ( $p < 0,01$ ). Do mesmo modo, todos os trabalhos que relatam melhora da psoríase com os mais diferentes esquemas terapêuticos mostram diminuição significativa na positividade para Ki67 após o tratamento (VALLAT et al., 1994; GOTTLIEB et al., 1995; KRUEGER et al., 1995; ASADULLAH et al., 2001; VISSERS et al., 2004; BOVENSCHEN et al., 2005) incluindo os que testaram os efeitos de retinóides (GOTTLIEB et al., 1996; KUIJPERS et al., 1998; SMIT et al., 2004a). Isto indica que a redução na proliferação celular mostrada com o uso do Ki67 reflete de maneira importante a reversão do processo patológico que induz a psoríase.

#### 5.3.5 CD1a

Segundo CZERNIELEWSKI; VAIGOT; PRUNIERAS (1985), a célula de Langerhans se origina na medula óssea e se fixa na epiderme, originando o ramo mais periférico do sistema imune. Os autores comentam que, entre outras funções, aquelas células são essenciais para a ativação da resposta inflamatória dependente

de linfócitos T. Poucos são os trabalhos que pesquisam a célula de Langerhans na psoríase (FRIEDMAN, 1981; CZERNIELEWSKI et al., 1985; JONES et al., 1994; ASADULLAH et al., 2001; ELIAS; NANDA; BARR, 2003). O anticorpo CD1a é usado para a pesquisa daquela célula em várias situações (ARACTINGI et al., 1997; SANTI; SOTTO, 2001; ZHANG; McNUTT, 2001; IMANAKA et al., 2004), e também na psoríase (JONES et al., 1994; ASADULLAH et al., 2001; ELIAS; NANDA; BARR, 2003). De acordo com JONES et al. (1994), há aumento no número absoluto de células de Langerhans em biópsias de pele de psoríase, quando comparado ao número encontrado em biópsias de pele normal, embora comentam que este achado é controverso, já que outros estudos mostraram resultados diferentes.

Pela primeira vez a ação do acitretin é investigado em relação à variação do número de células de Langerhans em biópsias de pele de psoríase com o uso do CD1a. A maneira escolhida para avaliar esse anticorpo foi contagem de células positivas por campo microscópico de grande aumento, baseado no método de ASADULLAH et al. (2001) e ELIAS; NANDA; BARR (2003) que o contaram por área de mm<sup>2</sup>. Teve-se o cuidado de considerar apenas as células positivas nas quais o núcleo pudesse ser visualizado, já que a célula de Langerhans possui muitos prolongamentos citoplasmáticos, como comentado por ELIAS; NANDA; BARR (2003).

No presente estudo, observou-se diminuição do número de células positivas para o CD1a após o tratamento com acitretin ( $p < 0,01$ ). Nos trabalhos comparativos de ASADULLAH et al. (2001) e ELIAS; NANDA; BARR (2003), os primeiros notaram diminuição do número de células de Langerhans em biópsias de pele de pacientes com psoríase tratados com IL-10, e os segundos não notaram variação neste item depois da terapia com propiltiuracil (ambos os estudos obtiveram melhora clínica significativa com o uso do tratamento pesquisado). A presença de um menor número de células de Langerhans depois do tratamento com acitretin pode estar relacionado ao seu mecanismo de ação sobre a resposta inflamatória. Contudo, mais estudos com acitretin e outras drogas são necessários para avaliar a reprodutibilidade e importância deste achado.

## 6 CONCLUSÕES

A psoríase é uma doença que pode cursar com queratinócitos necróticos nas biópsias de pele.

Há maior relação espessura/platô na epiderme das biópsias de pele de pacientes com psoríase provocando falsa impressão de afinamento dos platôs suprapapilares.

Neutrófilos na camada córnea são vistos com pequena freqüência após o tratamento com acitretin.

Acitretin provoca diminuição da inflamação da pele, especialmente na epiderme.

Vasos sangüíneos papilares anormais podem ser vistos em biópsias de pele depois do uso do acitretin.

