



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAMILA CATALDI DE ALCANTARA

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE T *HELPER* (Th) 1, Th2,
Th17 E T REGULATÓRIA (Treg) EM PACIENTES COM
PSORÍASE**

CAMILA CATALDI DE ALCANTARA

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE T *HELPER* (Th) 1, Th2,
Th17 e T REGULATÓRIA (Treg) EM PACIENTES COM
PSORÍASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andréa Name Colado Simão

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Alcantara, Camila Cataldi de.

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE T HELPER (Th) 1, Th2, Th17 e T REGULATÓRIA (Treg) EM PACIENTES COM PSORÍASE / Camila Cataldi de Alcantara. - Londrina, 2018.

75 f. : il.

Orientador: Andréa Name Colado Simão.

Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, , 2018.

Inclui bibliografia.

1. Psoríase - Tese. 2. Citocinas - Tese. 3. Adiponectina - Tese. 4. Inflamação - Tese. I. Simão, Andréa Name Colado. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. . III. Título.

CAMILA CATALDI DE ALCANTARA

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE T *HELPER* (Th) 1, Th2, Th17 e T
REGULATÓRIA (Treg) EM PACIENTES COM PSORÍASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andréa N. C. Simão
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a Dr^a Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a Dr^a Karen Brajão de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 08 de Outubro de 2018.

“Não há nada nobre em ser superior ao seu semelhante.
A verdadeira nobreza é ser superior ao seu antigo eu.”

Ernest Hemingway (1899 – 1961)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Marcelle e Leonardo por todo incentivo e apoio dado ao longo dos meus estudos e por toda a paciência, amor e companheirismo nos momentos em que precisei me ausentar. Agradeço, também, aos meus pais, irmãs, avós e familiares que, mesmo de longe, me apoiaram e me acompanharam nessa etapa da minha vida. E um agradecimento especial à minha avó Heloísa que nos deixou antes me ver terminar o mestrado, mas que eu sei que estaria orgulhosa.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial e aos professores por todo conhecimento adquirido e pela atenção e dedicação durante o exercício de suas atribuições. Agradeço aos membros da banca avaliadora por terem aceito o convite e pelas contribuições enriquecedoras dadas ao trabalho. E agradeço, também, a CAPES pelo suporte financeiro.

Agradeço aos amigos do grupo de pesquisa pelo apoio e conselhos dados durante o desenvolvimento e conclusão deste trabalho. Agradeço a equipe do Laboratório de Análises Clínicas que, sempre que solicitados, deram o suporte técnico necessário.

Agradeço aos profissionais do Ambulatório de Dermatologia do Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário (AEHU) pela participação e pela dedicação para com este estudo.

E, finalmente, agradeço à Professora Dr^a Andréa Name Colado Simão por ter aceitado me orientar e pela oportunidade oferecida a mim para a confecção deste trabalho. Obrigada pela atenção, dedicação, paciência e pelos conhecimentos que a senhora transmitiu a mim ao longo desse tempo. Espero ter atendido às expectativas. Muito obrigada.

ALCANTARA, Camila Cataldi de. **Avaliação da resposta imune T *helper* (Th) 1, Th2, Th17 e T Regulatória (Treg) em pacientes com Psoríase.** 2018. 77 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A psoríase é uma doença mediada pelo sistema imunológico, poligênica e caracterizada por uma reação inflamação crônica. A pele é o principal órgão acometido; no entanto, unhas e articulações também podem ser afetadas por lesões avermelhadas, secas e escamosas. A etiologia da psoríase é desconhecida e acredita-se que fatores genéticos, ambientais e psicológicos podem estar envolvidos no desenvolvimento e exacerbação da doença. O diagnóstico da psoríase é clínico pelo reconhecimento das lesões e não há, atualmente, biomarcadores laboratoriais que possam auxiliar no diagnóstico da doença. O sistema imune cutâneo é caracterizado pelo predomínio de citocinas anti-inflamatórias como a Interleucina (IL) 10 e Fator de Transformação do Crescimento - beta (TGF- β) que ajudam a manter a homeostase do tecido cutâneo. No entanto, pacientes com psoríase tem alteração da resposta imune com predomínio de macrófago do tipo 1 (M1), que apresentam fenótipo pró-inflamatório e citocinas da resposta imune T *helper* (Th) 1 e Th17. A adiponectina é uma adipocina com atividade anti-inflamatória que exerce importante função no sistema imunológico e no metabolismo celular e que tem sido pouco estudada em pacientes com psoríase.

OBJETIVO: O objetivo principal desse estudo foi avaliar os perfis de citocinas pró- e anti-inflamatório e determinar modelos preditores que auxiliem no diagnóstico de psoríase.

SUJEITOS E MÉTODOS: Este é um estudo caso-controle que incluiu 146 participantes de ambos os sexos, com idade entre 18 e 70 anos, sendo 70 pacientes com diagnóstico de psoríase atendidos no Ambulatório de Dermatologia do Ambulatório de Especialidade do Hospital Universitário de Londrina e 76 indivíduos saudáveis (grupo controle) selecionados entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Londrina. As citocinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-6, IL-12, IL-17, IFN- γ e Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF- α)) e as citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10 e TGF- β) foram quantificadas por imunofluorimetria utilizando a plataforma Luminex[®]. A adiponectina foi quantificada utilizando a técnica de enzima imunoensaio (ELISA). As citocinas foram avaliadas individualmente e em perfis: pró-inflamatórios M1 (IL-1 β +IL-6+TNF- α), Th1 (IL-2+IL-12+IFN- γ), Th17 (IL-6+IL-17) e Sistema de Resposta Imune-Inflamatória (IRS) que compreende M1+Th1+Th17. As citocinas anti-inflamatórias formaram os perfis Th2+T regulatória (Treg) (IL-4+IL-10+TGF- β) e o sistema anti-inflamatório (IL-4+IL-10+TGF- β +Adiponectina). Para verificar qual é o perfil predominante foram utilizados dois índices: a relação IRS/Th2+Treg e a relação IRS/Anti-inflamatório.

RESULTADOS: Participaram deste estudo 76 controles saudáveis, sendo 58 mulheres e 18 homens, com idade média de 46 anos e Índice de Massa Corporal (IMC) médio de 25,9 kg/m² e 70 pacientes com psoríase, sendo 31 mulheres e 39 homens, com idade média de 53 anos e IMC médio de 29,7 kg/m². O diagnóstico de psoríase foi fortemente associado à alteração dos níveis de citocinas sendo responsável por 82,9% de sua variância, com um impacto particularmente forte na

variação nos níveis de IL-2 (46,3%), IL-12 (45,1%), IL-10 (53,2%) e adiponectina (40,1%). Os níveis plasmáticos de TGF- β e de adiponectina foram significativamente menores, enquanto, todas as demais citocinas (exceto IFN- γ), estavam elevadas em pacientes com psoríase quando comparadas aos controles saudáveis. Com exceção da relação IRS/Th2+Treg e do Índice Anti-inflamatório, que não demonstraram resultados significativos, todos os demais perfis foram associados ao diagnóstico de psoríase. Os resultados também demonstraram que a psoríase exerce forte efeito sobre Th1 (29,3%), IRS (23,8%) e Th2+Treg (23,3%). Além disso, M1, Th1, Th17, Th2+Treg e a relação IRS/Anti-inflamatório estavam significativamente mais elevados em pacientes comparados aos controles. A combinação dos perfis IRS e Th2+Treg (associados positivamente) com a adiponectina (associada negativamente) pode prever a psoríase com 97,1% de sensibilidade e 94,0% de especificidade.

CONCLUSÃO: Desta forma, é possível concluir que a psoríase é caracterizada pelo aumento dos perfis M1, Th1, Th2 e Th17 e pela redução de TGF- β e adiponectina. Além disso, nosso estudo propôs um modelo baseado em níveis elevados de IRS e Th2+Treg juntamente com níveis reduzidos de adiponectina que pode ser utilizado para a validação do diagnóstico de psoríase. Assim, observou-se que a adiponectina desempenha um importante papel na modulação da resposta inflamatória crônica na psoríase, podendo vir a ser um novo alvo para o tratamento de psoríase.

Palavras-chave: Psoríase. Citocinas. Adiponectina. Inflamação.

CATALDI, Camila Cataldi de. **Evaluation of T helper (Th) 1, Th2, Th17 and Regulatory T cell (Treg) immune response in patients with psoriasis.** 2018. 77 pp. Dissertation (Master Degree in Clinical and Laboratory Pathophysiology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Psoriasis is a disease mediated by the immune system, polygenic and characterized by a chronic inflammation reaction. The skin is the main organ affected; however, red, dry and scaly lesions can affect nails and joints. The aetiology of psoriasis is unknown and it is believed that genetic, environmental and psychological factors may be involved in the development and exacerbation of the disease. The diagnosis of psoriasis is clinical by the recognition of the lesions and there are no currently laboratory biomarkers that can aid in the diagnosis of the disease. The cutaneous immune system is characterized by the predominance of anti-inflammatory cytokines such as Interleukin (IL) 10 and Transforming Growth Factor-beta (TGF- β), which help maintain cutaneous tissue homeostasis. However, patients with psoriasis have impaired immune response with a predominance of type 1 macrophage (M1), which present a pro-inflammatory phenotype and cytokines of the immune T helper (Th) 1 and Th17 response. Adiponectin is an adipokine with anti-inflammatory activity that plays an important role in the immune system and cellular metabolism and it has been poorly studied in patients with psoriasis.

OBJECTIVE: The main objective of this study was to evaluate pro-and anti-inflammatory cytokine profiles and to determine predictive models that aid in the diagnosis of psoriasis.

SUBJECTS AND METHODS: This is a case-control study that included 146 participants of both sexes, aged between 18 and 70 years, with 70 patients diagnosed with psoriasis treated at the Dermatology Outpatient Clinic of the University Hospital of Londrina and 76 healthy individuals (control group) selected among blood donors from the Regional Blood Center of Londrina. Pro-inflammatory cytokines (IL-2, IL-6, IL-12, IL-17, IFN- γ and Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α)) and anti-inflammatory cytokines 10 and TGF- β) were quantified by immunofluorimetry using the Luminex[®] platform. Adiponectin was quantified using the enzyme-linked immunosorbent assay technique (ELISA). The cytokines were evaluated individually and in pro-inflammatory profiles M1 (IL-1 β +IL-6+TNF- α), Th1 (IL-2+IL-12+IFN- γ) and Th17 (IL-6+17) and Immune-Inflammatory Response System (IRS) comprising M1+Th1+Th17. The anti-inflammatory cytokines profiles were formed by Th2+T regulatory (Treg) (IL-4+IL-10+TGF- β) and the anti-inflammatory system (IL-4+IL-10+TGF- β +Adiponectin). Two indexes were used to verify the predominant profile: the IRS/Th2+Treg ratio and the IRS/Anti-inflammatory ratio.

RESULTS: This study included 76 healthy controls, 58 women and 18 men, with a mean age of 46 years and a mean Body Mass Index (BMI) of 25.9 kg/m² and 70 psoriasis patients, 31 women and 39 men, with a mean age of 53 years and mean BMI of 29.7 kg/m². The diagnosis of psoriasis was strongly associated with altered cytokine levels, accounting for 82.9% of its variance, with a particularly strong impact on the levels of IL-2 (46.3%), IL-12 (45, 1%), IL-10 (53.2%) and adiponectin (40.1%). Plasma levels of TGF- β and adiponectin were significantly lower, while all other cytokines (except IFN- γ) were elevated in patients with psoriasis when compared to

healthy controls. With the exception of the IRS/Th2+Treg ratio and the anti-inflammatory index, which did not show significant results, all other profiles were associated with the diagnosis of psoriasis, with Th1 (29.3%), IRS (23.8%) and Th2+Treg (23.3%) strongly associated. In addition, M1, Th1, Th17, Th2+Treg and the IRS/Anti-inflammatory ratio were significantly higher in patients compared to controls. The combination of the IRS and Th2+Treg profiles (positively associated) with adiponectin (negatively associated) may predict psoriasis with 97.1% sensitivity and 94.0% specificity.

CONCLUSION: In conclusion, psoriasis is characterized by increased M1, Th1, Th2 and Th17 profiles together with lowered TGF- β and adiponectin. In addition, we propose a model based on a higher IRS and Th2+ Treg index coupled with lower adiponectin values, which may be used to externally validate the diagnosis of psoriasis. Thus, it has been observed that adiponectin plays an important role in modulating the chronic inflammatory response in psoriasis, and may be a new target for the treatment of psoriasis.

Keywords: Psoriasis. Cytokines. Adiponectin. Inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – A estrutura do tecido cutâneo saudável18

Figura 2 – Resposta Inflammatória da Fisiopatologia da Psoríase22

ARTIGO

Figure 1A - Z transformed values of the 11 cytokines in patients with psoriasis compared to healthy controls58

Figure 1B - Z transformed values in both controls and patients groups58

Figure 2 - Normalized importance of the 11 cytokines for psoriasis59

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

Table 1 -	Sociodemographic data in both controls and patients with psoriasis	53
Table 2 -	Outcome of a multivariate GLM analysis with the 11 cytokines levels as dependent variables and psoriasis, age, sex and body mass index (BMI) as covariates	54
Table 3 -	Model-derived estimated marginal mean values of the 11 cytokines in controls and patients with psoriasis	55
Table 4 -	Outcome of a multivariate GLM analysis with the 8 composite scores as dependent variables and psoriasis, age, sex and BMI as covariates	56
Table 5 -	Model-generated estimated marginal mean values of macrophage M1, T helper (Th)1, Th17, Th2+T regulatory (Treg), anti-inflammatory profiles and their ratios in patients with psoriasis and controls.....	57
Table 6 -	Binary logistic regression analyses with psoriasis as the dependent variable (and controls as the reference group) and the composite scores and adiponectin as input variables	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	<i>Analysis of Variance</i> (Análise de Variância)
AEHU	Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário
APC	Células Apresentadoras de Antígenos
AR	Artrite Reumatóide
ATPIII	<i>Adult Treatment Panel III</i> (III Painel de Tratamento de Adulto)
AUC	<i>Area Under the Curve</i> (Área Sob a Curva)
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BMI	<i>Body Mass Index</i> (Índice de Massa Corporal)
CA	Circunferência Abdominal
CCL20	<i>Chemokine CC Ligand 20</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CL	Células de Langerhans
CXCL8	<i>C-X-C Chemokine Ligand 8</i>
DA	Doenças Autoimunes
DAI	Doenças Autoinflamatórias
DC	<i>Dendritic Cells</i> (Células Dendríticas)
DCV	Doenças Cardiovasculares
DM	Diabetes mellitus
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
ELISA	<i>Ezyme-linked Immunosorbent Assay</i> (Ensaio Imunoenzimático)
EM	Esclerose Múltipla
FDR	<i>False Discovery Rate</i> (Taxa de Falsas Descobertas)
GLM	<i>General Linear Model</i> (Modelo Linear Geral)
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de Alta Densidade)
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
ICAM-1	<i>Intracellular Adhesion Molecule – 1</i> (Molécula de Adesão Intracelular – 1)
IFN- γ	Interferon - gama
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
IRS	<i>Immune-inflammatory Response</i> (Resposta Imune-Inflamatória)
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (Lipoproteína de Baixa Densidade)

LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
M1	Macrófago do tipo 1
M2	Macrófago do tipo 2
MAC	Moléculas de Adesão Celular
mDC	<i>Myeloid Dendritic Cells</i> (Células Dendríticas Mielóide)
MetS	<i>Metabolic Syndrome</i> (Síndrome Metabólica)
MLP	<i>Multilayer Perceptron</i> (Perceptron Multicamadas)
NB - UVB	<i>Narrow-Band Ultraviolet B</i> (Ondas Curtas de Ultravioleta B – do inglês)
NET	<i>Neutrophils Extracellular Traps</i> (Armadilhas Extracelulares de Neutrófilos)
NK	Células <i>Natural Killers</i>
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PASI	<i>Psoriasis Area and Severity Index</i> (Índice de Área e Gravidade da Psoríase)
pDC	<i>Plasmacytoid Dendritic Cells</i> (Células Dendríticas Plasmocitóide)
PMN	Polimorfonucleares
PsA	<i>Psoriatic Arthritis</i> (Artrite Psoriática)
PUVA	<i>Psolaren plus ultraviolet A</i> (Psolareno mais Ultravioleta A)
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SALT	<i>Skin-Associated Lymphoid Tissue</i> (Tecido Linfóide Associado à Pele)
SBD	Sociedade Brasileira de Dermatologia
SD	<i>Standard Deviation</i> (Desvio Padrão)
SLE	<i>Systemic Lupus Erythematosus</i> (Lúpus Eritematoso Sistêmico)
SM	Síndrome Metabólica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicerídeos
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor</i> – beta (Fator Transformador do Crescimento – beta)
Th	<i>T helper cell</i> (Células T auxiliares)

TNF- α	<i>Tumour Necrosis Factor</i> – alpha (Fator de Necrose Tumoral – alfa)
Treg	Células T regulatórias
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule -1</i> (Molécula de Adesão Celular Vascular)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Aspectos Clínicos e Epidemiológicos da Psoríase	14
1.2 A Pele Saudável	17
1.3 Fisiopatologia da Psoríase.....	18
1.3.1 Psoríase e as Citocinas Pró-Inflamatórias e Anti-inflamatórias	23
1.3.2 Adiponectina	27
2. JUSTIFICATIVA	29
3. OBJETIVO	30
3.1 Objetivo Geral	30
3.2 Objetivos Específicos.....	30
4. SUJEITOS E MÉTODOS	31
4.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos	31
4.2 Dados Demográficos, Epidemiológicos e Antropométricos	31
4.3 Coleta de Sangue e Exames Bioquímicos.....	32
4.4 Dosagem de Citocinas.....	32
4.5 Análise Estatística.....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6. ARTIGO	36
7. CONCLUSÕES DA DISSERTAÇÃO	60
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS	62
APÊNDICES	69
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	70

APÊNDICE B – Ficha de Avaliação.....	72
ANEXOS.....	74
ANEXO A – Índice de Área de Gravidade da Doença (PASI)	74
ANEXO B – Documento de Aprovação do Comitê de Ética da UEL	75

1 INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA PSORÍASE

A psoríase é uma doença mediada pelo sistema imunológico, poligênica e caracterizada pela inflamação crônica no tecido cutâneo. A ativação constante das células imunes estimula a produção e liberação de citocinas, provocando o surgimento de lesões locais com efeitos sistêmicos (GREB et al., 2016). Apesar de acometer predominantemente a pele de pacientes, as unhas e articulações podem, também, serem afetadas. As manifestações clínicas mais recorrentes são lesões avermelhadas, secas e escamosas nos membros, cotovelos, dorso e couro cabeludo, podendo ou não, serem acompanhadas de coceira, dor e queimação (GRIFFITHS; BARKER, 2007).

