

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina

Avaliação da esteatose e da fibrose hepática em pacientes com psoríase: o papel do metotrexate, da síndrome metabólica, de fatores genéticos e a associação com o risco cardiovascular.

LUCIANA VANESSA AGOGLIA

Rio de Janeiro

2024



Avaliação da esteatose e da fibrose hepática em pacientes com psoríase: o papel do metotrexate, da síndrome metabólica, de fatores genéticos e a associação com o risco cardiovascular.

Luciana Vanessa Agoglia

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Clínica Médica – Área de concentração Hepatologia).

Orientadoras: Prof^a. Dr^a. Cristiane Alves Villela Nogueira
Prof^a. Dr^a. Maria Chiara Chindamo

Rio de Janeiro

Julho/2024

Avaliação da esteatose e da fibrose hepática em pacientes com psoríase: o papel do metotrexate, da síndrome metabólica, de fatores genéticos e a associação com o risco cardiovascular.

Luciana Vanessa Agoglia

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Cristiane Alves Villela Nogueira

Prof^a. Dr^a. Maria Chiara Chindamo

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Clínica Médica).

Aprovada por:

Prof^a. Dr^a. Cristiane Alves Villela Nogueira

Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ

Prof. Dr. Henrique Sérgio Moraes Coelho

Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ

Prof. Dr^a. Nathalie Carvalho Leite

Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ

Prof. Dr. Gil Fernando da Costa Mendes de Salles

Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ

Prof. Dr. Mário Reis Álvares da Silva

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS

Rio de Janeiro

Julho/2024

“...contano quei due principi lì: non farsi mai troppe illusioni e non smettere di credere che ogni cosa che fai potrà servire”.

Italo Calvino

Dedicatória

Aos meus pais, e a quem veio antes.
Pela coragem e generosidade em abrir
caminhos para quem estava por vir.

Agradecimentos

Para se colocar em prática um projeto de pesquisa, precisamos de uma cadeia de apoio para chegar ao seu cabo. Para este projeto, a minha “acolhida” na Universidade pelas professoras Cristiane Villela e Maria Chiara Chindamo foi o início disso. A dedicação e o exemplo delas me tornaram pesquisadora, e certamente melhor professora e médica. O esforço de um orientador talvez não seja compreendido na sua total dimensão. São muitas horas de dedicação em revisão, inúmeras vezes fora de horário “comercial”, além das questões de ordem prática. Depois da demonstração que tive ao longo desses anos, posso afirmar que o alicerce da Universidade Pública Brasileira é feito desta capacidade e desta generosidade, que vão muito além de um vínculo institucional.

Em inúmeras situações profissionais e acadêmicas ao longo destes últimos anos me perguntei: o que a Cris faria nessa situação? Como conduziria? Se esse não for o melhor exemplo do papel de um orientador na vida de um orientando, tenho dificuldade em saber qual seria. Se somam todo o apoio moral e emocional; que sorte a minha!

O cuidado com cada detalhe, o rigor na linha de raciocínio e um modo de trabalho metódico poderiam levar a uma orientação severa, mas é justamente o oposto com a orientação da Chiara! Ela ensina tudo com uma gentileza que, mais uma vez, é fonte de inspiração. De fato, a sorte esteve do meu lado neste doutorado.

Aos professores Henrique Sérgio Moraes Coelho e Nathalie Leite, meus sinceros agradecimentos pela avaliação do projeto e sua qualificação. Suas ponderações foram valiosas.

O Hospital Federal de Bonsucesso foi minha escola, e, como não poderia deixar de ser, o apoio ao projeto também veio de lá. Um agradecimento muito reconhecido à minha amiga, Dra. Livia Barbosa, responsável pelo ambulatório de Psoríase, que teve a generosidade de abrir seu ambulatório e colocá-lo à minha disposição para a realização do projeto, muitas vezes me ajudando a entender as facetas de uma doença por mim desconhecida, em uma especialidade que não é a minha, e concordando com condutas em clínica médica dentro do seu próprio ambulatório e perante seus residentes! Ainda neste hospital, outro agradecimento à minha amiga Dra. Luciana Pamplona, chefe da Medicina Interna, que teve a também generosidade de entender o valor da pesquisa em um hospital assistencial. Montar um ambulatório de Clínica Médica dentro da Dermatologia, onde pude dar a contrapartida na assistência, só foi possível com seu apoio, muitas vezes de ordem prática, me respaldando enquanto chefia. Muito obrigada a vocês!