Maior número de eosinófilos e presença de plasmócitos após o uso do acitretin pode significar influência da droga no tipo da resposta inflamatória.

O acitretin restabelece a diferenciação epidérmica para uma condição mais próxima da normalidade, com aumento da expressão de CK10 e diminuição da expressão de CK16.

Há expansão patológica da camada basal da epiderme na psoríase, explicando a falsa impressão da localização das figuras de mitose “acima” da mesma.

A expressão da CK19 ou não é induzida pelo uso de retinóides ou há discrepâncias de resultados entre os experimentos realizados *in vivo* e *in vitro*.

Há diminuição de células de Langerhans após o tratamento com acitretin; isto pode estar relacionado ao seu mecanismo de ação sobre a resposta imunológica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABRAMS, J. R. et al. Blockade of T lymphocyte co stimulation with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4-immunoglobulin (CTLA4Ig) reverses the cellular pathology of psoriatic plaques, including the activation of keratinocytes, dendritic cells, and endothelial cells. **Journal of Experimental Medicine** v. 192, n. 5, pp. 681–693, 2000.
2. ACKERMAN, A. B. et al. Psoriasis. In:\_\_\_\_\_. **Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases. An algorithm method based on pattern analysis**. 3. ed. Nova Iorque: Ardor Scribendi, 2005.
3. ALPER, M. et al. Measurement of epidermal thickness in a patient with psoriasis by computer-supported image analysis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 1, pp. 111-7, 2004.
4. ALVES, V. A. F.; BACCHI, C. E.; VASSALLO, J. **Manual de Imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999.
5. ARACTINGI, S. et al. Langerhans' cells are depleted in chronic graft versus host disease. **Journal of Clinical Pathology**, v. 50, n. 4, pp. 305-9, 1997. Resumo.
6. ASADULLAH, K. et al. Interleukin 10 treatment of psoriasis: clinical results of a phase 2 trial. **Archives of Dermatology**, v. 135, n. 2, pp. 187-92, 1999.
7. ASADULLAH, K. et al. Effects of systemic Interleukin-10 therapy on psoriatic skin lesions: histologic, immunohistologic, and molecular biology findings. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 116, pp. 721-7, 2001.
8. AUSTIN, L. M. et al. 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. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 113, pp. 752-9, 1999.
9. BALIS, F. M. The goal of cancer treatment. **The Oncologist**, v. 3, n. 4, p. 0, 1998. Disponível em: <<http://theoncologist.alphamedpress.org>> Acesso em: 10 de junho, 2006.
10. BARKER, J. N. et al. Keratinocytes as initiators of inflammation. **Lancet**, v. 337, n. 8735, pp. 211-4, 1991.

11. BHAWAN, J. et al. K16 expression in uninvolved psoriatic skin: a possible marker of pre-clinical psoriasis. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 31, n. 7, pp. 471-476, 2004.
12. BIANCHI, L. et al. Abnormal Bcl-2 and "tissue" transglutaminase expression in psoriatic skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 103, n. 6, pp. 829-33, 1994.
13. BOS, J. D. et al. The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in normal human skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 88, n. 5, pp. 569-73, 1987.
14. BOS, J. D. et al. Psoriasis: dysregulation of innate immunity. **British Journal of Dermatology**, v. 152, n. 6, pp. 1098-107, 2005.
15. BOVENSCHEN, H. J.; SEYGER, M. M.; VAN de KERKHOF, P. P. C. Plaque psoriasis vs. atopic dermatitis and lichen planus: a comparison for lesional T-cell subsets, epidermal proliferation and differentiation. **British Journal of Dermatology**, v. 153, n. 1, pp. 72-8, 2005.
16. BOVENSCHEN, H. J. et al. Selective persistence of dermal CD8+ T cells in lesional plaque psoriasis after clobetasol-17 propionate treatment. **Acta Dermatologica Venereologica**, v. 85, n. 2, pp. 113-7, 2005.
17. BOWCOCK, A. M.; BARKER, J. N. Genetics of psoriasis: The potential impact on new therapies. **Journal of the American Academy of Dermatology**, suppl. 49, pp.S51-6, 2003.
18. BOWCOCK, A. M.; KRUEGER, J. G. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 9, pp. 699-711, 2005.
19. BRECHER, A.R.; ORLOW, S. J. Oral retinoid therapy for dermatologic conditions in children and adolescents. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 49, n. 2, pp. 171-82, 2003.
20. CAMP, R. D. R. Psoriasis. In: CHAMPION, R. H. et al. 6. ed. **Rook/Wilkinson/Ebling Textbook of Dermatology**. Oxford: Blackwell Science, 1998. pp. 1589-1649.
21. CARLIN, C. S.; CALLIS, K. P.; KRUEGER, G.G. Efficacy of acitretin and commercial tanning bed therapy for psoriasis. . **Archives of Dermatology**, v. 139, n. 4, pp. 436-42, 2003.