Existem diversos tipos de psoríase, sendo a forma mais frequente a psoríase em placa ou psoríase vulgar, correspondendo a, aproximadamente, 90% dos casos. Os pacientes que manifestam essa condição exibem manchas avermelhadas bem definidas que podem atingir qualquer área do corpo e, dependendo da gravidade, podem apresentar rachaduras e sangramentos. Além da psoríase vulgar, outras formas podem ser diagnosticadas, tais como: psoríase gutata, que são pequenas lesões em forma de gota que surgem nas costas, braços e couro cabeludo e está, geralmente, relacionada com infecções bacterianas; psoríase invertida, que está localizada em regiões úmidas e de dobras; psoríase pustulosa, que dá origem a bolhas de pus, principalmente, nas mãos e nos pés e; psoríase eritodérmica, que é a forma menos comum e atinge o corpo de maneira sistêmica (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015).

A etiologia da psoríase é desconhecida, mas o padrão inflamatório encontrado nos pacientes evidencia o importante papel desempenhado pelo sistema imune na fisiopatologia da doença (LOWES; SUÁREZ-FARIÑAS; KRUEGER, 2014). Além do componente imunológico, fatores genéticos e epigenéticos podem estar fortemente relacionados à sua etiologia. Estudos demonstram que a susceptibilidade genética pode explicar, em parte, o desenvolvimento dessa doença (CHANDRA et al., 2015; MAHIL; CAPON; BARKER, 2015). Desta forma, a psoríase é descrita como uma doença de causas multifatoriais e o ambiente no qual os indivíduos estão inseridos pode influenciar o desencadeamento dos sintomas e o seu agravamento. Estímulos externos como traumas, infecções, queimaduras e medicamentos são potenciais desencadeadores no surgimento das lesões psoriáticas (MAHLER et al., 2014). Além disso, estudos demonstram que o estresse psicológico é um fator importante no desenvolvimento e exacerbação da psoríase (HUNTER; GRIFFITHS; KLEYN, 2013; STEWART; TONG; WHITFELD, 2018).

O diagnóstico da psoríase é realizado por um médico dermatologista baseado nos achados clínicos e, na maioria dos casos, dispensa a biópsia cutânea. Como

ferramenta de auxílio para a avaliação da gravidade da doença, o especialista utiliza o Índice de Área e Gravidade da Psoríase (PASI – sigla em Inglês para *Psoriasis Area and Severity Index*). Durante a anamnese são conferidas pontuações de 0 a 6 para a porcentagem de área afetada e de 0 a 4 para a característica das lesões. O cálculo do PASI é, então, realizado por meio de uma equação onde quanto maior for o índice, maior será a gravidade da doença Sendo, PASI < 12 considerado uma psoríase de grau leve à moderado e PASI ≥ 12, grave.

(FREDRIKSSON; PETTERSSON, 1978).

A psoríase afeta homens e mulheres, igualmente, de qualquer idade e os dados epidemiológicos podem sofrer alterações de acordo com a população avaliada. Em uma revisão sistemática da literatura (MICHALEK; LORING; JOHN, 2017), que avaliou 68 artigos, a prevalência variou de 0,51% nos Estados Unidos (TAKESHITA et al., 2015) até 11,43% na Noruega (SPRINGATE et al., 2017). Esse mesmo estudo cita que, no Brasil, a prevalência é de 1,30% (FUJII et al., 2012). No entanto, os autores declararam que obtiveram dificuldades no levantamento desses dados estatísticos, uma vez que as populações utilizadas, as técnicas de análise de amostra e conceitos de prevalência divergiam entre os trabalhos publicados e podem ter contribuído para a discrepância de resultados encontrada nesses artigos. Além disso, a notificação de casos de psoríase não é obrigatória, o que compromete a confiabilidade dos índices epidemiológicos dessa doença.

O diagnóstico de psoríase expõe um problema de saúde física e também um comprometimento da saúde mental dos pacientes. O aspecto das lesões provocadas pelo acometimento da pele traz consequências psicológicas e ocasiona o afastamento das atividades laborais e do convívio familiar e social. Um estudo de coorte realizado com 75 pacientes holandeses avaliou o impacto da psoríase na qualidade de vida e o resultado demonstrou que o constrangimento sofrido por eles implica em redução na produtividade e em dificuldades no relacionamento interpessoal (BRONCKERS et al., 2018). Associado aos efeitos que a inflamação crônica do tecido cutâneo pode gerar ao organismo, o abalo emocional afasta o paciente da vida ativa, reduzindo hábitos saudáveis, como atividade física, além de provocar diversas comorbidades durante o curso da doença (TAKESHITA et al., 2017).

Dentre as comorbidades mais frequentes, a artrite psoriática (PsA) pode atingir cerca de 30% de pacientes com psoríase (MEASE et al., 2013). A PsA acomete as articulações, podendo causar erosão óssea e o agravamento da doença cutânea (BARNAS; RITCHLIN, 2015). No entanto, cerca de 15% dos casos de PsA não são diagnosticadas, o que evidencia a necessidade do trabalho conjunto entre dermatologistas e reumatologistas no reconhecimento de sinais e sintomas que possam apontar a coexistência dessas condições e otimizar o tratamento medicamentoso (VILLANI et al., 2015).

As doenças cardiovasculares (DCV) também são descritas na literatura como comorbidades frequentes em pacientes com psoríase. Estudos revelam que existe um maior risco de infarto agudo do miocárdio (IAM), hipertensão e acidente vascular cerebral (AVC) em indivíduos acometidos por essa enfermidade (ARMSTRONG; HASKAMP; ARMSTRONG, 2013; SAMARASEKERA et al., 2013). O desenvolvimento de DCV em pacientes com psoríase se dá, principalmente, por dois fatores: ter psoríase, ou seja, o próprio diagnóstico da doença aumenta o risco de DCV e obesidade. Ambas as doenças estão associadas a uma resposta inflamatória crônica que aumenta os eventos arterioscleróticos em pacientes e, por isso, são fatores de risco para o surgimento de DCVs (REICH, 2012).

A obesidade é um distúrbio metabólico recorrente na psoríase (KUMAR et al., 2012) que pode implicar no surgimento de síndrome metabólica (SM), diabetes mellitus (DM) tipo 2 e dislipidemia, além de DCVs (FERNÁNDEZ-ARMENTEROS et al., 2018). A resposta inflamatória crônica presente na psoríase possui efeitos sistêmicos e contribui para o aumento do tecido adiposo nos pacientes com a doença. As citocinas pró-inflamatórias produzidas durante a atividade da doença tem ação nos adipócitos, podendo alterar o metabolismo celular, o que influencia no ganho de massa corporal (JENSEN; SKOV, 2016). A obesidade, em si, também apresenta um estado inflamatório que, associado à psoríase, contribui para o surgimento de comorbidades e maior gravidade da doença (DUARTE et al., 2013).

Como a psoríase não tem cura, o tratamento tem como objetivo controlar os sintomas e reduzir o PASI e, dessa forma, melhorar a qualidade de vida do paciente. A terapêutica escolhida deve estar em concordância com o diagnóstico do tipo de psoríase, a adaptação do paciente e a gravidade da doença. O tratamento tópico é utilizado em casos de psoríase leve à moderada, mas pacientes com sintomas graves podem fazer uso em associação com outras terapias. Os medicamentos utilizados são: os corticosteroides, como a hidrocortisona, por até 8 semanas; o ditranol, um derivado de antraceno, utilizado sob supervisão médica; a vitamina D; o imunossupressor tacrolimus e o tazaroteno, um retinóide em forma de pomada. O tratamento de segunda linha compõe duas abordagens: a fototerapia e a terapia sistêmica. É utilizado em casos graves ou em casos que o tratamento tópico não tenha sido efetivo. A fototerapia com radiação ultravioleta (UV) pode ser utilizada em casos de psoríase vulgar e gutata, sendo combinada com o 5 ou 8 – metoxipsoraleno, também conhecido como PUVA (*Psolaren plus ultraviolet A*), um medicamento que aumenta a sensibilidade da pele aos raios UVA. A terapia sistêmica pode ser realizada utilizando três medicamentos: o metotrexato, um inibidor do metabolismo de ácido fólico; ciclosporina, um imunossupressor que inibe a síntese da Interleucina (IL) 2 e de seus receptores e a acitretina, um derivado da vitamina A, que reduz a escamação da pele. Por fim, o uso de

anticorpos monoclonais é adotado quando as lesões psoriáticas estão em áreas críticas, como o rosto, mãos e genitais. Os medicamentos escolhidos são: os inibidores do Fator de Necrose Tumoral (TNF – do inglês *Tumour Necrosis Factor*) (infliximab, etanercept e adalimumab); o ustekinumab, um anticorpo anti-IL-12 e anti-IL-23, e o secukinumab, um anticorpo anti-IL-17A (HIGGINS, 2017). Apesar de serem utilizados no tratamento da psoríase, alguns pacientes não apresentam uma resposta efetiva aos inibidores de TNF- α e o mecanismo pelo qual isso ocorre ainda não é totalmente compreendido. Acredita-se que o polimorfismo genético no gene que codifica o TNF- α e a produção de anticorpos contra os inibidores utilizados no tratamento estão entre as razões pelas quais esses medicamentos apresentam baixa efetividade (GIBELLINI et al., 2016).

1.2 A PELE SAUDÁVEL

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano cuja principal função é conferir proteção contra agressões externas. Além de impedir a entrada de microrganismos, o tecido cutâneo é responsável pela regulação da temperatura corporal e desempenha papel no metabolismo, como a produção de vitamina D. Afim de exercer suas funções, a pele conta com uma histologia rica, na qual as células estão distribuídas ao longo de três camadas: a epiderme, a derme e a hipoderme (A. MCGRATH; JOUNI, 2016) (FIGURA 1).

A epiderme é a camada mais externa da pele e é composta majoritariamente pelos queratinócitos, responsáveis pela proteção ao tecido. Os queratinócitos passam por um processo de diferenciação e o último estágio consiste na perda do núcleo e no envelopamento de sua estrutura celular, principalmente, pela queratina, o que os tornam impermeáveis e mais resistentes. Esse processo dura cerca de 40 dias, mas pode ser acelerado em caso de lesões ou doenças que afetam a pele. Além disso, outras células também estão presentes em menor quantidade nessa primeira camada, como as células de Langerhans (CL), os melanócitos e as células de Merkel (BARONI et al., 2012).

A derme é a camada intermediária da pele provém a sustentação da epiderme. Essa faixa da pele é composta por proteínas, como a elastina e o colágeno, por fibroblastos, glândulas sudoríparas e sebáceas, folículos pilosos e inervação. Ademais, a presença de vasos sanguíneos permite que células imunológicas sejam recrutadas durante um processo infeccioso ou inflamatório (LAI-CHEONG; MCGRATH, 2017). Em condições fisiológicas, a derme possui um tecido linfoide especializado chamado de Tecido Linfoide Associado à Pele (SALT – do inglês *Skin-Associated Lymphoid Tissue*) que desempenha a função de vigilância contra agressões externas e tolerância à microbiota da pele (EGAWA;

KABASHIMA, 2011). O conceito de SALT foi estabelecido em 1983 por Streilein. O autor acreditava que a pele continha células capazes de iniciar uma resposta imunológica *in situ*. Nesse contexto, o modelo proposto preconizava que células apresentadoras de antígenos (APC) na epiderme eram capazes de ativar os linfócitos T que chegavam à derme através dos vasos sanguíneos e se tornavam residentes no local (STREILEIN, 1983). Atualmente, a pele é reconhecida como um tecido imunocompetente que abriga componentes do sistema imune inato e adaptativo, formando uma complexa rede de proteção contra antígenos e danos causados ao tecido (EYERICH et al., 2018).

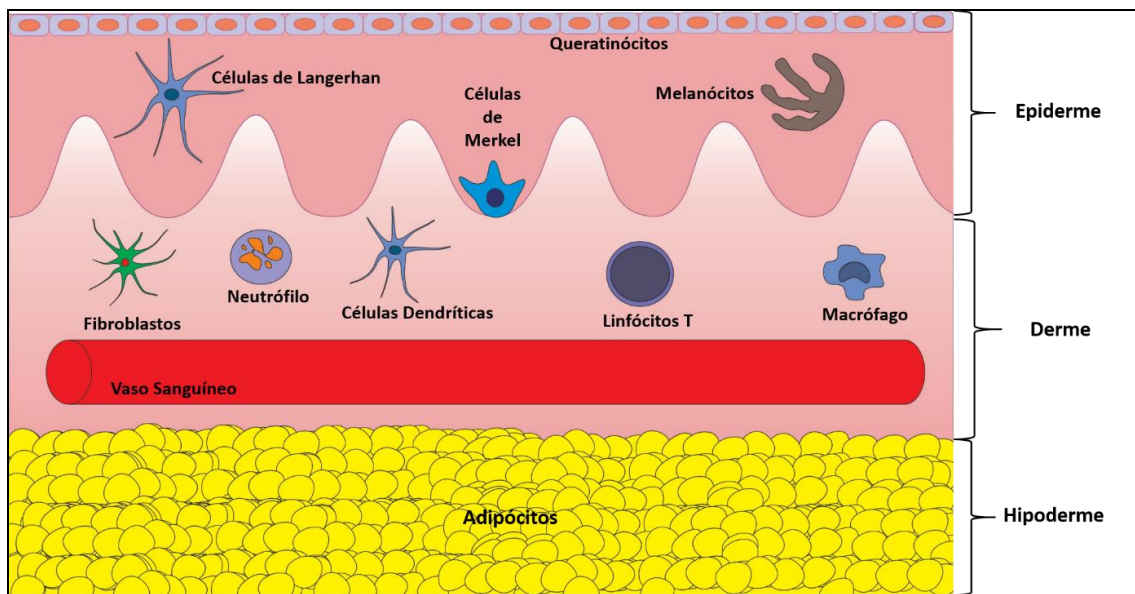


Figura 1: A estrutura do tecido cutâneo saudável. A pele é formada por três camadas: a epiderme, camada mais externa, onde são encontrados os queratinócitos, células de Langerhans, melanócitos e células de Merkel; a derme, camada intermediária, é formada por tecido conjuntivo. Nessa camada, encontra-se os fibroblastos, colágeno, elastina, inervações, glândulas sudoríparas e sebáceas e folículos pilosos. Além disso, linfócitos T residentes podem ser encontrados na derme e, através de vasos sanguíneos, outras células imunológicas chegam ao local durante a resposta inflamatória e; a camada mais interna é denominada hipoderme ou tecido adiposo e é formada pelos adipócitos. **Fonte:** o próprio autor.

A hipoderme é a camada mais profunda da pele e é constituída por células denominadas adipócitos. A principal função dos adipócitos é o armazenamento de energia em forma de ácidos graxos. A sua localização estratégica permite que esse tecido seja útil como isolamento térmico e proteção mecânica contra impactos (DRISKELL et al., 2014). Além disso, os adipócitos são responsáveis por produzir e secretar adipocinas como a adiponectina, a leptina, a quemerina e a resistina que exercem funções metabólicas e imunológicas no organismo (MATAFOME; SEIÇA, 2017).

1.3 FISIOPATOLOGIA DA PSORÍASE

Os mecanismos que envolvem a fisiopatologia da psoríase são complexos e contam com a participação de uma grande variedade de células e moléculas do sistema

imune inato e adaptativo. Comumente denominada como uma doença imuno – mediada, a psoríase é caracterizada como uma inflamação crônica que acomete a pele e, diferente do que ocorre com doenças como Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), Artrite Reumatóide (AR) e Esclerose Múltipla (EM), por exemplo, a palavra autoimune não acompanha sua definição. Isso se deve ao fato de que ainda há uma divergência em classificar essa doença como autoinflamatória ou autoimune (CHRISTOPHERS; METZLER; RÖCKEN, 2014; LIANG et al., 2017; RIVAS BEJARANO; VALDECANTOS, 2013).

As diferenças entre autoinflamação e autoimunidade são sutis, mas importantes para o entendimento e manejo de doenças inflamatórias. Na visão geral, as doenças autoinflamatórias (DAI) são aquelas cujo desenvolvimento é mediado pelo sistema imune inato e são caracterizadas por episódio de inflamação aguda mesmo na ausência de antígenos e autoantígenos. Já a autoimunidade (DA) tem como principal agente o sistema imune adaptativo e a produção de autoanticorpos contra estruturas do próprio organismo que, ao longo do tempo, causam lesão tecidual. Tanto na DA quanto na DAI, a reposta inflamatória localizada pode vir a ser tornar sistêmica (ARAKELYAN et al., 2017). No entanto, a análise da rede de citocinas demonstra que diferentes moléculas regem a fisiopatologia dessas duas classes de doenças. A formação de inflamassomas com a posterior produção de IL-1 β é documentada e caracteriza as DAI. No caso das DA, a IL-1 β e outras citocinas da resposta inata estão presentes, mas são os linfócitos T e B que conduzem a fisiopatologia da doença, com a ativação de seus receptores e produção de autoanticorpos, respectivamente (VAN KEMPEN et al., 2015).

O estudo do mecanismo patogênico da psoríase trouxe à luz a problemática na classificação dessa doença em DAI ou DA. Em geral, a complexidade da fisiopatologia atribui a essa doença o caráter heterogêneo. Alguns autores afirmam que a formação de inflamassomas, níveis elevados de IL-1 β e ausência de autoanticorpos específicos caracterizam a psoríase como DAI (CAI et al., 2018; RIVAS BEJARANO; VALDECANTOS, 2013). No entanto, a divergência ocorre quando outros autores afirmam: que são os linfócitos T auxiliares (Th – do inglês *T helper cell*) do tipo 1 e 17 que sustentam a resposta inflamatória iniciada pela IL-1 β (CHRISTOPHERS; METZLER; RÖCKEN, 2014) e; que durante o processo fisiopatológico, genes associados à psoríase são expressos tanto na imunidade inata quanto na adaptativa, essa ação conjunta predispõe ao surgimento da lesão psoriática e torna a doença uma mistura que envolve os dois eixos do sistema imunológico (LIANG et al., 2017). De fato, a fisiopatologia da psoríase envolve células epiteliais, inatas e adaptativas que formam uma rede de citocinas pró e anti-inflamatórias, orquestrando o desenvolvimento da doença e o surgimento das lesões psoriáticas.

Apesar da etiologia da psoríase ser desconhecida, sabe-se que os queratinócitos são ativados durante o processo patológico e respondem aos estímulos das

citocinas secretadas pelas células imunológicas, bem como as estimula também. O ciclo de renovação dos queratinócitos dura cerca de 28 dias, mas é acelerado durante o estado de doença, com o objetivo de curar o tecido lesado (WEBB; LI; KAUR, 2004). A ativação dos queratinócitos é uma etapa importante na fisiopatologia da psoríase. Essas células epiteliais são responsáveis pela produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias capazes de recrutar e ativar células imunológicas para a pele.

Durante um processo infeccioso ou lesivo, os queratinócitos secretam citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas que ativam e recrutam células imunológicas para o local da injúria. A célula dendrítica mielóide (mDC – do inglês *myeloid Dendritic Cells*) da pele também é denominada célula de Langerhan e é a principal célula ativada durante o processo fisiopatológico da psoríase, uma vez que é por meio dela que ocorre a diferenciação de Th1 e Th17. As mDC são APCs presentes na epiderme e, como tais, possuem a função de ativar a proliferação e diferenciação de linfócitos T CD (do inglês *Cluster of Differentiation*) 4 positivas (CD4+) ou auxiliares (LOWES; SUÁREZ-FARIÑAS; KRUEGER, 2014).