22. CHRISTOPHERS, E. Psoriasis: epidemiology and clinical spectrum. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 26, n. 4, pp. 314-20, 2001.
23. CHRISTOPHERS, E.; MROWIETZ, U. Psoriasis. In: FITZPATRICK, T. B. et al. 5. ed. **Dermatology in General Medicine**. Nova Iorque: McGraw-Hill, Inc., 1999. pp. 495-521.
24. CURRY, J. L. et al. J. Innate immune-related receptors in normal and psoriatic skin. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 127, n. 2, pp. 178-86, 2003.
25. CZERNIELEWSKI, J.; VAIGOT, P.P.; PRUNIERAS, M. Epidermal Langerhans cells--a cycling cell population. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 84, n. 5, pp. 424-6, 1985.
26. CZERNIELEWSKI, J. et al. Langerhans' cells in patients with psoriasis: effect of treatment with PUVA, PUVA bath, etretinate and anthralin. **Acta Dermatologica Venereologica**, v. 65, n. 2, pp. 97-101, 1985.
27. ELDER, J. T. et al. Retinoic acid receptors and binding proteins in human skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 98, suppl. 6, pp. 36S-41S, 1992.
28. ELDER, J. T.; NAIR, R. P.; VOORHEES, J. J. Epidemiology and the genetics of psoriasis. **Journal of Investigative Dermatology**, v.102, n. 6, pp. 24S-27S, 1994.
29. ELIAS, P. M. Epidermal effects of retinoids: supramolecular observations and clinical implications. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 15, n. 4 Pt 2, pp. 797-809, 1986.
30. ELIAS, A. N. et al. Propylthiouracil in psoriasis: results of an open trial. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 29, n. 1, pp. 78-81, 1993.
31. ELIAS, A. N.; BARR, R. J.; NANDA, V. S. p16 expression in psoriatic lesions following therapy with propylthiouracil, an antithyroid thioureylene. **International Journal of Dermatology**, v. 43, pp. 889-92, 2004.
32. ELIAS, A. N.; NANDA, V. S; BARR, R. J. CD1a expression in psoriatic skin following treatment with propylthiouracil, antithyroid thioureylene. **Bio Med Central Dermatology**, v. 3, n. 3, 2003. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com>> Acesso em: 17 maio, 2006.

33. ELLIS, C. N. et al. Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study. **Journal of the American Medicine Academy**, v. 256, n. 22, pp. 3110-6, 1986.
34. FARBER, E.; ACKERMAN, AB. Elucidation of matters fundamental. A Scientific Analysis of Cell Death. **Dermatopathology: Practical & Conceptual**, v. 8, n. 3, 2002. Disponível em: <<http://www.derm101.com/>> Acesso em: 17 de maio, 2006.
35. FREEDBERG, I. M. et al. Keratins and the Keratinocyte Activation Cycle. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 116, n. 5, pp. 633-40, 2001.
36. FRIEDMANN, P. S. Disappearance of epidermal Langerhans cells during PUVA therapy. **British Journal of Dermatology**, v. 105, n. 2, pp. 219-21, 1981.
37. GEIGER, J. M. Efficacy of acitretin in severe psoriasis. **Skin Therapy Letter**, v. 8, n. 4, pp. 1-3, 7, 2003.
38. GHORESCHI, K. et al. Interleukin-4 therapy of psoriasis induces Th2 responses and improves human autoimmune disease. **Nature Medicine**, v. 9, n 1, pp. 40-6, 2003.
39. GIANNOTTI, B. et al. The treatment of basal cell carcinomas in a patient with xeroderma pigmentosum with a combination of imiquimod 5% cream and oral acitretin. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 28, supl. 1, pp. 33-5, 2003.
40. GOLLNICK, H. P. M.; DÜMMLER, U. Retinoids. **Clinical Dermatology**, v. 15, pp. 799-810, 1997.
41. GOTTLIEB, A. B. et al. Studies of the effect of cyclosporine in psoriasis in vivo: combined effects on activated T lymphocytes and epidermal regenerative maturation. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 98, n. 3, pp. 302-9, 1992.
42. GOTTLIEB, S. L. et al. Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB389 IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte, pathogenic basis. **Nature Medicine**, v. 1, n. 5, pp. 442-7, 1995.
43. GOTTLIEB, S. L. et al. Cellular actions of etretinate in psoriasis: enhanced epidermal differentiation and reduced cell-mediated inflammation are unexpected outcomes. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 23, n. 5, pp. 404-18, 1996.
44. GOTTLIEB, A. B. et al. Psoriasis as a model for T-cell-mediated disease. Immunobiologic and clinical effects of treatment with multiple doses of efalizumab, an anti-CD11a antibody. **Archives of Dermatology**, v. 138, n. 5, pp. 591-600, 2002.

45. GUDJONSSON, J. E. et al. Psoriasis patients who are homozygous for the HLA-Cw\*0602 allele have a 25-fold increased risk of developing psoriasis compared with Cw6 heterozygotes. **British Journal of Dermatology**, v. 148, n. 2, pp. 233–5, 2003.
46. GUDJONSSON, J. E. et al. Immunopathogenic mechanisms in psoriasis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 135, n. 1, pp. 1-8, 2004.
47. HORN, T. D.; HERZBERG, G. Z.; HOOD, A. F. Characterization of the dermal infiltrate in human immunodeficiency virus-infected patients with psoriasis. **Archives of Dermatology**, v. 126, n. 11, pp. 1462-5, 1990. Resumo.
48. HUSSEIN, M. R.; AL-BADAIWY, Z. H.; GUIRGUIS, M. N. Analysis of p53 and bcl-2 protein expression in the non-tumorigenic, pretumorigenic, and tumorigenic keratinocytic hyperproliferative lesions. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 31, n. 10, pp. 643-51, 2004.
49. IMANAKA, A. et al. Langerhans cell histiocytosis involving the skin of an elderly woman: a satisfactory remission with oral prednisolone alone. **Journal of Dermatology**, v. 31, n. 12, pp. 1023-6, 2004. Resumo.
50. JACOBSON, C. C.; KIMBALL, A. B. Rethinking the Psoriasis Area and Severity Index: the impact of area should be increased. **British Journal of Dermatology**, v. 151, n. 2, pp. 381-7, 2004.
51. JONES, J. L. et al. Assessment of epidermal dendritic cell markers and T-lymphocytes in psoriasis. **Journal of Pathology**, v. 174, n. 2, pp. 77-82, 1994.
52. JONG, E. M. de et al. Keratin 17: a useful marker in anti-psoriatic therapies. **Archives of Dermatology Research**, v. 283, n. 7, pp. 480-2, 1991.
53. KAWASHIMA, K. et al. Evaluation of cell death and proliferation in psoriatic epidermis. **Journal of Dermatological Science**, v. 35, n. 3, pp. 207-14, 2004.
54. KOPAN, R.; TRASKA, G.; FUCHS, E. Retinoids as important regulators of terminal differentiation: examining keratin expression in individual epidermal cells at various stages of keratinization. **Journal of Cell Biology**, v.105, n. 1, pp. 427-40, 1987.
55. KOPP, T. et al. Successful use of acitretin in conjunction with narrowband ultraviolet B phototherapy in a child with severe pustular psoriasis, von Zumbusch type. **British Journal of Dermatology**, v. 151, n. 4, pp. 912-6, 2004.