O microambiente das lesões psoriáticas apresenta altos níveis de TNF- α e Interferon – gama (IFN- γ), secretados pelos queratinócitos, que exercem uma sinalização autócrina e parácrina. Na autócrina, TNF- α e IFN- γ estimulam o próprio queratinócito a produzir citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β e IL-6, e quimiocinas, como a CCL (*Chemokine CC Ligand*) 20, que atrai linfócitos Th17, neutrófilos e células dendríticas para o local de sua secreção (KENNEDY-CRISPIN et al., 2012). Na parácrina, TNF- α e IFN- γ ativam o macrófago do tipo 1 (M1) e as mDC (CHIRICOZZI et al., 2011).

Utilizando os vasos linfáticos da derme, as mDC se encaminham aos linfonodos e apresentam antígenos aos linfócitos T virgens (ou *naïve*) também chamados de Th0, que se diferenciam em Th1 em um microambiente contendo IL-12 ou, em Th17 em um microambiente contendo IL-23, IL-6 e IL-1 β (KIM et al., 2014). Inicialmente, pensava-se que a inflamação crônica presente na psoríase era proveniente, apenas, da resposta Th1. No entanto, sabe-se que ocorre o envolvimento no processo fisiopatológico de células Th17 (OGAWA et al., 2018). Embora não seja atribuída a mesma importância às células Th22, essas também apresentam um importante papel na psoríase, uma vez que sua ativação e diferenciação aumentam a liberação de IL-22 no meio, induzindo a hiperplasia dos queratinócitos e ao aumento da taxa de renovação celular (EYERICH et al., 2018).

Orientados por quimiocinas, as células Th1, Th17, Th22 e polimorfonucleares (PMN), migram para a derme pela ligação às moléculas de adesão celular (MAC) presentes nas células endoteliais. A ativação do endotélio se dá por meio da ação de TNF- α e IL-6 que aumentam a expressão de MAC, tais como: ICAM-1 (*Intracellular Adhesion Molecule - 1*), VCAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule - 1*) e E-selectinas

(LEICK et al., 2014). Para atrair os leucócitos para a derme, os macrófagos ativados pelos queratinócitos produzem a quimiocina CXCL (*C-X-C Chemokine Ligand*) 8 ou IL-8, que se liga aos receptores leucocitários e cria um gradiente de concentração para direcionar as células até seu local de secreção, ou seja, o tecido cutâneo (RUSSO et al., 2014).

No interior do tecido epidérmico, todas as células imunológicas produzem e secretam as citocinas responsáveis pela sintomatologia da psoríase. As células Th1 secretam IL-2, TNF- α e IFN- γ , enquanto as Th17 secretam IL-6, IL-17, IL-21 e IL-22 (DAMSKER; HANSEN; CASPI, 2010). A resposta produzida por Th1 e Th17 estimula as células ao redor a produzirem mais citocinas lesivas ao epitélio em um *feedback* positivo, perpetuando a reação inflamatória e aumentando o infiltrado leucocitário no local (CHIRICOZZI et al., 2018). A FIGURA 2 demonstra a complexa rede de células e citocinas que estão envolvidas na resposta inflamatória presente na fisiopatologia da psoríase.

Além das mDC, outros componentes do sistema imune inato são ativados e estão presentes nas lesões psoriáticas. São eles: os M1, ativados pelos queratinócitos, são produtores de TNF- α , IL-1 β e IL-6 e da quimiocina IL-8 (CLARK; KUPPER, 2006); os neutrófilos, que são atraídos por CCL20 e por IL-8 e produzem IL-17 (KENNEDY-CRISPIN et al., 2012). Alguns estudos relataram que os neutrófilos secretam essa citocina através das armadilhas extracelulares de neutrófilos (NET – do inglês *Neutrophils Extracellular Traps*) (LIN et al., 2011); as células dendríticas plasmocitóides (pDC - do inglês *plasmacytoid Dendritic Cells*) podem ser ativadas por elementos celulares provenientes da lesão cutânea, como RNA e DNA, e secretam IFN- α e IFN- γ (LANDE et al., 2015); os mastócitos também são produtores de IL-17, além de produzirem IL-8 e IL-22, e são recrutados ao tecido junto com neutrófilos e pDCs (MASHIKO et al., 2015) e; por fim, as células *Natural Killers* (NK) também são encontradas nos locais de lesão e secretam de TNF- α , IFN- γ , IL-17 e IL-22 (SIMONI et al., 2013).

As citocinas pró-inflamatórias, produzidas no estado de doença, são capazes de inibir e reduzir a expressão das citocinas anti-inflamatórias. O TNF- α e a IL-6 são as principais citocinas envolvidas na supressão da resposta anti-inflamatória e responsáveis pela intensificação da inflamação crônica. A ação contínua dessas citocinas é um fator importante nos efeitos sistêmicos que a fisiopatologia da psoríase pode provocar, como o surgimento das comorbidades associadas à essa doença, tais como DCVs e obesidade. Tanto a IL-6 quanto o TNF- α promovem a ativação endotelial e a maior expressão de MACs e, por isso, o excesso dessas citocinas está envolvida no desenvolvimento de placas arterioscleróticas (KAUR; KINGO; ZILMER, 2017; SHI et al., 2014).

al., 2007). A função da Treg é regular a resposta imunológica inibindo a apresentação de antígenos realizada pelas DCs (Células Dendríticas – do inglês *Dendritic Cells*), subsequentemente, suprimindo a diferenciação de Th0 em Th1, Th17 e Th22 (SHEVACH, 2011).

A adiponectina é uma adipocina anti-inflamatória produzida pelos adipócitos cuja função é modular a resposta imunológica através da inibição de M1 e da secreção de IL-2, IL-6, TNF- α e IFN- γ e, subsequentemente, aumentar a expressão de IL-10 e M2 (LUO; LIU, 2016). A adiponectina circula em três formas moleculares diferentes, tais como a trimérica, hexamérica e de alto peso molecular. Esta última apresenta uma função metabólica por meio do aumento da oxidação de ácidos graxos e na redução da resistência à insulina (MATAFOME; SEIÇA, 2017). No entanto, a obesidade e a resposta inflamatória crônica são dois fatores que reduzem a produção de adiponectina (FRANCISCO et al., 2018a). Além de seu comportamento ser inversamente proporcional ao ganho de massa corporal, a obesidade é doença metabólica caracterizada por uma inflamação mediada por TNF- α e IL-6 (SHI et al., 2014). Essas citocinas pró-inflamatórias inibem a produção de adiponectina e, com isso, suas funções metabólicas e imunológicas são comprometidas (VERSINI et al., 2014).

O estudo da fisiopatologia da psoríase expõe a complexidade e a vasta quantidade de células e citocinas que promovem o processo inflamatório presente nessa doença. Apesar da variedade, são Th1 e Th17 que perpetuam a resposta pró-inflamatória lesiva à pele e são o pivô da fisiopatologia da psoríase, uma vez que as citocinas secretadas antes e depois do processo de diferenciação são importantes no mecanismo patogênico da doença (NESTLE et al., 2005).

1.3.1 Psoríase e as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias

A IL-1 β é uma citocina pró-inflamatória produzida, principalmente, pelos macrófagos M1 (GINHOUX et al., 2016). Estudos realizados com amostras de biópsia das lesões psoriáticas demonstraram que há um aumento na expressão gênica das citocinas da família IL-1 no tecido cutâneo durante a resposta inflamatória da psoríase (BALATO et al., 2013; COOPER et al., 1990; JOHNSTON et al., 2011). No entanto, os níveis plasmáticos dessas citocinas não refletem o aumento das mesmas no tecido epidérmico. Em uma revisão sistemática da literatura, Dowlatshahi e colaboradores (2013) não encontrou diferenças significativas nos níveis de IL-1 β em pacientes com psoríase quando comparados à controles saudáveis (DOWLATSHAHI et al., 2013). Apesar disso, Skendros e colaboradores, em 2017, reportaram um estudo realizado com um paciente diagnosticado com psoríase pustular. A terapia administrada foi uma dose mensal de 150 mg por via

subcutânea de canakinumab, um inibidor de IL-1 β . Até a data de publicação dos resultados, o paciente estava em tratamento por tempo superior a 1 ano, apresentando melhoras no quadro clínico. O resultado obtido por Skendros e colaboradores demonstra que a IL-1 β é uma importante citocina na resposta inflamatória da psoríase pustular (SKENDROS et al., 2017).

Além da IL-1 β , o TNF- α e a IL-6 estão associadas à fisiopatologia da psoríase. Em 2010, Takahashi e colaboradores realizaram um estudo na população japonesa, incluindo 128 pacientes com psoríase e 78 controles, para quantificar os níveis de séricos das citocinas envolvidas na doença. Tanto o TNF- α quanto a IL-6 apresentaram níveis mais elevados em pacientes quando comparados aos controles. Além disso, o TNF- α apresentou uma correlação positiva com o PASI (TAKAHASHI et al., 2010). Mais tarde, em 2013, o grupo de pesquisa de Dowlatshahi realizou uma revisão sistemática da literatura, seguida de uma meta-análise, onde reuniu 78 publicações sobre estudos de citocinas em psoríase. E, assim como Takahashi, encontrou que tanto o TNF- α quanto a IL-6 estavam aumentadas na psoríase (DOWLATSHAHI et al., 2013). No entanto, em ambos os estudos, a IL-1 β não mostrou diferença significativa entre pacientes e controle (DOWLATSHAHI et al., 2013; TAKAHASHI et al., 2010), o que evidencia que sua influência pode estar restrita a forma pustular da psoríase (SKENDROS et al., 2017).

Os efeitos de TNF- α são importantes na fisiopatologia da psoríase. Em 2017, Campanati e colaboradores realizaram um estudo na população italiana com 15 pacientes diagnosticados com psoríase de moderada à grave e 12 indivíduos controles. Os pacientes foram divididos de forma aleatória em dois grupos: um grupo fez uso de etanercept (inibidor de TNF- α) e o outro grupo fez uso de adalimumab (imunoglobulina humana anti-TNF), ambos por 12 semanas. As amostras de sangue foram colhidas antes do início do tratamento e ao final das 12 semanas. O resultado demonstrou que todos os pacientes que fizeram uso do inibidor de TNF- α apresentaram melhora no PASI. Além disso, a expressão dos genes de citocinas Th1 e Th2 estavam aumentados em pacientes com psoríase quando comparados aos controles e, após as 12 semanas, houve uma redução significativa na expressão desses genes. Aliado a esse resultado, o perfil Th2, representado pelas citocinas IL-2, IL-4 e IL-5, nesse estudo, mostraram um aumento na expressão gênica após o tratamento com o inibidor de TNF- α (CAMPANATI et al., 2017). Esses resultados, além de corroborar os estudos anteriores, evidenciam a importância do TNF- α na modulação da resposta imune na psoríase.

Como o estudo da fisiopatologia da psoríase sugere, as citocinas Th1 e Th17 desempenham um papel importante na doença (GREB et al., 2016). A IL-2 e a IL-12 são citocinas Th1 que estão presentes em níveis elevados na psoríase. O estudo de Takahashi (TAKAHASHI et al., 2010) também analisou os níveis séricos de IL-2 e IL-12 e,

apesar da IL-12 apresentar níveis séricos elevados, a IL-2 não mostrou resultados significativos. Corroborando os resultados da IL-12, Brito-Luna e colaboradores, em 2016, realizaram um estudo no México que contou com a participação de 85 indivíduos, onde 55 eram pacientes com psoríase (31 com SM e 24 sem SM); 16 indivíduos sem psoríase, com SM e; 14 indivíduos clinicamente saudáveis. O resultado demonstrou que em pacientes do grupo de psoríase sem SM e do grupo de indivíduos com SM, tanto a IL-12 quanto o TNF- α estavam significativamente elevados quando comparados ao controle. Além disso, pacientes com psoríase e SM apresentaram níveis de TNF- α aumentando, fomentando a participação dessa citocina em processos inflamatórios e no desenvolvimento de comorbidades (BRITO-LUNA et al., 2016).

Apesar dos resultados de Takahashi (TAKAHASHI et al., 2010), estudos demonstram que a IL-2, bem como a IL-12, também está aumentada em pacientes com psoríase. Em 2014, Bos e colaboradores reuniram 21 pacientes com psoríase, 30 com PsA e 26 indivíduos controles. A coleta de material biológico foi realizada para quantificação de citocinas Th1, Th2 e Th17, no entanto, apenas IL-2 (Th1) apresentou resultado significativo entre os grupos. O resultado demonstrou que a IL-2 estava significativamente elevada em pacientes com PsA quando comparados aos outros dois grupos. Já entre pacientes com psoríase e controles, essa diferença não foi observada. Demonstrando que a IL-2 é importante na diferenciação entre a psoríase e o desenvolvimento de sua comorbidade, a PsA (BOS et al., 2014). Aliado aos resultados da IL-2, Khandpur *et al.*, em 2017, realizaram um estudo que incluiu 30 pacientes com psoríase ativa, 30 com psoríase estável e 15 indivíduos controles. Os resultados expressaram que os níveis de IL-2 estavam mais elevados em pacientes com psoríase quando comparados aos controles, no entanto, não houve diferença significativa entre pacientes com psoríase ativa e estável (KHANDPUR et al., 2017).

A principal citocina Th17 envolvida na fisiopatologia da psoríase é a IL-17. Um estudo com pacientes turcos (n=70) e outro com pacientes japoneses (n=30) não demonstraram diferenças nos níveis séricos de IL-17 em pacientes com psoríase quando comparados com controles (NAKAJIMA et al., 2013; YILMAZ et al., 2012). No entanto, outros dois estudos direcionados à importância da IL-17 na psoríase obtiveram resultados significativos (COIMBRA et al., 2010; FOTIADOU et al., 2015). O estudo de Coimbra e colaboradores, em 2010, reuniu ao todo 54 participantes portugueses, sendo 34 pacientes com psoríase e 20 voluntários saudáveis. No grupo de pacientes, 17 receberam o tratamento fototerápico PUVA e os outros 17 receberam tratamento com ondas curtas de ultravioleta B (NB-UVB – do inglês *Narrow-Band Ultraviolet B*), ambos os grupos por 12 semanas. Antes do tratamento, as citocinas avaliadas pelo grupo (IL-22, IL-23, IL-17, IL-8, TNF- α) estão em altos níveis séricos em pacientes com psoríase quando comparados aos

controles. Após 12 semanas, ambos os tratamentos reduziram significativamente os níveis dessas (COIMBRA et al., 2010). Já Fotiadou e colaboradores realizaram um estudo na população grega com 35 pacientes com psoríase e 20 indivíduos controles. A IL-17 apresentou níveis mais elevados em pacientes do que em controles. Além disso, pacientes com doença ativa obtiveram níveis de IL-17 significativamente superiores aos pacientes com psoríase estável. Esse resultado corrobora a participação dessa citocina na fisiopatologia da psoríase (FOTIADOU et al., 2015).

Ainda que as citocinas pró-inflamatórias exerçam predominância no mecanismo patológico da psoríase, as citocinas anti-inflamatórias também são importantes para a regulação da resposta inflamatória. A IL-4 e a IL-10 são as principais citocinas da defesa anti-inflamatória e desempenham um papel importante na psoríase. Antiga e colaboradores, em 2012, realizaram um estudo randômico em que 14 pacientes com psoríase receberam etanercept, 12 pacientes com psoríase receberam acitretina, 10 indivíduos eram saudáveis e 6 tinham dermatite crônica. Após 12 semanas de tratamento, pacientes em uso de etanercept suprimiram a resposta Th17 e estimularam a IL-10 e, desta forma, apresentaram melhora no PASI (ANTIGA et al., 2012). Já em um estudo multicêntrico, duplo-cego e randômico realizado na Itália, Roberti e colaboradores (2014) administraram uma droga contendo IL-4, IL-10 e IL-11 a 23 pacientes e placebo a 18 pacientes, ambos diagnosticados com psoríase, por um período de 12 meses. Ao final de 1 ano, os pacientes que receberam a droga obtiveram uma melhora no PASI e relataram melhor qualidade de vida (ROBERTI et al., 2014).

Ao contrário da IL-4 e da IL-10, o TGF- β apresenta resultados contraditórios. Em 2002, Flisiak e colaboradores realizaram um estudo com 41 pacientes poloneses com psoríase e 13 controles saudáveis. Não houve diferença significativa nos níveis de TGF- β , no entanto, o mesmo foi associado ao PASI aumentado (FLISIAK et al., 2002). Por sua vez, Zaher *et al.*, realizaram um estudo com 10 pacientes de psoríase e 22 pacientes controles e também não encontraram diferenças significativas, no entanto, o TGF- β também foi relacionado com o PASI aumentado (ZAHER et al., 2009). Apesar disso, em 2003, Doi e colaboradores, coletaram 10 amostras de tecido normal e 21 amostras de lesões psoriáticas. A imunohistoquímica evidenciou que as amostras de pacientes com psoríase apresentavam redução nos níveis de TGF- β e de seus receptores. Os autores ainda argumentaram que essa redução nos níveis de TGF- β contribuiu para a hiperproliferação dos queratinócitos (DOI et al., 2003). Essa afirmação condiz com um estudo realizado por Di Fusco e colaboradores que argumentam que o TGF- β está, de fato, envolvido na regulação da proliferação dos queratinócitos (DI FUSCO et al., 2017).

1.3.2 Adiponectina

O estudo da associação dos níveis séricos de adiponectina na psoríase não é recente. Diversos autores relatam a importância dessa adipocina na resposta inflamatória que acomete os pacientes. Eder e colaboradores, em 2011, associaram a inflamação aos níveis reduzidos de adiponectina em pacientes com psoríase e SM. Um estudo transversal realizado no Canadá com 203 pacientes com PsA e 155 pacientes com psoríase e sem artrite associou a maior ocorrência de SM e menores níveis séricos de adiponectina em pacientes com PsA quando comparados àqueles que não tem artrite (EDER et al., 2013). Esse dado corrobora a atuação da adiponectina no desenvolvimento de comorbidades na psoríase (GERDES; ROSTAMI-YAZDI; MROWIETZ, 2011). Baran e colaboradores, em 2015, coletaram o material sanguíneo de 49 pacientes com psoríase e 16 controles saudáveis para avaliar os níveis séricos de adiponectina. O resultado demonstrou que pacientes com psoríase apresentavam uma redução de quase 2 vezes em relação aos controles saudáveis. E, apesar do resultado não ter sido significativo, os níveis de adiponectina eram mais reduzidos em pacientes cujo o PASI era maior. Além disso, houve uma correlação negativa com o índice de massa corporal (IMC) (BARAN et al., 2015).