56. KRUEGER, G.; ELLIS, C. N. Psoriasis: recent advances in understanding its pathogenesis and treatment. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 53, 1 supl. 1, pp. S94-100, 2005.
57. KRUEGER, J. G. et al. Successful ultraviolet B treatment of psoriasis is accompanied by a reversal of keratinocyte pathology and by selective depletion of intraepidermal T cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 182, n. 6, pp. 2057-68, 1995.
58. KRUEGER, J. G. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 46, n. 1, pp. 1-23, 2002.
59. KUIJPERS, A. L. et al. The effects of oral liarozole on epidermal proliferation and differentiation in severe plaque psoriasis are comparable with those of acitretin. **British Journal of Dermatology**, v. 139, n. 3, pp. 380-9, 1998.
60. KUMAR, B. et al. Epidemiology of childhood psoriasis: a study of 419 patients from northern India. **International Journal of Dermatology**, v. 43, n. 9, pp. 654-8, 2004.
61. LACOUR, M. et al. An appraisal of acitretin therapy in children with inherited disorders of keratinization. **British Journal of Dermatology**, v. 134, n. 6, pp. 1023-9, 1996.
62. LEBWOHL, M. Psoriasis. **Lancet**, v. 361, n. 9364, pp. 1197-204, 2003.
63. LEE, C. S; KOO, J. A review of acitretin, a systemic retinoid for the treatment of psoriasis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 6, n. 10, pp. 1725-34, 2005.
64. LING, M. R. Acitretin: optimal dosing strategies. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 41, n. 3 Pt 2, pp. S13-7., 1999.
65. MAGRO, C. M.; CROWSON, A. N. The clinical and histomorphological features of pityriasis rubra pilaris. A comparative analysis with psoriasis. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 24, n. 7, pp. 416-24, 1997.
66. MARTINS, G. A.; ARRUDA, L. Tratamento sistêmico da psoríase - Parte I: metotrexato e acitretin. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.79, n. 3, pp. 263-78, 2004.

67. McKEE, P. H.; CALONJE, E.; GRANTER, S. R. Psoriasis. In:\_\_\_\_\_. **Pathology of the skin with clinical correlations**. 3. ed. Philadelphia: Elsevier-Mosby, 2005. pp. 195-206.
68. McKENNA, B. D; MURPHY, G. M. Skin cancer chemoprophylaxis in renal transplant recipients: 5 years of experience using low-dose acitretin. **British Journal of Dermatology**, v. 140, n. 4, pp. 656-60, 1999.
69. MEHLIS SL, GORDON KB. The immunology of psoriasis and biologic immunotherapy. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 49, suppl. 2, pp. S44-50., 2003.
70. MEHTA, R. K.; RYTINA, E.; STERLING, J. C. Treatment of verrucous carcinoma of vulva with acitretin. **British Journal of Dermatology**, v. 142, n. 6, pp. 1195-1198, 2000.
71. MOBINI, N.; TOUSSAINT, S.; KAMINO, H. Noninfectious erythematous, papular, and squamous diseases. In: ELDER, D. E.; JOHNSON, B. L.; ELENITSAS, R. 9. ed. **Lever's Histopathology of the Skin**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005. pp 183-191.
72. MORRIS, A. et al. Childhood psoriasis: a clinical review of 1262 cases. **Pediatric Dermatology**, v. 18, n. 3, pp. 188-98, 2001.
73. MUELLER, W.; HERRMANN, B. Cyclosporin A for psoriasis. **New England Journal of Medicine**, v. 301, p.555, 1979.
74. MURRAY, H. E. et al. A 12-month treatment of severe psoriasis with acitretin: results of a Canadian open multicenter study. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 24, n. 4, pp. 598-602, 1991.
75. NALDI, L. Epidemiology of psoriasis. **Current Drug Targets – Inflammation and Allergy**, vol. 3. n. 2, pp. 121-8, 2004.
76. NGUYEN, E. Q. H.; WOVERTON, S. E. Systemic retinoids. In: **Comprehensive Dermatologic Drug therapy**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. pp. 269-310.
77. NICKOLOFF, B. J. Creation of psoriatic plaques: the ultimate tumor suppressor pathway. A new model for an ancient T-cell-mediated skin disease. Viewpoint. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 28, n. 2, pp. 57-64, 2001.

78. NICKOLOFF, B. J. et al. Is psoriasis a T-cell disease? **Experimental Dermatology**, v. 9, n. 5, pp. 359-75, 2000.
79. NICKOLOFF, B. J.; NESTLE, F. O. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. **Clinical Investigation**, v. 113, pp. 1664-75, 2004.
80. NICKOLOFF, B. J.; WRONE-SMITH, T. Injection of pre-psoriatic skin with CD4+ T cells induces psoriasis. **American Journal of Pathology**, v. 155, n. 1, pp. 145-58, 1999.
81. ORTEGA, J. J. et al. Treatment with all-trans retinoic acid and anthracycline monochemotherapy for children with acute promyelocytic leukemia: a multicenter study by the PETHEMA Group. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, n. 30, pp. 7632-40, 2005.
82. PATTERSON, J. A. et al. Monoclonal antibody 4F2 reactive with basal layer keratinocytes: studies in the normal and a hyperproliferative state. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 83, n. 3, pp. 210-3, 1984. Resumo.
83. PAUS, R et al. Patterns of cell death: the significance of apoptosis for dermatology. **Experimental Dermatology**, v. 2, n. 1, pp. 3-11, 1993.
84. PRINZ, J. C. Psoriasis vulgaris--a sterile antibacterial skin reaction mediated by cross-reactive T cells? An immunological view of the pathophysiology of psoriasis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 26, n. 4, pp. 326-32, 2001.
85. PSORIASIS GUIDELINES. British Academy of Dermatologists. Disponível em: <<http://www.bad.org.uk/healthcare/guidelines/>> Acesso em: 17 maio, 2006.
86. RAYCHAUDHURI, S. P.; GROSS, J. A comparative study of pediatric onset psoriasis with adult onset psoriasis. **Pediatric Dermatology**, v. 17, n. 3, pp. 174-8, 2000.
87. REYNOLDS, C. P.; LEMONS, R. S. Retinoid therapy of childhood cancer. **Hematology Oncology Clinics of North America**, v. 15, n. 5, pp. 867-910, 2001. Resumo.
88. ROSENTHAL, D. S. et al. Changes in photo-aged human skin following topical application of all-trans retinoic acid. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 95, n. 5, pp. 510-5, 1990.

89. ROSINSKA, D. et al. Etretnate in severe psoriasis of children. **Pediatric Dermatology**, v. 5, n. 4, pp. 266-72, 1988. Resumo.
90. SAMPAIO, A. A. P.; RIVITTI, E. A. Erupções eritêmato-escamosas. In:\_\_\_\_\_. **Dermatologia**. 2. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001. pp. 171-9.
91. SANTI, C. G.; SOTTO, M. N. Immunopathologic characterization of the tissue response in endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem). **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 44, n. 3, pp. 446-50, 2001. Resumo.
92. SAURAT, J. H. Retinoids and psoriasis: novel issues in retinoid pharmacology and implications for psoriasis treatment. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 41, n. 3 Pt 2, pp. S2-6, 1999.
93. SCHON, M. P.; BOEHNCKE, W. H. Psoriasis. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 18, pp. 1899-912, 2005.
94. SCHOPF, R. E. et al. Eosinophils, pruritus and psoriasis: effects of treatment with etretinate or cyclosporin-A. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 11, n. 3, pp. 234-9, 1998. Resumo.
95. SCHOPF, R. E.; AUST, H.; KNOP, J. Treatment of psoriasis with the chimeric monoclonal antibody against tumor necrosis factor alpha, infliximab. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 46, n. 6, pp. 886-91, 2002.
96. SHELNITZ, L. S.; ESTERLY, N. B.; HONIG, P. J. Etretnate therapy for generalized pustular psoriasis in children. **Archives of Dermatology**, v. 123, n. 2, pp. 230-3, 1987. Resumo.
97. SIGMUNDSDOTTIR, H. et al. Methotrexate markedly reduces the expression of vascular E-selectin, cutaneous lymphocyte-associated antigen and the numbers of mononuclear leucocytes in psoriatic skin. **Experimental Dermatology**, v. 13, n. 7, pp. 426-34, 2004.
98. SKOV, L. et al. HuMax-CD4: a fully human monoclonal anti-CD4 antibody for the treatment of psoriasis vulgaris. **Archives of Dermatology**, v. 139, pp. 1433-9, 2003.
99. SMIT, J. V. et al. Systemic treatment of psoriatic patients with bexarotene decreases epidermal proliferation and parameters for inflammation, and improves differentiation in lesional skin. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 51, n. 2, pp. 257-64, 2004a.