Esses dados demonstram o comportamento inverso da adiponectina com relação ao ganho de massa corporal. Esse fato pode ser explicado pelo aumento do TNF- α proveniente da inflamação crônica apresentada pela doença e pela obesidade. Essa associação pode ser encontrada no estudo realizado por Campanati e colaboradores, em 2015, que analisaram os níveis de adiponectina de 47 pacientes com psoríase antes e depois de 12 semanas de tratamento com terapia anti-TNF e compararam os resultados com 39 controles saudáveis. Os resultados demonstraram que após a terapia, os níveis de adiponectina aumentaram significativamente nos pacientes com psoríase, apesar de ainda estarem mais reduzidos comparados aos controles. Além disso, o PASI dos pacientes apresentou uma melhora após o tratamento com TNF- α (CAMPANATI et al., 2015)(CAMPANATI et al., 2015). A relação inversa entre TNF- α e adiponectina também pode ser encontrada no estudo de Serefligan e colaboradores, em 2016. Quarenta e dois pacientes com psoríase e 42 indivíduos controles participaram do estudo, cujo objetivo era analisar os níveis séricos de TNF- α e adiponectina. Os resultados demonstraram que a adiponectina e o TNF- α apresentaram uma correlação com o PASI e os níveis de TNF- α estavam elevados e os de adiponectina estavam reduzidos em pacientes com psoríase comparados com os controles (SEREFLIGAN et al., 2016).

Os resultados obtidos por todos os estudos supracitados demonstram que, de fato, a adiponectina é uma citocina anti-inflamatória importante na fisiopatologia da psoríase e ajudam a corroborar os dados na literatura que associam a redução dos níveis de

adiponectina com a resposta inflamatória crônica nessa doença (FRANCISCO et al., 2018b; KYRIAKOU et al., 2017).

2 JUSTIFICATIVA

Até o presente momento, estudos que avaliaram os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias em indivíduos com psoríase apresentaram resultados conflitantes para as citocinas avaliadas. Além disso, há uma escassez de estudos que tenham avaliado o perfil de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias concomitantemente. É, também, escasso o número de estudos que tenham avaliado a adiponectina dentro do contexto do perfil anti-inflamatório e, não só, no seu envolvimento no surgimento de doenças cardiovasculares. Sendo assim, a avaliação do conjunto destas moléculas se faz necessária para o maior entendimento da fisiopatologia da psoríase.

Ressalta-se, ainda, que não há biomarcadores laboratoriais utilizados para o diagnóstico da psoríase, o que poderia auxiliar e complementar o diagnóstico clínico da doença. Desta forma, o melhor entendimento do envolvimento das citocinas na fisiopatologia da psoríase poderá contribuir para a descoberta de novos biomarcadores associados à doença assim como possíveis novos alvos terapêuticos.

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os perfis de citocinas pró- e anti-inflamatórias e determinar modelos preditores que auxiliem no diagnóstico de psoríase.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os níveis séricos das citocinas M1, Th1, Th2, Th17, Treg e adiponectina em pacientes com psoríase e controles saudáveis.
- Estabelecer os perfis de citocinas (pró- e anti-inflamatórias) que predominam em pacientes com psoríase.
- Propor modelos de predição de psoríase utilizando as citocinas avaliadas individualmente ou em perfis.

4 SUJEITOS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS

Este é um estudo caso-controle que incluiu 146 participantes de ambos os sexos, com idade entre 18 e 70 anos, sendo 70 pacientes com diagnóstico de psoríase (56 com psoríase em placa, 10 com PsA, 3 com psoríase em gutata e 1 com psoríase pustular) atendidos no Ambulatório de Dermatologia do Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário (AEHU) da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e 76 indivíduos saudáveis (grupo controle) selecionados entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Londrina. Os critérios de exclusão foram o paciente apresentar doenças tireoidianas, renais, adrenais, hepáticas, gastrointestinais, infecciosas, oncológicas e outras doenças autoimunes.

O diagnóstico de psoríase foi realizado pelo médico dermatologista de acordo com os critérios propostos pelo Consenso Brasileiro de Psoríase, elaborado pela Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) em 2012 (MAIA; TAKAHASHI; ROMITI, 2012). A gravidade da doença foi definida utilizando o PASI (ANEXO A) (FREDRIKSSON; PETTERSSON, 1978).

A realização dessa pesquisa seguiu as normas de boas práticas clínicas e foi conduzida de acordo com os princípios expressos na Declaração de Helsinki e suas alterações posteriores. O Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEL aprovou o estudo conforme o número CAAE: 51826215.0.0000.523, Número do Parecer: 1.556.235 de 23/05/2016 (ANEXO B). O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os indivíduos que aceitaram participar do estudo (APÊNDICE A).

4.2 DADOS DEMOGRÁFICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E ANTROPOMÉTRICOS

Os dados demográficos, epidemiológicos e antropométricos foram obtidos em uma consulta clínica realizada pelo médico dermatologista de acordo com uma ficha de avaliação (APÊNDICE B) estabelecida pelos pesquisadores.

Para os dados antropométricos foram registradas as seguintes informações: peso corporal, realizado em uma balança digital com precisão de 0,1 Kg no período da manhã e com os indivíduos vestidos roupas leves e sem sapatos; altura, mensurada por um estadiômetro com precisão de 0,1 cm; circunferência abdominal (CA), utilizando uma fita métrica na região entre a última costela e a crista ilíaca com os pacientes em pé e expresso em cm e o IMC foi calculado pela divisão entre o peso corporal e o quadrado da altura e expresso em Kg/m².

A pressão arterial foi aferida utilizando um esfigmomanômetro calibrado, no braço esquerdo dos pacientes, sentados, com no mínimo 5 minutos de repouso (PICKERING et al., 2005). O diagnóstico de hipertensão arterial foi estabelecido em pacientes cuja pressão arterial estava $\geq 140/90$ mmHg ou em uso de algum medicamento anti-hipertensivo (JAMES et al., 2014).

4.3 COLETA DE SANGUE E EXAMES BIOQUÍMICOS

Após jejum de 12 horas, os pacientes foram submetidos a uma coleta de material sanguíneo com punção venosa utilizando tubos estéreis (BD Vacutainer UltraTouch, Franklin Lakes, NJ, EUA) de coleta à vácuo sem e com anticoagulante contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). As amostras foram encaminhadas ao laboratório para a realização do cadastro, processamento, separação e armazenamento. O plasma foi aliqüotados em microtubos de centrifugação de 2 mL devidamente identificados com número e nome de cada paciente e armazenados em *freezer* -80°C até a realização da dosagem de citocinas.

Os níveis de glicose, colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL – do inglês *High Density Lipoprotein*), lipoproteína de baixa densidade (LDL – do inglês *Low Density Lipoprotein*) e triglicerídeos (TG) foram determinados por autoanalisador bioquímico (*Dimension Dade AR Dade Behring*, Deerfield, Illinois, EUA), utilizando *kits SIEMENS®*.

O diagnóstico de SM foi determinado utilizando o *Adult Treatment Panel III* (ATP III) (GRUNDY et al., 2005) sendo necessária a presença de 3 dos 5 critérios a seguir: 1) CA alterada (homens ≥ 94 cm e mulheres ≥ 80 cm); 2) hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dL ou utilização de algum medicamento para essa condição); 3) HDL em níveis séricos reduzidos (homens < 40 mg/dL e mulheres < 50 mg/dL); 4) pressão arterial elevada: pressão arterial sistólica (PAS ≥ 130 mm Hg), pressão arterial diastólica (PAD ≥ 85 mm Hg) ou utilização de algum medicamento anti-hipertensivo); glicemia de jejum aumentada (≥ 100 mg/dL) ou utilização de algum medicamento hipoglicemiante.

4.4 DOSAGEM DE CITOCINAS

Os níveis plasmáticos das citocinas pró-inflamatórias (IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, IL-17) e das anti-inflamatórias (IL-4, IL-10) foram determinados por imunofluorimetria utilizando o *Kit ProcartaPlex Human High Sensitivity Panel 9plex* (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Viena, Austria) para a análise simultânea das 9 citocinas e o TGF- β foi analisado pelo do *ProcartaPlex Human TGF beta 1 Simplex* (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Viena, Austria) ambas as técnicas para a plataforma

Luminex®. Os resultados foram expressos em pg/mL.

A análise dos níveis plasmáticos de adiponectina foi realizada através de um ensaio imunoenzimático de ELISA (do inglês – *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) utilizando o kit *Adiponectin/Acrp30 DuoSet*® (R&D Systems, Minneapolis, EUA). Os resultados foram expressos em µg/mL.

Após a dosagem, os níveis séricos de citocinas foram transformados nas mesmas escalas e unidades (escore Z) para comparação individual e criação de perfis: 1) Perfis pró-inflamatórios: M1 (IL-1β, IL-6, TNF-α), Th1 (IL-2, IL-12, IFN-γ), Th17 (IL-6, IL-17) e IRS (do inglês *Immune-inflammatory Response*) correspondendo a somatória dos perfis M1, Th1 e Th17; 2) Perfis anti-inflamatórios: Th2+Treg (IL-4, IL-10, TGF-β) e sistema anti-inflamatório (IL-4, IL-10, TGF-β, Adiponectina). Para verificar quais perfis predominam na doença foram estabelecidos os seguintes índices: (1) IRS/Th2+Treg: $(M1+Th1+Th17) - (IL-4+IL-10+TGF-β)$; (2) IRS/Anti-inflamatório: $(M1+Th1+Th17) - (IL-4+IL-10+TGF-β+Adiponectina)$.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância (ANOVA) e análise de tabelas de contingência (teste de Qui-quadrado) foram utilizadas para avaliar diferenças nos dados nominais e contínuos (demográficos e clínicos) entre os grupos de estudo. O coeficiente de correlação de Pearson e o Coeficiente de correlação de postos de Spearman foram utilizados para avaliar a relação entre variáveis. A análise multivariada foi realizada pelo do modelo linear geral (GLM) para avaliar o efeito das variáveis independentes nos níveis séricos de citocinas (variáveis dependentes), após o ajuste das variáveis confundidoras como a idade, sexo e IMC. Quando a análise de multivariada foi significativa, o teste de efeito entre sujeitos foi empregado para avaliar os efeitos das variáveis independentes significativas sobre as variáveis dependentes. A média marginal estimada do modelo generalizado, com desvio padrão (SD), foram computados. Os ajustes dos valores de p foram realizados utilizando a taxa de falsas descobertas (FDR) (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995). A regressão logística binária foi utilizada para delinear o preditor de psoríase mais importante (variável dependente) com os controles como grupo de referência e citocinas e perfil de citocinas como variáveis explanatórias. As redes neurais (perceptron multicamadas – MLP) foram utilizadas para avaliar as associações não-lineares entre os níveis de citocinas e o diagnóstico empregando uma arquitetura automatizada *feedforward*. Uma ou duas camadas ocultas foram consideradas com um número variável de nódulos (máximo 4). A taxa de predições incorretas e a matriz particionada foram computadas utilizando o conjunto treino, teste e *holdout* (taxa: 7/3/5, respectivamente). A área sob a curva ROC (AUC-ROC) e a

importância relativa das variáveis de entrada foram computadas através na análise de sensibilidade. Toda a análise estatística foi realizada através do IBM SPSS, versão 24. Os testes foram bicaudais, onde $\alpha = 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

De acordo com o proposto por Maes e Carvalho (MAES; CARVALHO, 2018), os escores z foram computados utilizando o perfil de citocinas Macrófago M1, Th1, Th2, Th17, Treg e citocinas anti-inflamatórias. Todos os dados de citocinas transformadas em logarítmico foram transformadas em unidades z (escore z com distribuição média = 0 e desvio padrão = 1 e utilizados na construção dos perfis abaixo:

- (1) Macrófago M1: valor z de IL-1 β (zIL-1 β) + zTNF- α + zIL-6;
- (2) Th17: zIL-6 + zIL-17
- (3) Th1: zIFN- γ + zIL-12 + zIL-2
- (4) IRS: z(zIL-1 β + zTNF- α + zIL-6+ zIL-17 + zIFN- γ + zIL-12 + zIL-2)
- (5) Th2 + Treg: zIL-4 + zIL-10 +zTGF- β
- (6) Índice Anti-inflamatório: zIL-4 + zIL-10 + zAdiponectina
- (7) IRS/Índice Anti-inflamatório: z(M1 + Th1 + Th17) – z(Índice Anti-inflamatório)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho foram apresentados e discutidos em um artigo científico intitulado: “**PROINFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINE PROFILES IN PSORIASIS: USE AS LABORATORY BIOMARKERS AND DISEASE PREDICTORS**” e será submetido à revista **IMMUNOLOGY AND CELL BIOLOGY**, com fator de impacto **3,795**.

PROINFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINE PROFILES IN PSORIASIS: USE AS LABORATORY BIOMARKERS AND DISEASE PREDICTORS

Camila Cataldi¹, Michael Maes^{2,3}, Andréa Name Colado Simão⁴.

¹Laboratory of Research in Applied Immunology, University of Londrina, Londrina, PR, Brazil

²IMPACT Strategic Research Centre, School of Medicine, Deakin University, Geelong, VIC, Australia.

³Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

⁴Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology, Laboratory of Research in Applied Immunology, University of Londrina, Londrina, PR, Brazil

* Corresponding author: Andréa Name Colado Simão.

Postal address: Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology – Rua Robert Koch, n 60. University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil. CEP: 86038-440. Tel.: +55- 43-3371-2321; Fax: +55-43-3371-2619.

ABSTRACT

The objectives of this study were to delineate the pro and anti-inflammatory cytokine profiles of psoriasis and cytokine profile models that externally validate the diagnosis. This study recruited 70 patients with psoriasis and 76 healthy controls. Cytokine profiles were evaluated, including pro-inflammatory M1 (IL-1+ IL-6+TNF- α), Th1 (IL-2+IL-12+IFN- γ), Th17 (IL-6+IL-17), and immune-inflammatory response system (IRS=M1+Th1+Th17) profiles. Moreover, the anti-inflammatory potential included Th2 (IL-4), Th2+T regulatory (Th2+Treg, namely IL-4+IL-10+TGF- β), anti-inflammatory (Th2+Treg+adiponectin), and the pro-inflammatory/anti-inflammatory index. There was a highly significant association between psoriasis and cytokine levels and the psoriasis explains 82.9% of their variance, with a particularly strong impact on IL-2 (46.3%), IL-12 (45.1%), IL-10 (53.2%), and adiponectin (40.1%). TGF- β and adiponectin were significantly lower while all other cytokines (except IFN- γ) were significantly higher in psoriasis than in controls. In addition, M1, Th1, Th17, Th2+Treg, and IRS/Anti-inflammatory index were significantly higher in psoriasis patients than in controls. The IRS index, Th2+Treg, and adiponectin predicted psoriasis with 97.1% sensitivity and 94% specificity. In conclusion, psoriasis is characterized by increased M1, Th1, Th2 and Th17 profiles together with lowered TGF- β and adiponectin. In addition, we propose a model based on a higher IRS and Th2+Treg index coupled with lower adiponectin values, which may be used to externally validate the diagnosis of psoriasis. The most important marker in psoriasis is adiponectin levels, which may play a role in the modulation of the chronic inflammatory response observed in psoriasis. Therefore, adiponectin could be a new drug target to treat psoriasis.

Key words: psoriasis; cytokines; adiponectin; inflammation.

INTRODUCTION

Psoriasis is an autoimmune disease characterized by chronic inflammation of the skin related to innate and adaptive immune responses. Plaque-type psoriasis or psoriasis vulgaris is the most common clinical manifestation, and its features include red and scaly plaques on the elbows, knees and scalp. Along with other autoimmune diseases, psoriasis is a multifactorial disorder and can be triggered by injury, trauma, infections and medications, as well as psychological stress¹.

Histological findings demonstrate epidermis hyperkeratinisation and leukocyte infiltration into the dermis, mainly formed by activated T cells². Although the recruitment and activation of T helper (Th) 1 and Th17 lymphocytes drive the pathogenesis of psoriasis, neutrophils, antigen-presentation cells (APCs), macrophages and keratinocytes contribute to the synthesis and secretion of cytokines. The presence of pro-inflammatory cells and their cytokines creates a damaging environment leading to the development and aggravation of psoriatic lesions³.

The cytokine profile of psoriasis is vast and complex. Interleukin (IL) 2, Tumour Necrosis Factor-alpha (TNF- α) and Interferon-gamma (IFN- γ) are produced by Th1 cells under the stimulation of IL-12. In the same way, IL-1 β and IL-6 are responsible for Th17 cell differentiation, which secretes IL-6, IL-17, IL-21 and IL-22. Previous studies showed that these cytokines are present in psoriatic lesions and that their serum levels correlate with severity of illness⁴. In addition, studies show that IL-4, produced by Th2 cells, may ameliorate the aspect of psoriasis lesions⁵ while suppressing pro-inflammatory responses and inhibiting IL-1 β , IL-6 and Th17 producing cells^{6,7}.

The chronic immune-inflammatory response observed in psoriasis patients is frequently associated with systemic comorbidities, including obesity and metabolic syndrome (MetS). MetS is a metabolic disorder generated by the combination of insulin resistance, obesity, hypertension and dyslipidemia⁸. The presence of MetS in patients with psoriasis is often reported and may be associated with the insulin resistance caused by the immune-inflammatory response that accompanies psoriasis⁹. Obese patients also have a Th1 response pattern, which adipocytes are responsible for the production of TNF- α and IL-6. The activity of these cytokines may provoke a decline in anti-inflammatory defenses, especially in adiponectin levels¹⁰.

Adiponectin is an adipokine that exerts anti-inflammatory effects in the immune system by inhibiting the activity and secretion of IL-2, IL-6, TNF- α and IFN- γ and enhancing the production of IL-10¹¹. The upregulation of anti-inflammatory cytokines can help restore the imbalance between Th1/Th17 and Th2 responses that affect patients with psoriasis¹².

Our research group has examined cytokine profiles in autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE) and observed that the immune response is driven by pro-inflammatory cytokines, including Th1 and Th17, which in addition was accompanied by lowered anti-inflammatory defenses. The evaluation of those cytokine profiles is useful to elucidate which profiles are dominant thereby characterizing the features of the disorder that influence disease activity and severity¹³. Nevertheless, studies that assessed cytokine levels in patients with psoriasis are quite scarce and these studies reported often controversial results on serum cytokine levels rather than cytokine profiles^{4,14,15}. As such it was difficult to pinpoint the pro-inflammatory versus anti-inflammatory balance in psoriasis. Finally, studies that have concomitantly evaluated those cytokines with adiponectin in psoriasis are also scarce, while there is insufficient information whether these cytokine or cytokine profiles may be used as laboratory biomarkers for psoriasis.

Hence, the main objective of this study is to evaluate cytokine profiles and the pro and anti-inflammatory index in psoriasis as well as to determine models of cytokine profiles, which could help to predict the diagnosis of psoriasis.

RESULTS

Demographic Data

Table 1 shows the socio-demographic and clinical data in both controls and patients with psoriasis. Patients with psoriasis were somewhat older, included more males and had a higher BMI than controls. Therefore, all results were adjusted for possible effects of age, sex, BMI, and other extraneous variables, using the latter as covariates in regression analyses. There were no significant differences in the ratio Caucasian versus non-Caucasian, smoking behavior, diabetes mellitus type 2 and hypertension between the study groups. The frequencies of MetS was somewhat higher in subjects with psoriasis than in controls. The median Psoriasis Area and Severity Index (PASI) value was 4.20 and interquartiles 25% and 75% were 1.50 and 9.50, respectively (data not shown). The frequency of drugs used in treatment of psoriasis was 25.71% for methotrexate (n=18), 18.6% for acitretin (n=13), 2.9% for ciclosporin (n=2), 20% for TNF- α inhibitor (n=14), 4.3% for anti-IL-12/IL-23 (n=3) and 40% for topic treatment (n=28) (data not shown).