100. SMIT, J. V. et al. Acitretin treatment in (pre)malignant skin disorders of renal transplant recipients: histologic and immunohistochemical effects. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 50, n. 2, pp. 189-96, 2004b
101. SOBELL, J.M.; HALLAS, S. J. Systemic therapies for psoriasis: understanding current and newly emerging therapies. **Seminars in Cutaneous and Medical Surgery**, v. 22, n. 3, pp. 187-95, 2003.
102. SOINI, Y. et al. Aberrant accumulation of p53 associates with Ki67 and mitotic count in benign skin lesions. **British Journal of Dermatology**, v. 131, n. 4, pp. 514-20, 1994.
103. SORIATANE® (ACITRETIN). Disponível em: <<http://www.soriatane.com>> Acesso em: 17 maio, 2006.
104. STEIJLEN, P. M. et al. Topical treatment of ichthyoses and Darier's disease with 13-cis-retinoic acid. A clinical and immunohistochemical study. **Archives of Dermatology Research**, v. 285, n. 4, pp. 221-6, 1993.
105. SUN, T. T. et al. Keratin classes: molecular markers for different types of epithelial differentiation. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 81, supl. 1, pp. 109S-15, 1983.
106. TAKAHASHI, H et al. Aberrant expression of apoptosis-related molecules in psoriatic epidermis. **Journal of Dermatological Science**, v. 28, n. 3, pp. 187-97, 2002.
107. VALLAT, V. P. et al. PUVA bath therapy strongly suppresses immunological and epidermal activation in psoriasis: a possible cellular basis for remittive therapy. **Journal of Experimental Medicine**, v. 180, n. 1, pp. 283-96, 1994.
108. VAN de KERKHOF, P. C. M. Psoriasis. In: BOLOGNIA, J. L.; JORIZZO, J. L.; RAPINI, R. P. **Dermatology**. Londres: Mosby – Elsevier, 2003. pp. 125-149.
109. VISSERS, W.H. et al. The effect of the combination of calcipotriol and betamethasone dipropionate versus both monotherapies on epidermal proliferation, keratinization and T-cell subsets in chronic plaque psoriasis. **Experimental Dermatology**, v. 13, n. 2, pp. 106-12, 2004.
110. WEEDON, D. The psoriasiform reaction pattern. In: \_\_\_\_\_. **Skin Pathology**. 2. ed. Londres: Churchill Livingstone, 2002. pp. 75-81.

- 111.WEINSTEIN; G. D.; McCULLOUGH, J. L.; ROSS, P. A. Cell kinetic basis for pathophysiology of psoriasis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 85, n. 6, pp. 579-83, 1985.
- 112.WEISS, R. A. et al. The use of monoclonal antibody to keratin in human epidermal disease: alterations in immunohistochemical staining pattern. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 81, n. 3, pp. 224-30, 1983.
- 113.WRONE-SMITH, T.; NICKOLOFF, B. J. Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 98, n. 8, pp. 1878-87, 1996.
- 114.ZHANG, Y.; MCNUTT, N. S. Lichen striatus. Histological, immunohistochemical, and ultrastructural study of 37 cases. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 28, n.2, pp. 65-71, 2001. Resumo.