Inspection of the intercorrelation matrix between all cytokines showed that (without p correction): a) IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IL-2, IL-17, IL-4 and IL-10 were strongly intercorrelated (all $r > 0.312$, $p < 0.001$, but most correlation coefficients were > 0.450 , n=139); b) IFN- γ was significantly related with IL-1 β ($r=0.285$, $p=0.001$, n=139), IL-6

($r=0.193$, $p=0.021$), IL-12 ($r=0.200$, $p=0.018$), IL-2 ($r=0.294$, $p<0.001$), IL-17 ($r=0.237$, $p=0.005$) and IL-4 ($r=0.184$, $p=0.030$); c) TGF- β was not associated with any of the other cytokines; and d) adiponectin levels were significantly and inversely related with TNF- α ($r=-0.426$, $p<0.001$, $n=138$), IL-12 ($r=-0.520$, $p<0.001$), IL-2 ($r=-0.286$, $p=0.001$), IL-17 ($r=-0.256$, $p=0.002$), IL-4 ($r=-0.286$, $p=0.001$) and IL-10 ($r=-0.518$, $p<0.001$). The intercorrelation matrix between the z unit composite scores showed (again without p correction) that a) M1 is correlated with Th1 ($r=0.673$, $p<0.001$), Th17 ($r=0.831$, $p<0.001$), Th2+Treg ($r=0.638$, $p<0.001$) and anti-inflammatory index ($r=0.498$, $p<0.001$, all $n=139$); b) Th1 with Th17 ($r=0.618$, $p<0.001$), Th2+Treg ($r=0.560$, $p<0.001$) and anti-inflammatory index ($r=0.387$, $p<0.001$); and c) Th17 with Th2+Treg ($r=0.632$, $p<0.001$, all $n=137$) and anti-inflammatory index ($r=0.554$, $p<0.001$). Likewise, the IRS index was significantly correlated with Th2+Treg ($r=0.664$, $p<0.001$) and with the anti-inflammatory index ($r=0.474$, $p<0.001$, all $n=137$).

Association Between Psoriasis And Cytokine Levels

Table 2 shows the outcome of a multivariate GLM analysis with the 11 cytokines levels as dependent variables and psoriasis, age, sex and BMI as covariates. The results show that there was a highly significant effect of psoriasis explaining 82.9% of the variance in the cytokine levels. Age, sex and BMI had no significant impact on cytokine levels in this analysis. Tests for between-subject effects show highly significant effects (all $p<0.001$) of psoriasis on all cytokines (except IFN- γ and TGF- β), with a particularly strong impact on IL-2, IL-12, IL-10, and adiponectin explaining 46.3%, 45.1%, 53.2% , and 40.1% of the variance, respectively. There was a modest association between TGF- β and psoriasis, explaining only 3.7% of the variance in TGF- β levels. There was no significant difference in IFN- γ levels between both study groups. All these differences remained significant after p-correction for FDR.

Table 3 shows the model-derived estimated marginal mean values of the 11 cytokines in controls and patients. **Figure 1A** shows the z transformed values of the 11 cytokines in both study groups. TGF- β and adiponectin were significantly lower in psoriasis than in controls, while all other cytokines (except IFN- γ) were significantly higher in psoriasis than in controls.

We have also examined the putative effects of other extraneous variables by entering these in the multivariate GLM analysis shown in Table 2. Thus, there were no significant effects of smoking ($F=1.05$, $df = 11/120$, $p=0.411$), MetS ($F=1.46$, $df=11/120$, $p=0.156$), diabetes mellitus type 2 ($F=0.76$, $df=11/107$, $p=0.680$) and hypertension ($F=0.80$, $df=11/107$, $p=0.636$). Moreover, there were no significant effects of topical treatments ($F=0.35$, $df = 11/119$, $p=0.971$) and immunomodulatory treatments (methotrexate,

cyclosporine and anti-TNF) and acitretin ($F=0.75$, $df=11/119$, $p=0.691$) on the 11 cytokines levels. As such, effects of the drug state of the patients on the results can be ruled out.

Association Between Psoriasis And Composite Scores

Table 4 shows the outcome of a multivariate GLM analysis with the 8 composite scores as dependent variables and psoriasis, age, sex, and BMI as covariates. The results show that there was a high effect of psoriasis explaining 56.8% of the variance in the composite scores. Tests for between-subject effects showed that all composite scores, except the anti-inflammatory index and IRS/Th2+Treg, were significantly different between both study groups. P-correction for FDR showed that those differences remained significant after p-correction (all $p < 0.001$).

Table 5 shows the model-generated estimated marginal mean values in both study groups and that M1, Th1, Th17, Th2+Treg and IRS/Anti-inflammatory index were significantly higher in psoriasis patients than in controls. **Figure 1B** shows the z transformed values of the different composite scores and shows the group means of the composite scores in both controls and patients with psoriasis in a distribution with mean 0 and $SD=1$.

Best Prediction of Psoriasis.

In order to examine which combination of cytokines or composite score best predict psoriasis, we have carried out binary logistic regression analyses with psoriasis as the dependent variable (and controls as the reference group). All cytokines or all composite scores (with adiponectin) were entered as explanatory variables. We found that 4 cytokines predicted psoriasis with a 100% sensitivity and specificity ($\chi^2=191.28$, $df=4$, $p < 0.001$, Nagelkerke=1.00), namely IL-17, IL-12, IL-2 and adiponectin. Unfortunately, the program does not allow to compute OR and CI intervals when there is a 100% prediction. **Table 6** shows the results of the second logistic regression analysis with the composite scores and adiponectin as input variables. We found that 3 variables predicted psoriasis with a 97.1% sensitivity and 94.0% specificity ($\chi^2=142.34$, $df=3$, $p < 0.001$, Nagelkerke=0.862), namely IRS index, Th2+Treg (both positively associated) and adiponectin (negatively associated).

Although the cytokines yielded a 100% correct prediction we have also performed a Neural Network analysis in order to examine the most significant features of psoriasis. Psoriasis and control groups were the output variables, while all 11 cytokines were the

input variables. Automatic architecture training of the network delineated the best model using 2 hidden layers. Hidden layer 1 contained 4 units and hidden layer 2 contained 3 units, and hyperbolic tangent was the activation function for the hidden layer, whereas identity was the activation function for the output layer. The sum of squares was used as the error function. The latter was lower in the testing set (0.238) as compared with the training set (0.533). The *per cent* incorrect predictions were 0% in the training, testing and holdout samples. **Figure 2** shows the importance chart with the importance and normalized importance of the 11 cytokines for psoriasis and controls. This figure shows that adiponectin is by far the dominant variable, followed at a distance by IL-10, IL-12 and IL-17.

DISCUSSION

The major finding of the present study is that there was a highly significant association between psoriasis and cytokine levels explaining 82.9% of their variance, with a particularly strong impact on IL-2 (46.3%), IL-12 (45.1%), IL-10 (53.2%), and adiponectin (40.1%). Of the 11 cytokines evaluated, TGF- β and adiponectin were significantly lower in psoriasis than in controls, while all other cytokines (except IFN- γ) were significantly higher in psoriasis than in controls. Our data demonstrated that lowered adiponectin is the most dominant feature of psoriasis followed at a distance by IL-10, IL-12 and IL-17. In addition, we propose a laboratory biomarker model to predict psoriasis with 97.1% sensitivity and 94% specificity.

Macrophages type 1 (M1) are characterized by the production of pro-inflammatory cytokines as IL-1, IL-6 and TNF- α ¹⁶. In the present study, serum levels of IL-1 β , TNF- α and IL-6 in patients with psoriasis were significant higher when compared with healthy controls. Our data are agreement with previous studies, which have demonstrated increased TNF- α and IL-6 levels^{14,17}. No other studies reported on increased IL-1 β serum levels in patients as compared to controls. However, Skendros et al (2017) found that IL-1 β inhibition therapy reduced the activity of the disease, suggesting that IL-1 β may play a role in generalized pustular psoriasis¹⁸. Hence, our outcome confirms the robust impact of Th1 and Th17 profile cytokines in the pathophysiology of psoriasis.

In the present study, IL-12 and IL-2, both Th1 cytokines, were increased in psoriasis patients. Macrophages and dendritic cells produce IL-12, which stimulates T effector cell differentiation into a pro-inflammatory Th1 response. Once activated, Th1 cells secrete cytokines which play a role in psoriasis pathophysiology, such as IFN- γ , TNF- α and IL-2¹⁹. IL-12 not only promotes a pro-inflammatory response, but also aggravates psoriatic lesions²⁰. Our data are in agreement with a previous study showing that IL-12 levels are increased in patients with psoriasis²¹. In contrast, the data on IL-2 are

controversial. Th1 cells produce and secrete IL-2 under the influence of IL-12. The major function of IL-2 is induction of the Th1 phenotype thereby producing IFN- γ , TNF- α and other pro-inflammatory cytokines, and activating Natural Killers (NK) cells²². Increased levels of IL-2 in peripheral blood of patients with psoriasis were reported before^{23,24}, although Takahashi et al (2010) showed no significant differences in the levels of IL-2 between psoriasis patients and healthy controls in a Japanese population. Genetic differences in study populations can explain, in part, the controversial data between our study and Takahashi's²⁰

The pathophysiological role of Th1 and Th17 phenotypes in psoriasis has been described previously¹. The differentiation of Th17 cells is mediated by IL-6 in an environment containing IL-23. Th17 is a pro-inflammatory phenotype that produces mainly IL-17 and stimulates the proliferation of keratinocytes and may worsen psoriatic lesions²⁵. Our study demonstrated that IL-17 levels are higher in patients than in healthy controls, corroborating the results of previous studies^{20,26,27}. Nevertheless, Nakajima et al (2013) and Yilmaz et al (2012) did not find significant differences in the levels of IL-17 between patients and controls^{28,29}. These contradictory results may be explained, in parts, by differences in cytokine assays, namely ELISA test versus the more sensitive Luminex technique used in the present study³⁰.

In order to interpret the cytokine profiles in psoriasis we have computed specific cytokine indices as explained before. Firstly, the cytokines values were transformed or standardized into z scores, which allows compare variables with different units or scales³¹. Secondly, z unit weighted composite scores were computed based on immune phenotype patterns including macrophage type 1 (M1), Th1 and Th17 phenotypes. This procedure revealed that the Th1 (IL-2, IL-12, IFN- γ), M1 (IL-1, IL-6, TNF- α) and Th17 (IL-6, IL-17) phenotypes are all strongly activated and interconnected in psoriasis. These data extent previous knowledge indicating a prominent role of the Th1³² and Th17 profiles and the maintenance of the inflammatory response by M1 macrophagic cytokines including IL-1 β , IL-6 and TNF- α ^{1,14,17}.

A major finding of the current study is that the anti-inflammatory profile (comprising IL-4, IL-10, TGF- β , and adiponectin) is significantly elevated in psoriasis and even significantly associated with the pro-inflammatory responses, including M1, Th1 and Th17, but that the inflammatory / anti-inflammatory index is significantly increased in psoriasis. The latter may be attributed to a relative deficiency in the anti-inflammatory profile, which in turn may be explained by lowered levels of TGF- β and adiponectin, but not IL-4 and IL-10, in psoriasis as compared with healthy controls.

The increased levels of IL-4 and IL-10 may be explained by a compensatory effect to control the primary immune-inflammatory process as part of the compensatory immune-

regulatory reflex system. Importantly, the regulatory cytokine IL-4 attenuates the immune-inflammatory response and may even aggravate psoriatic lesions⁵. IL-10 is another a negative immuno-regulatory cytokine³³ which may play a key role in psoriasis. For example, Asadullah et al (1998) proposed that IL-10 may attenuate T effector cell activation by suppressing antigen- presenting cells and that IL-10 may have antipsoriatic activity since its secretion is able to change the inflammatory pattern of psoriasis³⁴. This hypothesis is in agreement with other results linking diminished levels of IL-10 with severity of psoriasis^{20,35} or that IL-10 is decreased in patients with an increased PASI⁵ whilst patients with low PASI have higher IL-10 levels³⁶.

The results on TGF- β in psoriasis are controversial. TGF- β is a growth factor necessary for the differentiation of Treg cells and, consequently, for regulation of the immune response³⁷. Our data are in agreement with a previous study that also demonstrated lowered levels of TGF- β in patients with psoriasis³⁸. However, other two studies found no significant changes^{39,40}. Nevertheless, TGF- β may be important in the pathogenesis of psoriasis since this cytokine is able to regulate the proliferation of keratinocytes and therefore may improve psoriasis⁴¹. By inference, the lowered TGF- β levels observed here may negatively affect the outcome of psoriasis. In addition, reduced levels of TGF- β may reflect lower regulation of the immune response, which contributes to the maintenance of the inflammatory state.

Previous studies showed that the secretion of adiponectin is inversely related to serum levels of pro-inflammatory cytokines including TNF- α and IL-6^{42,43}. The decreased levels of adiponectin are often related to the development of obesity and MetS^{44,45}. However, our data show that the most important marker in psoriasis is lowered adiponectin levels, independently of obesity or MetS. These results extend those of previous studies showing lower adiponectin levels in patients than in controls, independently of obesity and cardiometabolic risk factors⁴⁶. Nevertheless, a meta-analysis did not find a significant difference in adiponectin levels between patients with psoriasis and controls¹⁵. These differences may be due to distinct study designs, differences in methodology used to measure adiponectin or the presence of confounding variables, such as genetic heterogeneity of individuals.

The main limitation is that this is a cross-sectional study, which does not allow make inferences on causal relationships. A second limitation is that the study sample included here shows a rather low disease activity as indicated by PASI values and, therefore, our findings may not be applicable to patients with more active disease. Further studies should be carried out in psoriasis patients with higher PASI score than this cohort showed in order to validate the cytokine profiles when the disease is more aggressive. However, the present study also has some strengths. To our knowledge, this is the first

study to evaluate cytokine in patients with psoriasis using the new z unit weighted composite scores reflecting cytokine profiles. Moreover, cytokines levels were evaluated with a Luminex[®] platform, a more sensitive technology than ELISA. Other strength is that this study combines a multivariate statistical approach, which allows controlling for many possible confounding variables including sex, age, MetS and body mass index (BMI).

In conclusion, increased M1, Th1, Th2 and Th17 profiles together with lowered TGF- β and adiponectin production were strongly associated with psoriasis. We propose a model based on a higher IRS and Th2+Treg index coupled with low adiponectin values, which may be used to externally validate the diagnosis of psoriasis. The key feature of psoriasis in the patients evaluated is lowered adiponectin, which may play a role in the modulation of the chronic inflammatory response observed in psoriasis. Therefore, adiponectin could be a new drug target to treat psoriasis.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

This study recruited 146 individuals. Seventy patients with psoriasis (56 with plaque-type psoriasis, 10 with psoriatic arthritis, 3 with gutate psoriasis) were selected from among the ambulatory of Dermatology of the University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil and 76 were healthy controls. The diagnostic was determined by clinical features and the disease activity was measured using Psoriasis Activity Severity Index (PASI)⁴⁷. MetS was defined following the Adult Treatment Panel III criteria⁴⁸. Inclusion criteria were patients of both sex and aged from 18 to 70 years old. Exclusion criteria were thyroid, adrenal, renal, hepatic, gastrointestinal, infectious, and oncological, another autoimmune disease, hormone replacement therapy and antioxidant supplements. Information on lifestyle factors and medical history was obtained at clinical evaluation. The individuals of both groups self-reported that they did not drink alcohol regularly. Sample collection and laboratorial analysis, as well as data evaluation, were performed in a blinded fashion. This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects/patients were approved by the Ethical Committee of the University of Londrina, Paraná, Brazil (CAAE: 51826215.0.000.5231). Written informed consent was obtained from all subjects.

Anthropometric and Blood Pressure Measurements

Anthropometric measurements were assessed. Body weight was measured to the nearest 0.1 kg in the morning by using an electronic scale, with individuals wearing light clothing and no shoes; height was measured to the nearest 0.1 cm by using a stadiometer. BMI was calculated as weight (kg) divided by height (m) squared. Waist circumference was measured on standing subjects midway between the lowest rib and the iliac crest. Three blood pressure measurements were taken with a calibrated sphygmomanometer and a 1-min interval between on the left arm of seated patients. Subjects with blood pressure $\geq 140/90$ mmHg or in the use of antihypertensive medications were considered to have arterial hypertension⁴⁹.

Cytokines Plasma Levels

After fasting for 12 h, venous blood was withdrawn with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) using sterile tubes (BD Vacutainer UltraTouch; Franklin Lakes, NJ, USA). Whole blood was centrifuged at 1500 r.p.m. for 10 min and plasma samples were separated and divided into aliquots and then stored at -80 °C for subsequent analysis. Levels of IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-12, IL-17, IL-1 β , IL-2, IL-4 and IL-6 were performed using ProcartaPlex Human High Sensitivity Panel 9plex (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Viena, Austria) and TGF- β was performed using ProcartaPlex Human TGF beta 1 Simplex (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Viena Austria) both techniques for Luminex[®] platform. Adiponectin levels were evaluated through enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique using Human Adiponectin/Acrp30 DuoSet[®] kit (R&D Systems, Minneapolis, USA).

Cytokines were analyzed individually and in profiles as follows: pro-inflammatory: M1 (IL-1+ IL-6+TNF- α), Th1 (IL-2+IL-12+IFN- γ), Th17 (IL-6+IL-17) and Immune – Inflammatory response system index (IRS=M1+Th1+Th17); anti-inflammatory: Th2 (IL-4), Th2+T regulatory (Treg) (IL-4+IL-10+TGF- β) and Anti-inflammatory (IL-4+IL-10+TGF- β +adiponectin); and two index to verify the predominant profile (pro or anti-inflammatory): IRS/Th2Treg and IRS/anti-inflammatory.

Statistical Analysis

We used analysis of variance (ANOVA) and analysis of contingency tables (X^2 test) to assess differences in scale or nominal data (either demographic or clinical) among

study groups. Pearson's product moment and Spearman's rank order correlation coefficients were used to assess relationships between variables. We used multivariate general linear model (GLM) analysis to check the effects of independent variables (e.g. diagnostic groups) on cytokine levels (dependent variables) after adjusting for extraneous variables including age, sex, and BMI. When the multivariate analysis was significant, we employed tests for between-subject effects to check the effects of the significant independent variables on the dependent variables. Model-generated estimated marginal mean values with SE were computed. We have p-corrected results of multiple comparisons using p-correction for false discovery rate (FDR)⁵⁰. Binary logistic regression analysis was used to delineate the most important predictors of psoriasis (dependent variable) with controls as reference groups and cytokines and cytokine profiles as explanatory variables. We used Neural Networks (multilayer perceptron, MLP) to assess non-linear associations between input (cytokine levels) and output (diagnosis) variables employing an automated feedforward architecture. We considered one or two hidden layers with a variable number of nodes (max 4). We computed the rate of incorrect predictions and the partitioned confusion matrix in a training, testing and holdout set (ratio: 7/3/5, respectively). The area under the receiving operating curve (AUC ROC) was computed as well as the (relative) importance of the input variables in sensitivity analyses. All statistical analyses were performed using IBM SPSS, Windows version 24. Tests were 2-tailed, and an alpha level of 0.05 indicated a statistically significant effect.

As explained by Maes and Carvalho³¹ we computed z unit weighted composite scores based on the known cytokine profiles of macrophage M1, Th1, Th2, Th17 and Treg and anti-inflammatory cytokines. All Ln-transformed cytokine data were z-transformed (z scores with a distribution with mean=0 and SD=1) and then used in the construction of composite scores as follows: 1) Macrophage M1 profile: z value of IL-1 β (zIL-1 β) + zTNF- α + zIL-6; 2) Th-17 profile: zIL-6 + zIL-17; 3) Th1 profile: zIFN- γ + zIL-12 + zIL-2; 4) IRS: z(zIL-1 β + zTNF- α + zIL-6 + zIL-17 + zIFN- γ + zIL-2 + zIL-12); 5) Th2 + Treg profile: zIL-4 + zIL-10 + zTGF- β ; 6) anti-inflammatory index: zIL-4 + zIL-10 + zTGF- β + zAdiponectin; 7) IRS/anti-inflammatory: z(M1 + Th17 +Th1) – z (anti-inflammatory index).

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no competing interests.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by grants from the Coordination for the Improvement of Higher Level of Education (CAPES) of the Brazilian Ministry of Education; we thank the University Hospital of State University of Londrina for technical support.

REFERENCES

- 1 Ogawa E, Sato Y, Minagawa A, Okuyama R. Pathogenesis of psoriasis and development of treatment. *J Dermatol* 2018; **45**: 264–272.
- 2 Deng Y, Chang C, Lu Q. The Inflammatory Response in Psoriasis: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2016; **50**: 377–389.
- 3 Kagami S, Rizzo HL, Lee JJ, Koguchi Y, Blauvelt A. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2010; **130**: 1373–83.
- 4 Cardoso PRG, Lima EV de A, Lima MM de A, Rêgo MJB de M, Marques CDL, Pitta I da R *et al.* Clinical and cytokine profile evaluation in Northeast Brazilian psoriasis plaque-type patients. *Eur Cytokine Netw* 2016; **27**: 1–5.
- 5 Roberti ML, Ricottini L, Capponi A, Sclauzero E, Vicenti P, Fiorentini E *et al.* Immunomodulating treatment with low dose interleukin-4, interleukin-10 and interleukin-11 in psoriasis vulgaris. *J Biol Regul Homeost Agents* 2014; **28**: 133–9.
- 6 Onderdijk AJ, Baerveldt EM, Kurek D, Kant M, Florencia EF, Debets R *et al.* IL-4 Downregulates IL-1 β and IL-6 and Induces GATA3 in Psoriatic Epidermal Cells: Route of Action of a Th2 Cytokine. *J Immunol* 2015; **195**: 1744–52.
- 7 Guenova E, Skabytska Y, Hoetzenecker W, Weindl G, Sauer K, Tham M *et al.* IL-4 abrogates T(H)17 cell-mediated inflammation by selective silencing of IL-23 in antigen-presenting cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; **112**: 2163–8.
- 8 Takeshita J, Grewal S, Langan SM, Mehta NN, Ogdie A, Van Voorhees AS *et al.* Psoriasis and comorbid diseases: Epidemiology. *J Am Acad Dermatol* 2017; **76**: 377–390.
- 9 Caso F, Del Puente A, Oliviero F, Peluso R, Girolimetto N, Bottiglieri P *et al.* Metabolic syndrome in psoriatic arthritis: the interplay with cutaneous involvement. Evidences from literature and a recent cross-sectional study. *Clin Rheumatol* 2018; **37**: 579–586.
- 10 Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; **121**: 326–30.
- 11 Versini M, Jeandel P-Y, Rosenthal E, Shoenfeld Y. Obesity in autoimmune diseases: not a passive bystander. *Autoimmun Rev* 2014; **13**: 981–1000.
- 12 Campanati A, Orciani M, Consales V, Lazzarini R, Ganzetti G, Di Benedetto G *et al.* Characterization and profiling of immunomodulatory genes in resident mesenchymal stem cells reflect the Th1-Th17/Th2 imbalance of psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2014; **306**: 915–20.
- 13 Guimarães PM, Scavuzzi BM, Stadtlober NP, Franchi Santos LFDR, Lozovoy MAB, Iriyoda TMV *et al.* Cytokines in systemic lupus erythematosus: far beyond Th1/Th2 dualism lupus: cytokine profiles. *Immunol Cell Biol* 2017; **95**: 824–831.

- 14 Dowlatshahi EA, van der Voort EAM, Arends LR, Nijsten T. Markers of systemic inflammation in psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol* 2013; **169**: 266–82.
- 15 Zhu K-J, Shi G, Zhang C, Li M, Zhu C-Y, Fan Y-M. Adiponectin levels in patients with psoriasis: a meta-analysis. *J Dermatol* 2013; **40**: 438–42.
- 16 Ginhoux F, Schultze JL, Murray PJ, Ochando J, Biswas SK. New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function. *Nat Immunol* 2016; **17**: 34–40.
- 17 Campanati A, Orciani M, Lazzarini R, Ganzetti G, Consales V, Sorgentoni G *et al.* TNF- α inhibitors reduce the pathological Th 1 -Th 17 /Th 2 imbalance in cutaneous mesenchymal stem cells of psoriasis patients. *Exp Dermatol* 2017; **26**: 319–324.
- 18 Skendros P, Papagoras C, Lefaki I, Giatromanolaki A, Kotsianidis I, Speletas M *et al.* Successful response in a case of severe pustular psoriasis after interleukin-1 β inhibition. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 212–215.
- 19 Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med* 2007; **13**: 139–45.
- 20 Takahashi H, Tsuji H, Hashimoto Y, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Serum cytokines and growth factor levels in Japanese patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 2010; **35**: 645–9.
- 21 Brito-Luna MJ, Villanueva-Quintero DG, Sandoval-Talamantes AK, Fafutis-Morris M, Graciano-Machuca O, Sanchez-Hernandez PE *et al.* Correlation of IL-12, IL-22, and IL-23 in patients with psoriasis and metabolic syndrome. Preliminary report. *Cytokine* 2016; **85**: 130–6.
- 22 Pietrzak A, Zalewska A, Chodorowska G, Nockowski P, Michalak-Stoma A, Osemlak P *et al.* Genes and structure of selected cytokines involved in pathogenesis of psoriasis. *Folia Histochem Cytobiol* 2008; **46**: 11–21.
- 23 Bos F, Capsoni F, Molteni S, Raeli L, Diani M, Altomare A *et al.* Differential expression of interleukin-2 by anti-CD3-stimulated peripheral blood mononuclear cells in patients with psoriatic arthritis and patients with cutaneous psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 2014; **39**: 385–90.
- 24 Khandpur S, Gupta V, Das D, Sharma A. Is there a correlation of serum and tissue T helper-1 and -2 cytokine profiles with psoriasis activity and severity? A cross-sectional study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2017; **84**: 414–418.
- 25 Lynde CW, Poulin Y, Vender R, Bourcier M, Khalil S. Interleukin 17A: toward a new understanding of psoriasis pathogenesis. *J Am Acad Dermatol* 2014; **71**: 141–50.

- 26 Coimbra S, Oliveira H, Reis F, Belo L, Rocha S, Quintanilha A *et al.* Interleukin (IL)-22, IL-17, IL-23, IL-8, vascular endothelial growth factor and tumour necrosis factor- α levels in patients with psoriasis before, during and after psoralen-ultraviolet A and narrowband ultraviolet B therapy. *Br J Dermatol* 2010; **163**: 1282–90.
- 27 Fotiadou C, Lazaridou E, Sotiriou E, Gerou S, Kyrgidis A, Vakirlis E *et al.* IL-17A, IL-22, and IL-23 as Markers of Psoriasis Activity: A Cross-sectional, Hospital-based Study. *J Cutan Med Surg* 2015; **19**: 555–60.
- 28 Nakajima H, Nakajima K, Tarutani M, Sano S. Clear association between serum levels of adipokines and T-helper 17-related cytokines in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 2013; **38**: 66–70.
- 29 Yilmaz SB, Cicek N, Coskun M, Yegin O, Alpsoy E. Serum and tissue levels of IL-17 in different clinical subtypes of psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2012; **304**: 465–9.
- 30 Elshal MF, McCoy JP. Multiplex bead array assays: performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. *Methods* 2006; **38**: 317–23.
- 31 Maes M, Carvalho AF. The Compensatory Immune-Regulatory Reflex System (CIRS) in Depression and Bipolar Disorder. *Mol Neurobiol* 2018; : 1–19.
- 32 Quaglino P, Bergallo M, Ponti R, Barberio E, Cicchelli S, Buffa E *et al.* Th1, Th2, Th17 and regulatory T cell pattern in psoriatic patients: modulation of cytokines and gene targets induced by etanercept treatment and correlation with clinical response. *Dermatology* 2011; **223**: 57–67.
- 33 Mavropoulos A, Varna A, Zafiriou E, Liaskos C, Alexiou I, Roussaki-Schulze A *et al.* IL-10 producing Bregs are impaired in psoriatic arthritis and psoriasis and inversely correlate with IL-17- and IFN γ -producing T cells. *Clin Immunol* 2017; **184**: 33–41.
- 34 Asadullah K, Sterry W, Stephanek K, Jasulaitis D, Leupold M, Audring H *et al.* IL-10 is a key cytokine in psoriasis. Proof of principle by IL-10 therapy: a new therapeutic approach. *J Clin Invest* 1998; **101**: 783–94.
- 35 Jin S-P, Koh S-J, Yu D-A, Kim M-W, Yun HT, Lee DH *et al.* Imiquimod-applied Interleukin-10 deficient mice better reflects severe and persistent psoriasis with systemic inflammatory state. *Exp Dermatol* 2018; **27**: 43–49.
- 36 Antiga E, Volpi W, Cardilicchia E, Maggi L, Fili L, Manuelli C *et al.* Etanercept downregulates the Th17 pathway and decreases the IL-17+/IL-10+ cell ratio in patients with psoriasis vulgaris. *J Clin Immunol* 2012; **32**: 1221–32.
- 37 Han G, Williams CA, Salter K, Garl PJ, Li AG, Wang X-J. A role for TGF β signaling in the pathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol* 2010; **130**: 371–7.
- 38 Doi H, Shibata M-A, Kiyokane K, Otsuki Y. Downregulation of TGF β isoforms and their receptors contributes to keratinocyte hyperproliferation in psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 2003; **33**: 7–16.

- 39 Flisiak I, Chodynicka B, Porebski P, Flisiak R. Association between psoriasis severity and transforming growth factor beta(1) and beta (2) in plasma and scales from psoriatic lesions. *Cytokine* 2002; **19**: 121–5.
- 40 Zaher H, Shaker OG, EL-Komy MHM, El-Tawdi A, Fawzi M, Kadry D. Serum and tissue expression of transforming growth factor beta 1 in psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; **23**: 406–9.
- 41 Di Fusco D, Laudisi F, Dinallo V, Monteleone I, Di Grazia A, Marafini I *et al.* Smad7 positively regulates keratinocyte proliferation in psoriasis. *Br J Dermatol* 2017; **177**: 1633–1643.
- 42 Sereflican B, Goksugur N, Bugdayci G, Polat M, Haydar Parlak A. Serum Visfatin, Adiponectin, and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Levels in Patients with Psoriasis and their Correlation with Disease Severity. *Acta Dermatovenerol Croat* 2016; **24**: 13–9.
- 43 Gerdes S, Rostami-Yazdi M, Mrowietz U. Adipokines and psoriasis. *Exp Dermatol* 2011; **20**: 81–7.
- 44 Baran A, Flisiak I, Jaroszewicz J, Świdarska M. Effect of psoriasis activity on serum adiponectin and leptin levels. *Adv Dermatology Allergol* 2015; **2**: 101–106.
- 45 Eder L, Jayakar J, Pollock R, Pellett F, Thavaneswaran A, Chandran V *et al.* Serum adipokines in patients with psoriatic arthritis and psoriasis alone and their correlation with disease activity. *Ann Rheum Dis* 2013; **72**: 1956–61.
- 46 Li RC, Krishnamoorthy P, DerOhannessian S, Doveikis J, Wilcox M, Thomas P *et al.* Psoriasis is associated with decreased plasma adiponectin levels independently of cardiometabolic risk factors. *Clin Exp Dermatol* 2014; **39**: 19–24.
- 47 Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 1978; **157**: 238–44.
- 48 Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; **112**: 2735–52.
- 49 James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J *et al.* 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA* 2014; **311**: 507–20.
- 50 Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J R Stat Soc Ser B* 1995; **57**: 289–300.

Table 1 - Sociodemographic data in both healthy controls and patients with psoriasis.

Variables	Controls (n=76)	Psoriasis (n=70)	F/X²	df	p value
Age (years)	46.0 (8.7)	53.1 (12.6)	15.63	1/144	<0.001
Sex (F/M)	58/18	31/39	15.71	1	<0.001
BMI (kg/m ²)	25.9 (4.3)	29.7 (6.2)	19.31	1/142	<0.001
Ethnicity (C/NC)	57/19	60/10	2.63	1	0.104
Smoking (Yes/No)	08/68	15/55	3.26	1	0.071
DM II (Yes/No)	11/52	15/55	0.33	1	0.564
Hypertension (Yes/No)	14/47	25/45	2.54	1	0.111
MetS (Yes/No)	20/55	31/39	4.93	1	0.026

t Student Test. Results are shown as mean (\pm SEM). F: Female, M: Male, BMI: Body Mass Index, C: Caucasian, NC: Not Caucasian, DM: Diabetes mellitus, MetS: Metabolic Syndrome.

Table 2 – Outcome of a multivariate GLM analysis with the 11 cytokines levels as dependent variables and psoriasis, age, sex and body mass index (BMI) as covariates.

Type Tests	Dependent Variables	Explanatory Variables	F	df	P value	Partial Eta Squared
Multivariate	All 11 cytokines	Psoriasis	53.34	11/121	<0.001	0.829
		Age	0.80	11/121	0.639	0.068
		Sex	0.69	11/121	0.747	0.059
		BMI	0.59	11/121	0.838	0.050
Between-subject effects	IL-1 β	Psoriasis	14.91	1/131	<0.001	0.102
	IL-6	Psoriasis	6.13	1/131	0.015	0.045
	TNF- α	Psoriasis	6.89	1/131	0.010	0.050
	IL-12	Psoriasis	107.71	1/131	<0.001	0.451
	IFN- γ	Psoriasis	0.01	1/131	0.915	0.001
	IL-2	Psoriasis	113.16	1/131	<0.001	0.463
	IL-17	Psoriasis	12.24	1/131	0.001	0.085
	IL-4	Psoriasis	25.89	1/131	<0.001	0.165
	IL-10	Psoriasis	148.81	1/131	<0.001	0.532
	TGF- β	Psoriasis	5.00	1/131	0.027	0.037
	Adiponectin	Psoriasis	87.86	1/131	<0.001	0.401

All cytokine data are processed in Ln transformation. BMI: Body Mass Index, IL: Interleukin, TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha, IFN- γ : Interferon gamma, TGF- β : Transforming Growth Factor beta.

Table 3 - Model-derived estimated marginal mean values of the 11 cytokines in controls and patients with psoriasis.

Variables	Controls	Psoriasis
IL-1 β	-0.367 (0.130)	+0.360 (0.119)
IL-6	-0.233 (0.134)	+0.250 (0.123)
TNF- α	-0.246 (0.132)	+0.259 (0.122)
IL-12	-0.706 (0.094)	+0.719 (0.087)
IFN- γ	+0.022 (0.139)	+0.044 (0.128)
IL-2	-0.745 (0.095)	+0.728 (0.088)
IL-17	-0.322 (0.133)	+0.356 (0.123)
IL-4	-0.474 (0.124)	+0.446 (0.114)
IL-10	-0.771 (0.087)	+0.776 (0.080)
TGF- β	+0.230 (0.139)	-0.221 (0.128)
Adiponectin	+0.684 (0.102)	-0.701 (0.093)

IL: Interleukin, TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha, IFN- γ : Interferon gamma, TGF- β : Transforming Growth Factor beta.

Table 4 - Outcome of a multivariate GLM analysis with the 8 composite scores as dependent variables and psoriasis, age, sex and BMI as covariates.

Type Tests	Dependent Variables	Explanatory Variables	F	df	p value	Partial eta squared
Multivariate	All 8 scores	Psoriasis	27.64	6/126	<0.001	0.568
		Age	1.20	6/126	0.309	0.054
		Sex	0.39	6/126	0.887	0.018
		BMI	0.73	6/126	0.624	0.034
Between-subject effect	M1	Psoriasis	17.49	1/131	<0.001	0.118
	Th1	Psoriasis	54.20	1/131	<0.001	0.293
	Th17	Psoriasis	12.65	1/131	0.001	0.088
	IRS	Psoriasis	40.94	1/131	<0.001	0.238
	Th2+Treg	Psoriasis	39.79	1/131	<0.001	0.233
	Anti-inflammatory	Psoriasis	3.08	1/131	0.082	0.023
	IRS/Th2+Treg	Psoriasis	0.01	1/131	0.924	0.000
	IRS/Anti-inflammatory	Psoriasis	14.56	1/131	<0.001	0.100

BMI: Body Mass Index, M1: Macrophage type 1, Th: Lymphocyte T helper, IRS: Immune-inflammatory Response System, Treg: Regulatory T cells.

M1: computed as z interleukin-1 (zIL-1) + zIL-6 + zTNF- α

Th1: zIL-2 + zIL-12 + zINF- γ

Th17: computed as zIL-6 + IL-17

IRS: computed as z (sum of all cytokines in M1 + Th1 + zTh17 profiles)

Th2+Treg: computed as zIL-4 + zIL-10 + zTGF- β

Anti-inflammatory computed as: zIL-4 + zIL-10 + zTGF- β + zAdiponectin

IRS/Th2+Treg: zIRS - z (zIL-4 + zIL-10 + zTGF- β)

IRS/Anti-inflammatory: zIRS - z (zIL-4 + zIL-10 + zTGF- β + zAdiponectin)

Table 5 - Model-generated estimated marginal mean values of macrophagic M1, T helper (Th)1, Th17, Th2+T regulatory (Treg), anti-inflammatory profiles and their ratios in patients with psoriasis and controls.

Variables	Controls	Psoriasis
M1	-0.375 (0.125)	+0.384 (0.115)
Th1	-0.582 (0.111)	+0.606 (0.102)
Th17	-0.325 (0.131)	+0.354 (0.121)
IRS	-0.523 (0.115)	+0.547 (0.106)
Th2+Treg	-0.542 (0.115)	+0.512 (0.106)
Anti-inflammatory	-0.331 (0.247)	+0.300 (0.227)
IRS/Th2+Treg	+0.00 (0.141)	+0.021 (0.130)
IRS/Anti-inflammatory	-0.334 (0.130)	+0.389 (0.120)

M1: Macrophage type 1, Th: Lymphocyte T helper, IRS: Immune-inflammatory Response System, Treg: Regulatory T cells

M1: computed as z interleukin-1 (z IL-1) + z IL-6 + z TNF- α

Th1: z IL-2 + z IL-12 + z INF- γ

Th17: computed as z IL-6 + IL-17

IRS: computed as z (sum of all cytokines in M1 + Th1 + z Th17 profiles)

Th2 + Treg: computed as z IL-4 + z IL-10 + z TGF- β

Anti-inflammatory computed as: z IL-4 + z IL-10 + z TGF- β + z Adiponectin

IRS/Th2+Treg: z IRS - z (z IL-4 + z IL-10 + z TGF- β)

IRS/Anti-inflammatory: z IRS - z (z IL-4 + z IL-10 + z TGF- β + z Adiponectin)

Table 6 - Binary logistic regression analyses with psoriasis as the dependent variable (and controls as the reference group) and the composite scores and adiponectin as input variables.

Explanatory Variables	Wald	df	P	OR	95% CI
IRS	8.32	1	0.004	1.68	1.68-15.20
Th2 + Treg	5.53	1	0.019	1.27	1.28-14.44
Adiponectin	22.66	1	<0.001	0.002	0.002-0.072

IRS: Immune-inflammatory Response System, Th: Lymphocyte T helper, Treg: Regulatory T cells

IRS: computed as $z(\text{sum of all cytokines in M1} + \text{Th1} + z\text{Th17 profiles})$

M1: computed as $z \text{ interleukin-1 (zIL-1)} + z\text{IL-6} + z\text{TNF-}\alpha$

Th1: $z\text{IL-2} + z\text{IL-12} + z\text{INF-}\gamma$

Th17: computed as $z\text{IL-6} + \text{IL-17}$

Th2 + Treg: computed as $z\text{IL-4} + z\text{IL-10} + z\text{TGF-}\beta$

Predicted psoriasis with a 97.1% sensitivity and 94.0% specificity ($\chi^2=142.34$, $df=3$, $p<0.001$, Nagelkerke=0.862)

FIGURES

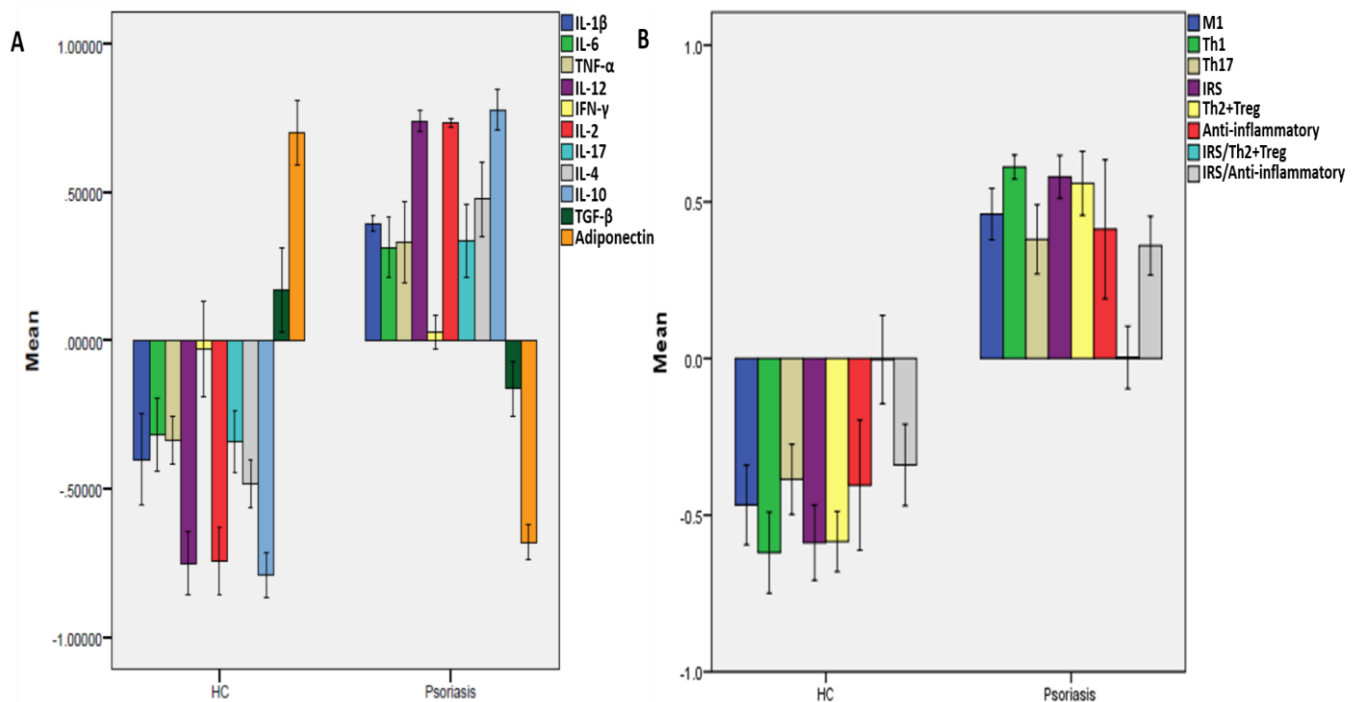


Fig.1. A) Z transformed values of the 11 cytokines in patients with psoriasis and healthy control (HC). B) Z transformed values in patients and HC. IL, Interleukin; TNF- α , Tumour Necrosis Factor - alpha; IFN- γ , Interferon-gamma; TGF- β , Transforming Growth Factor-beta; M1, Macrophage 1; Th, Lymphocyte T helper cell; IRS, Immune-inflammatory Response System; Treg, Lymphocyte regulatory T cell; Anti-inflammatory, Anti-inflammatory System.

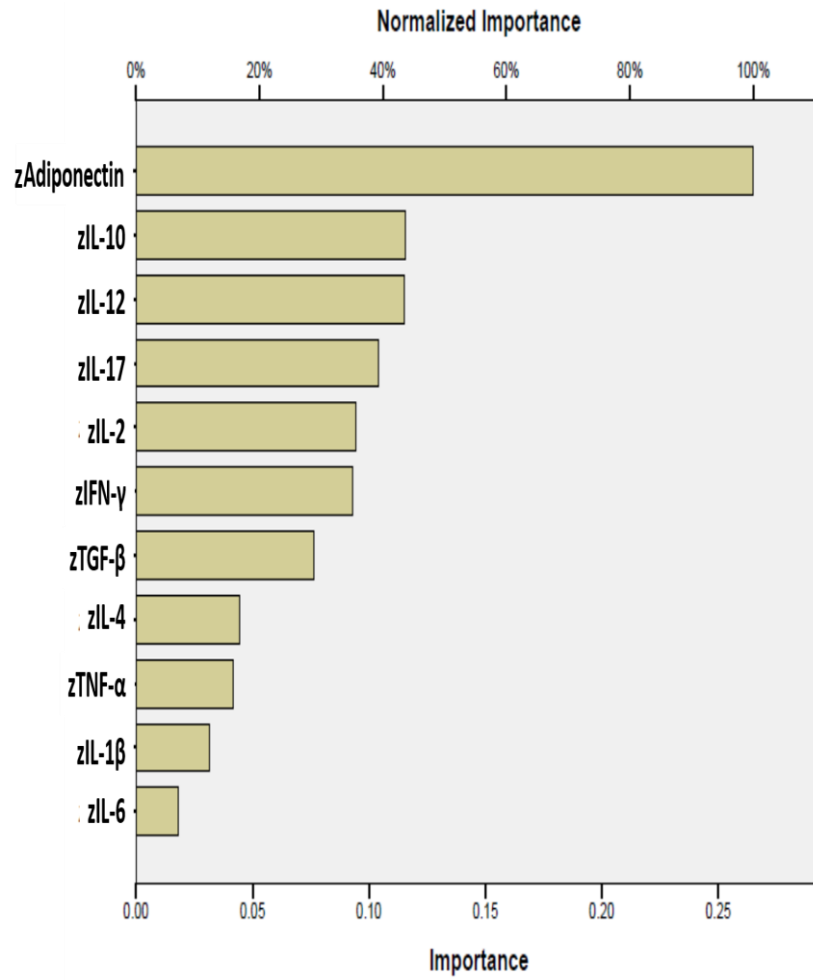


Fig. 2 - Normalized importance of the 11 cytokines for psoriasis. IL, Interleukin; IFN- γ , Interferon-gamma; TNF-alpha, Tumour Necrosis Factor - α ; TGF- β , Transforming Growth Factor-beta.

7 CONCLUSÕES DA DISSERTAÇÃO

Levando em consideração os objetivos propostos por esse estudo, podemos concluir que:

- Os níveis séricos das citocinas M1, Th1, Th2 e Th17 estão elevadas em pacientes com psoríase quando comparados à controles saudáveis enquanto os níveis de TGF- β e adiponectina apresentam níveis séricos significativamente reduzidos.
- O perfil pró-inflamatório Th1 é predominante na psoríase concomitante a intensa redução nos níveis de adiponectina.
- O modelo proposto utilizando, concomitantemente, IRS, Th2+Treg e adiponectina permite prever o diagnóstico de psoríase com alta sensibilidade e especificidade.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo demonstrou que a inflamação crônica presente na psoríase é resultado de uma resposta pró-inflamatória exacerbada, predominantemente do tipo Th1, com redução dos níveis de adiponectina e TGF- β , comprometendo a modulação da resposta inflamatória nessa doença. A principal limitação foi o delineamento transversal do estudo, que não permite fazer inferência de causalidade. Em adição a isso, nossos pacientes obtiveram baixos valores de PASI, sendo assim, não é possível extrapolar nossos resultados para casos graves da doença. No entanto, nosso estudo obteve pontos fortes, tais como: a transformação em z score, permitindo a elaboração de perfis de citocinas; a utilização da plataforma Luminex[®], uma técnica mais sensível que o ELISA e a análise multivariada, utilizada para controlar as variáveis confundidoras. Sendo assim, os resultados obtidos neste estudo permitem o melhor entendimento da complexa rede de citocinas pró e anti-inflamatórias envolvidas na fisiopatologia da psoríase. Além disso, não há até o presente momento, biomarcadores laboratoriais empregados para o diagnóstico desta doença. Desta forma, este estudo propôs um modelo laboratorial para predizer a doença com alta sensibilidade e especificidade, podendo ser empregado para auxiliar e corroborar ao diagnóstico clínico.

REFERÊNCIAS

- A. MCGRATH, J.; JOUNI, U. **Structure and Function of the Skin**. [s.l.: s.n.].
- ANTIGA, E. et al. Etanercept downregulates the Th17 pathway and decreases the IL-17+/IL-10+ cell ratio in patients with psoriasis vulgaris. **Journal of Clinical Immunology**, v. 32, n. 6, p. 1221–32, dez. 2012.
- ARAKELYAN, A. et al. Autoimmunity and autoinflammation: A systems view on signaling pathway dysregulation profiles. **PloS One**, v. 12, n. 11, p. e0187572, 2017.
- ARMSTRONG, E. J.; HASKAMP, C. T.; ARMSTRONG, A. W. Psoriasis and major adverse cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **Journal of the American Heart Association**, v. 2, n. 2, p. e000062, 4 abr. 2013.
- BALATO, A. et al. Interleukin-1 family members are enhanced in psoriasis and suppressed by vitamin D and retinoic acid. **Archives of Dermatological Research**, v. 305, n. 3, p. 255–62, abr. 2013.
- BARAN, A. et al. Effect of psoriasis activity on serum adiponectin and leptin levels. **Advances in Dermatology and Allergology**, v. 2, n. 2, p. 101–106, 2015.
- BARNAS, J. L.; RITCHLIN, C. T. Etiology and Pathogenesis of Psoriatic Arthritis. **Rheumatic Diseases Clinics of North America**, v. 41, n. 4, p. 643–63, nov. 2015.
- BARONI, A. et al. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clinics in Dermatology**, v. 30, n. 3, p. 257–62, 2012.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289–300, 1995.
- BOEHNCKE, W.-H.; SCHÖN, M. P. Psoriasis. **Lancet (London, England)**, v. 386, n. 9997, p. 983–94, 5 set. 2015.
- BOS, F. et al. Differential expression of interleukin-2 by anti-CD3-stimulated peripheral blood mononuclear cells in patients with psoriatic arthritis and patients with cutaneous psoriasis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 39, n. 3, p. 385–90, abr. 2014.
- BRITO-LUNA, M. J. et al. Correlation of IL-12, IL-22, and IL-23 in patients with psoriasis and metabolic syndrome. Preliminary report. **Cytokine**, v. 85, p. 130–6, 2016.
- BRONCKERS, I. M. G. J. et al. A cross-sectional study in young adults with psoriasis: potential determining factors in quality of life, life course and work productivity. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 0, n. 0, p. 1–24, 13 ago. 2018.
- CAI, Y. et al. A Critical Role of the IL-1 β -IL-1R Signaling Pathway in Skin Inflammation and Psoriasis Pathogenesis. **Journal of Investigative Dermatology**, 15 ago. 2018.
- CAMPANATI, A. et al. Serum levels of adipocytokines in psoriasis patients receiving tumor necrosis factor- α inhibitors: results of a retrospective analysis. **International Journal of Dermatology**, v. 54, n. 7, p. 839–45, jul. 2015.

- CAMPANATI, A. et al. TNF- α inhibitors reduce the pathological Th 1 -Th 17 /Th 2 imbalance in cutaneous mesenchymal stem cells of psoriasis patients. **Experimental Dermatology**, v. 26, n. 4, p. 319–324, abr. 2017.
- CHANDRA, A. et al. Genetic and epigenetic basis of psoriasis pathogenesis. **Molecular Immunology**, v. 64, n. 2, p. 313–23, abr. 2015.
- CHIRICOZZI, A. et al. Integrative responses to IL-17 and TNF- α in human keratinocytes account for key inflammatory pathogenic circuits in psoriasis. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 131, n. 3, p. 677–87, mar. 2011.
- CHIRICOZZI, A. et al. Scanning the Immunopathogenesis of Psoriasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 179, 8 jan. 2018.
- CHRISTOPHERS, E.; METZLER, G.; RÖCKEN, M. Bimodal immune activation in psoriasis. **The British Journal of Dermatology**, v. 170, n. 1, p. 59–65, jan. 2014.
- CLARK, R. A.; KUPPER, T. S. Misbehaving macrophages in the pathogenesis of psoriasis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 8, p. 2084–7, ago. 2006.
- COIMBRA, S. et al. Interleukin (IL)-22, IL-17, IL-23, IL-8, vascular endothelial growth factor and tumour necrosis factor- α levels in patients with psoriasis before, during and after psoralen-ultraviolet A and narrowband ultraviolet B therapy. **The British Journal of Dermatology**, v. 163, n. 6, p. 1282–90, dez. 2010.
- COOPER, K. D. et al. Interleukin-1 in human skin: dysregulation in psoriasis. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 95, n. 5, p. 24S–26S, nov. 1990.
- DAMSKER, J. M.; HANSEN, A. M.; CASPI, R. R. Th1 and Th17 cells: adversaries and collaborators. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1183, p. 211–21, jan. 2010.
- DI FUSCO, D. et al. Smad7 positively regulates keratinocyte proliferation in psoriasis. **The British Journal of Dermatology**, v. 177, n. 6, p. 1633–1643, dez. 2017.
- DOI, H. et al. Downregulation of TGFbeta isoforms and their receptors contributes to keratinocyte hyperproliferation in psoriasis vulgaris. **Journal of Dermatological Science**, v. 33, n. 1, p. 7–16, out. 2003.
- DOWLATSHAHI, E. A. et al. Markers of systemic inflammation in psoriasis: a systematic review and meta-analysis. **The British Journal of Dermatology**, v. 169, n. 2, p. 266–82, ago. 2013.
- DRISKELL, R. R. et al. Defining dermal adipose tissue. **Experimental Dermatology**, v. 23, n. 9, p. 629–31, set. 2014.
- DUARTE, G. V. et al. Association between obesity measured by different parameters and severity of psoriasis. **International Journal of Dermatology**, v. 52, n. 2, p. 177–81, fev. 2013.
- EDER, L. et al. Serum adipokines in patients with psoriatic arthritis and psoriasis alone and their correlation with disease activity. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 72, n. 12, p. 1956–61, dez. 2013.

- EGAWA, G.; KABASHIMA, K. Skin as a peripheral lymphoid organ: revisiting the concept of skin-associated lymphoid tissues. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 131, n. 11, p. 2178–85, nov. 2011.
- EYERICH, S. et al. Cutaneous Barriers and Skin Immunity: Differentiating A Connected Network. **Trends in Immunology**, v. 39, n. 4, p. 315–327, abr. 2018.
- FERNÁNDEZ-ARMENTEROS, J. M. et al. Psoriasis, metabolic syndrome and cardiovascular risk factors. A population-based study. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, p. 0–1, 17 jul. 2018.
- FLISIAK, I. et al. Association between psoriasis severity and transforming growth factor beta(1) and beta (2) in plasma and scales from psoriatic lesions. **Cytokine**, v. 19, n. 3, p. 121–5, 7 ago. 2002.
- FOTIADOU, C. et al. IL-17A, IL-22, and IL-23 as Markers of Psoriasis Activity: A Cross-sectional, Hospital-based Study. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 19, n. 6, p. 555–60, 2015.
- FRANCISCO, V. et al. Obesity, Fat Mass and Immune System: Role for Leptin. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. JUN, p. 640, 2018a.
- FRANCISCO, V. et al. Adipokines and inflammation: is it a question of weight? **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 10, p. 1569–1579, maio 2018b.
- FREDRIKSSON, T.; PETTERSSON, U. Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid. **Dermatologica**, v. 157, n. 4, p. 238–44, 1978.
- FUJII, R. K. et al. Burden of Disease in Patients With Diagnosed Psoriasis in Brazil: Results From 2011 National Health and Wellness Survey (NHWS). **Value in Health**, v. 15, n. 4, p. A107, jun. 2012.
- FUJITA, H. et al. Human Langerhans cells induce distinct IL-22-producing CD4+ T cells lacking IL-17 production. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 51, p. 21795–800, 22 dez. 2009.
- GERDES, S.; ROSTAMI-YAZDI, M.; MROWIETZ, U. Adipokines and psoriasis. **Experimental Dermatology**, v. 20, n. 2, p. 81–7, fev. 2011.
- GIBELLINI, L. et al. Anti-TNF- α Drugs Differently Affect the TNF α -sTNFR System and Monocyte Subsets in Patients with Psoriasis. **PloS One**, v. 11, n. 12, p. e0167757, 2016.
- GINHOUX, F. et al. New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function. **Nature Immunology**, v. 17, n. 1, p. 34–40, jan. 2016.
- GREB, J. E. et al. Psoriasis. **Nature Reviews. Disease Primers**, v. 2, p. 16082, 2016.
- GRIFFITHS, C. E.; BARKER, J. N. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. **Lancet (London, England)**, v. 370, n. 9583, p. 263–271, 21 jul. 2007.
- GRUNDY, S. M. et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation**, v. 112, n. 17, p. 2735–52, 25 out. 2005.
- HIGGINS, E. Psoriasis. **Medicine**, v. 45, n. 6, p. 368–378, jun. 2017.

- HUNTER, H. J. A.; GRIFFITHS, C. E. M.; KLEYN, C. E. Does psychosocial stress play a role in the exacerbation of psoriasis? **The British Journal of Dermatology**, v. 169, n. 5, p. 965–74, nov. 2013.
- IYER, S. S.; CHENG, G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. **Critical Reviews in Immunology**, v. 32, n. 1, p. 23–63, 2012.
- JAMES, P. A. et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507–20, 5 fev. 2014.
- JENSEN, P.; SKOV, L. Psoriasis and Obesity. **Dermatology (Basel, Switzerland)**, v. 232, n. 6, p. 633–639, 2016.
- JOHNSTON, A. et al. IL-1F5, -F6, -F8, and -F9: a novel IL-1 family signaling system that is active in psoriasis and promotes keratinocyte antimicrobial peptide expression. **Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 186, n. 4, p. 2613–22, 15 fev. 2011.
- KAUR, S.; KINGO, K.; ZILMER, M. Psoriasis and Cardiovascular Risk-Do Promising New Biomarkers Have Clinical Impact? **Mediators of Inflammation**, v. 2017, 2017.
- KENNEDY-CRISPIN, M. et al. Human keratinocytes' response to injury upregulates CCL20 and other genes linking innate and adaptive immunity. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 132, n. 1, p. 105–13, jan. 2012.
- KHANDPUR, S. et al. Is there a correlation of serum and tissue T helper-1 and -2 cytokine profiles with psoriasis activity and severity? A cross-sectional study. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 84, n. 4, p. 414–418, 27 jun. 2017.
- KIM, T.-G. et al. The pathophysiological role of dendritic cell subsets in psoriasis. **BMB Reports**, v. 47, n. 2, p. 60–8, fev. 2014.
- KUMAR, S. et al. Obesity, waist circumference, weight change and the risk of psoriasis in US women. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 39, n. 2, p. no-no, 15 out. 2012.
- KYRIAKOU, A. et al. Serum Leptin, Resistin, and Adiponectin Concentrations in Psoriasis: A Meta-Analysis of Observational Studies. **Dermatology (Basel, Switzerland)**, v. 233, n. 5, p. 378–389, 2017.
- LAI-CHEONG, J. E.; MCGRATH, J. A. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine**, v. 45, n. 6, p. 347–351, jun. 2017.
- LANDE, R. et al. Cationic antimicrobial peptides in psoriatic skin cooperate to break innate tolerance to self-DNA. **European Journal of Immunology**, v. 45, n. 1, p. 203–13, jan. 2015.
- LEICK, M. et al. Leukocyte recruitment in inflammation: basic concepts and new mechanistic insights based on new models and microscopic imaging technologies. **Cell and Tissue Research**, v. 355, n. 3, p. 647–56, mar. 2014.
- LIANG, Y. et al. Psoriasis: a mixed autoimmune and autoinflammatory disease. **Current Opinion in Immunology**, v. 49, p. 1–8, dez. 2017.
- LIN, A. M. et al. Mast cells and neutrophils release IL-17 through extracellular trap formation in psoriasis. **Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 187, n. 1, p. 490–500, 1 jul. 2011.

- LOWES, M. A.; SUÁREZ-FARIÑAS, M.; KRUEGER, J. G. Immunology of psoriasis. **Annual Review of Immunology**, v. 32, p. 227–55, 2014.
- LUO, Y.; LIU, M. Adiponectin: a versatile player of innate immunity. **Journal of Molecular Cell Biology**, v. 8, n. 2, p. 120–8, abr. 2016.
- MAES, M.; CARVALHO, A. F. The Compensatory Immune-Regulatory Reflex System (CIRS) in Depression and Bipolar Disorder. **Molecular Neurobiology**, p. 1–19, 2 abr. 2018.
- MAHIL, S. K.; CAPON, F.; BARKER, J. N. Genetics of psoriasis. **Dermatologic Clinics**, v. 33, n. 1, p. 1–11, jan. 2015.
- MAHLER, V. et al. Psoriasis predisposition and occupational triggering factors in the appraisal of occupational medical expertises. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG**, v. 12, n. 6, p. 519–29, jun. 2014.
- MAIA, C.; TAKAHASHI, M.; ROMITI, R. **Consenso Brasileiro de Psoríase - Guias de Avaliação e Tratamento Sociedade Brasileira de Dermatologia**. [s.l: s.n.].
- MASHIKO, S. et al. Human mast cells are major IL-22 producers in patients with psoriasis and atopic dermatitis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 136, n. 2, p. 351–9.e1, ago. 2015.
- MATAFOME, P.; SEIÇA, R. Function and Dysfunction of Adipose Tissue. In: LETRA, L.; SEIÇA, R. (Eds.). . *Advances in Neurobiology*. Cham: Springer International Publishing, 2017. v. 19p. 3–31.
- MEASE, P. J. et al. Prevalence of rheumatologist-diagnosed psoriatic arthritis in patients with psoriasis in European/North American dermatology clinics. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 69, n. 5, p. 729–735, 2013.
- MICHALEK, I. M.; LORING, B.; JOHN, S. M. A systematic review of worldwide epidemiology of psoriasis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, v. 31, n. 2, p. 205–212, fev. 2017.
- NAKAJIMA, H. et al. Clear association between serum levels of adipokines and T-helper 17-related cytokines in patients with psoriasis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 38, n. 1, p. 66–70, jan. 2013.
- NESTLE, F. O. et al. Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 202, n. 1, p. 135–43, 4 jul. 2005.
- OGAWA, E. et al. Pathogenesis of psoriasis and development of treatment. **The Journal of Dermatology**, v. 45, n. 3, p. 264–272, mar. 2018.
- PENN, J. W.; GROBBELAAR, A. O.; ROLFE, K. J. The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: a review. **International Journal of Burns and Trauma**, v. 2, n. 1, p. 18–28, 2012.
- PICKERING, T. G. et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Cou. **Circulation**, v. 111, n. 5, p. 697–716, 8 fev. 2005.

REICH, K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, v. 26 Suppl 2, n. SUPPL. 2, p. 3–11, mar. 2012.

RIVAS BEJARANO, J. J.; VALDECANTOS, W. C. Psoriasis as autoinflammatory disease. **Dermatologic Clinics**, v. 31, n. 3, p. 445–60, jul. 2013.

ROBERTI, M. L. et al. Immunomodulating treatment with low dose interleukin-4, interleukin-10 and interleukin-11 in psoriasis vulgaris. **Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents**, v. 28, n. 1, p. 133–9, 2014.

RUSSO, R. C. et al. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 10, n. 5, p. 593–619, maio 2014.

SAMARASEKERA, E. J. et al. Incidence of cardiovascular disease in individuals with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 10, p. 2340–2346, out. 2013.

SERFLICAN, B. et al. Serum Visfatin, Adiponectin, and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Levels in Patients with Psoriasis and their Correlation with Disease Severity. **Acta Dermatovenerologica Croatica : ADC**, v. 24, n. 1, p. 13–9, abr. 2016.

SHEVACH, E. M. Biological functions of regulatory T cells. **Advances in Immunology**, v. 112, p. 137–76, 2011.

SHI, C. et al. IL-6 and TNF- α induced obesity-related inflammatory response through transcriptional regulation of miR-146b. **Journal of Interferon & Cytokine Research : The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research**, v. 34, n. 5, p. 342–8, maio 2014.

SIMONI, Y. et al. Therapeutic manipulation of natural killer (NK) T cells in autoimmunity: are we close to reality? **Clinical and Experimental Immunology**, v. 171, n. 1, p. 8–19, jan. 2013.

SKENDROS, P. et al. Successful response in a case of severe pustular psoriasis after interleukin-1 β inhibition. **The British Journal of Dermatology**, v. 176, n. 1, p. 212–215, jan. 2017.

SPRINGATE, D. A. et al. Incidence, prevalence and mortality of patients with psoriasis: a U.K. population-based cohort study. **The British Journal of Dermatology**, v. 176, n. 3, p. 650–658, mar. 2017.

STEWART, T. J.; TONG, W.; WHITFIELD, M. J. The associations between psychological stress and psoriasis: a systematic review. **International Journal of Dermatology**, p. 1–8, 8 mar. 2018.

STREILEIN, J. W. Skin-associated lymphoid tissues (SALT): origins and functions. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 80 Suppl, n. 1s, p. 12s–16s, jun. 1983.

TAKAHASHI, H. et al. Serum cytokines and growth factor levels in Japanese patients with psoriasis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 35, n. 6, p. 645–9, ago. 2010.

TAKESHITA, J. et al. Psoriasis in the US Medicare Population: Prevalence, Treatment, and Factors Associated with Biologic Use. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 135, n. 12, p. 2955–2963, dez. 2015.

TAKESHITA, J. et al. Psoriasis and comorbid diseases: Epidemiology. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 76, n. 3, p. 377–390, 1 mar. 2017.

VAN KEMPEN, T. S. et al. Perception of self: distinguishing autoimmunity from autoinflammation. **Nature Reviews. Rheumatology**, v. 11, n. 8, p. 483–92, ago. 2015.

VERSINI, M. et al. Obesity in autoimmune diseases: not a passive bystander. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, n. 9, p. 981–1000, set. 2014.

VILLANI, A. P. et al. Prevalence of undiagnosed psoriatic arthritis among psoriasis patients: Systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 73, n. 2, p. 242–8, ago. 2015.

WEBB, A.; LI, A.; KAUR, P. Location and phenotype of human adult keratinocyte stem cells of the skin. **Differentiation; Research in Biological Diversity**, v. 72, n. 8, p. 387–95, out. 2004.

YILMAZ, S. B. et al. Serum and tissue levels of IL-17 in different clinical subtypes of psoriasis. **Archives of Dermatological Research**, v. 304, n. 6, p. 465–9, ago. 2012.

ZAHER, H. et al. Serum and tissue expression of transforming growth factor beta 1 in psoriasis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, v. 23, n. 4, p. 406–9, abr. 2009.

ZHENG, S. G. et al. IL-2 is essential for TGF-beta to convert naive CD4+CD25- cells to CD25+Foxp3+ regulatory T cells and for expansion of these cells. **Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 178, n. 4, p. 2018–27, 15 fev. 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

“EFEITOS DA ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE E ÓLEO DE OLIVA SOBRE A ATIVIDADE DA DOENÇA, PERFIL METABÓLICO, INFLAMATÓRIO E ESTADO REDOX DE PACIENTES COM PSORÍASE”

Prezado (a) Senhor (a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa Efeitos da associação de óleo de peixe e óleo de oliva sobre a atividade da doença, perfil metabólico, inflamatório e estado redox de pacientes com psoríase, a ser realizada no Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina -UEL. O objetivo da pesquisa é avaliar os efeitos da suplementação com óleo de peixe associado ou não ao óleo de oliva extra virgem na atividade da doença e nos exames laboratoriais. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: participar de um dos grupos do estudo conforme sorteio (grupo controle, grupo óleo de peixe, grupo óleo de peixe e azeite), comparecer em 2 avaliações clínicas realizadas (uma no início do estudo e outra no final, após 90 dias de suplementação) pelo médico dermatologista seguidas de coleta de sangue, medida da pressão arterial, peso, altura e circunferência abdominal. Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Após a realização do estudo e publicação dos resultados as amostras biológicas serão descartadas.

Esclarecemos ainda, que o (a) senhor (a) não pagará e nem será remunerado (a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

Informamos que a coleta de sangue poderá ocasionar apenas uma certa dor no local da picada da agulha. Os benefícios esperados com este estudo possivelmente estarão relacionados a melhora na atividade da doença e no perfil

metabólico. É possível que aconteçam alguns desconfortos com o consumo das cápsulas de óleo de peixe como: dor abdominal, gases, distensão abdominal, azia, náuseas e diarreia, no entanto, estas alterações tendem a desaparecer em até 15 dias.

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar Andréa Name Colado Simão, telefone: 3371-2321, Naiara Lourenço Mari, telefone: 3338-9932/ (44) 9920-3680 ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor (a).

Londrina, ___ de ___ de 201__.

Pesquisador Responsável

Profa Dra. Andréa Name Colado Simão RG: 6.226.736-4

Telefone: 3371-2321

Pesquisadora Colaboradora:

Ms Naiara Lourenço Mari RG: 9.895.799-5

Telefone: 3338-9932 / 99962-4990

_____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar voluntariamente da pesquisa descrita acima.

Assinatura: _____

Data: _____

APÊNDICE B
Ficha de Avaliação

Nome:		Prontuário:
Data:	Telefone:	
Idade:	Data de nascimento:	Data do diagnóstico:
Etnia	() Caucasiano	() Não Caucasiano () Oriental
Doença:	() Psoríase em placas () Psoríase gotada () Psoríase Eritrodérmica () Psoríase pustulosa	() Artrite Psoriásica () Outras Qual:
Outras Doenças:		
Tabagismo	() Não	() Sim Quantos/dia:
Diabetes	() Não	() Sim
HAS	() Não	() Sim
Alcoolismo	() Não	() Sim
Depressão	() Não	() Sim Psiquiatra?
Atividade Física	() Não	() Sim Frequência:
Peso:	Altura:	IMC:
PAS/PAD:	Circunferência abdominal:	
Uso de Medicamentos:		

ANEXOS

ANEXO A

Índice de área e severidade da doença (PASI)

PASI (Índice de Área e Gravidade da Psoríase)					
Índice de Gravidade	Eritema	Descamação	Infiltração	Porcentagem de área corporal acometida	(A) Indicador da extensão
Ausente	0	0	0	Nenhum	0
Leve	1	1	1	< 10%	1
Moderado	2	2	2	10 – 30%	2
Grave	3	3	3	30 – 50%	3
Muito Grave	4	4	4	50 – 70%	4
				70 – 90%	5
				90 – 100%	6

	Eritema	Descamação	Infiltração	(A) Área acometida	Total
Cabeça	(+	+) x	x (0,1) = T1
Tronco	(+	+) x	x (0,3) = T2
Extremidades superiores	(+	+) x	x (0,2) = T3
Extremidades inferiores	(+	+) x	x (0,4) = T4
PASI (T1+T2+T3+T4)					

CASPAR 2006 (Critérios classificatórios de Artrite Psoriática)

Doença articular inflamatória estabelecida e pelo menos três pontos nos seguintes critérios:

- Psoríase cutânea atual
2 pontos

- História de psoríase
1 ponto

- História familiar de psoríase
1 ponto

- Dactilite
1 ponto

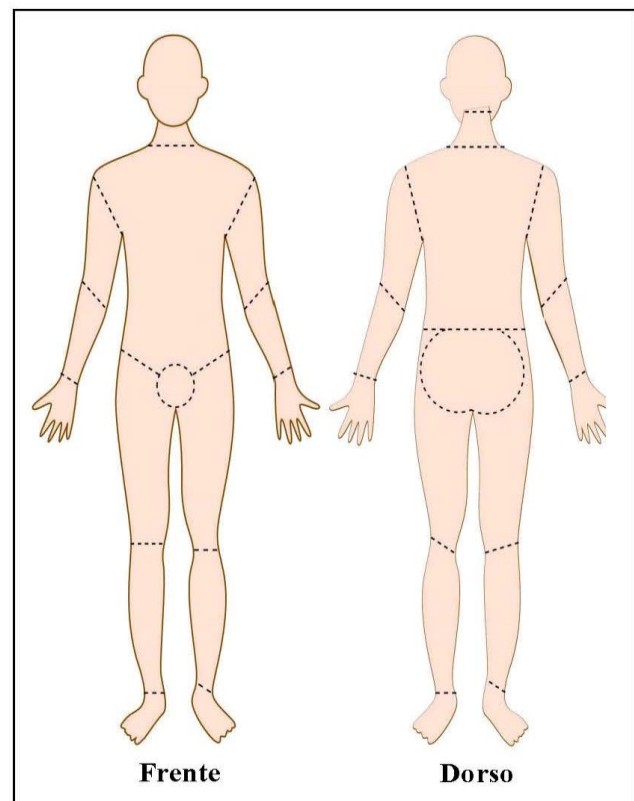
- Neoformação óssea justa-articular
1 ponto

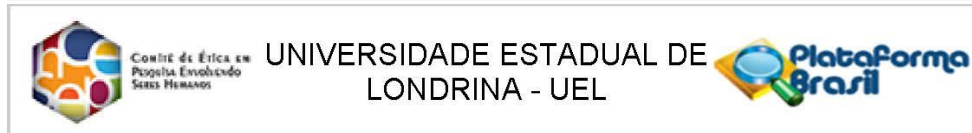
- Fator reumatoide negativo
1 ponto

- Distrofia Ungueal
1 ponto

Escore CASPAR total =

Referência: Taylor W, Gladman D, Helliwell P, et al.: Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from large international study. Arthritis Rheum 54:2665-73. 2006



ANEXO B**Documento de Aprovação do Comitê de Ética da UEL****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: EFEITOS DA ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE E ÓLEO DE OLIVA SOBRE A ATIVIDADE DA DOENÇA, PERFIL METABÓLICO, INFLAMATÓRIO E ESTADO REDOX DE PACIENTES COM PSORÍASE

Pesquisador: Andréa Name Colado Simão

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 51826215.0.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.556.235

Apresentação do Projeto:

A presente investigação pretende avaliar os efeitos da suplementação com óleo de peixe associado ou não ao óleo de oliva extra virgem na atividade da psoríase, em relação ao perfil metabólico, inflamatório e no estado redox em pacientes com psoríase. Serão selecionados 75 pacientes com diagnóstico de psoríase atendidos pelo ambulatório de dermatologia do Ambulatório do Hospital de Clínicas da UEL. A atividade da doença será determinada pelo PASI (Psoriasis Area and Severity Index). Os participantes serão distribuídos em 3 grupos, Grupo Controle (n:25): pacientes com psoríase que serão orientados a não alterar seus hábitos alimentares; grupo óleo de peixe (n:25): pacientes com psoríase que serão orientados a não alterar seus hábitos alimentares e que irão ingerir 10 cápsulas de óleo de peixe, cada cápsula de óleo de peixe

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

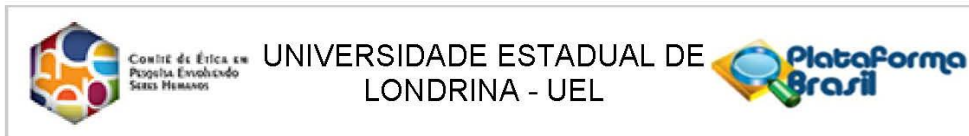
UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.556.235

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram atendidas, recomenda-se aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_580784.pdf	12/05/2016 20:28:13		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	02/05/2016 15:11:54	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Outros	ProjetoPsoriase.doc	11/04/2016 21:33:57	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Outros	Cartaresposta.docx	11/04/2016 21:29:06	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostro.pdf	11/12/2015 16:21:06	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacaoHU.pdf	11/12/2015 15:35:11	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPsoriase.pdf	11/12/2015 15:31:14	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	material_biologico.pdf	14/10/2015 16:31:09	Andréa Name Colado Simão	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Confidencialidadeesigilo.pdf	14/10/2015 16:30:03	Andréa Name Colado Simão	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	14/10/2015 16:28:44	Andréa Name Colado Simão	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário **CEP:** 86.057-970
UF: PR **Município:** LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455 **E-mail:** cep268@uel.br