Já no HUCFF, como eu poderia ter realizado essa pesquisa sem o aprendizado em elastografia? A nossa (internacional) *expert* Ana Carolina Cardoso de Figueiredo Mendes, agora minha amiga Carol, me ensinou o método e me ajudou a realizar as muito mais de duzentas elastografias, não me deixando desanimar em nenhum momento. Muito obrigada!

Também no HUCFF, um especial agradecimento à equipe do ProHart e ao Professor Gil Salles, pela disponibilização do método de medida da velocidade de onda de pulso e orientação do ponto de vista cardiovascular, com preciosas sugestões. Às professoras Sueli Carneiro e Cecília Victor, que abriram seu ambulatório de dermatologia e contribuíram para a inclusão de pacientes, meu muito obrigada! À aluna de iniciação científica, Helena Peixoto, pela valiosa ajuda, demonstrando muita maturidade e responsabilidade mesmo ainda tão jovem.

Finalizando, a parceria da UFRJ com a Universidade de Joinville, na pessoa do Professor Paulo Condeixa de França, permitiu as genotipagens de todos os pacientes; à disponibilidade do Prof. Paulo, meus sinceros agradecimentos.

Em suma, é da generosidade de muitas pessoas o fruto desta pesquisa, meus sinceros agradecimentos a todos.

Resumo

Agoglia, Luciana Vanessa. Avaliação da esteatose e da fibrose hepática em pacientes com psoríase: o papel do metotrexate, da síndrome metabólica, de fatores genéticos e a associação com o risco cardiovascular.

Rio de Janeiro, 2024. Tese (Doutorado em Clínica Médica – Área de concentração Hepatologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Introdução: Uma alta prevalência de doença hepática esteatótica metabólica (MASLD) tem sido descrita na psoríase. A influência da presença de fatores metabólicos, dos polimorfismos dos genes PNPLA3 e TM6SF2 e da dose acumulada de metotrexate (MTX) na progressão da doença esteatótica necessita melhor avaliação. O risco cardiovascular também é aumentado na MASLD e a presença de aterosclerose subclínica pode representar um marcador do processo inflamatório que une os componentes da hipótese do eixo hepato-dérmico na psoríase. **Objetivos:** Avaliar o impacto dos polimorfismos dos genes PNPLA3 e TM6SF2, dos parâmetros metabólicos e da dose cumulativa de MTX na esteatose e fibrose hepática avançada em pacientes com psoríase. Avaliar a associação de esteatose e fibrose hepática avançada com aterosclerose subclínica nestes pacientes. **Métodos:** Estudo transversal com inclusão prospectiva de pacientes ambulatoriais com psoríase, submetidos a análise clínica e laboratorial, elastografia hepática transitória (TE) com controlled attenuated parameter (CAP) com o equipamento FibroScan® (Echosens,Fr). Todos os pacientes realizaram a genotipagem para os polimorfismos PNPLA3/TM6SF2. A medida da velocidade de onda de pulso carótido-femoral (VOP-cf) foi adotada como medida de rigidez aórtica (rAO). A esteatose foi definida por CAP ≥ 275 dB/m, fibrose hepática avançada como rigidez hepática ≥ 10 kPa, aumento da rAo como VOP-cf ≥ 10 m/s. Dose cumulativa significativa de metotrexato foi definida por ≥ 1500 mg (MTX1500). A análise de regressão logística avaliou as variáveis independentes relacionadas à esteatose e fibrose hepática avançada e ao aumento da rigidez aórtica; valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** Foram incluídos 199 pacientes (idade $54,6 \pm 12,6$ anos, 57,3% mulheres). A prevalência de síndrome metabólica (SM), esteatose e fibrose hepática avançada foi de 55,8%, 54,8% e 9%, respectivamente. As frequências dos genótipos PNPLA3 e TM6SF2 foram CC

42,3%/CG 49,5%/GG 8,2% e CC 88,7%/ CT 11,3%/TT 0%. SM (OR3,01 IC95% 1,51-5,98; p=0,002) e índice de massa corporal (OR1,17 IC95% 1,08-1,26; p<0,01) foram independentemente associados à esteatose. Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) (OR10,76 IC95% 2,42-47,87; p=0,002) e a presença de pelo menos um alelo PNPLA3 G (OR5,66 IC95% 1,08-29,52; p=0,039) foram associados à fibrose hepática avançada, mas não o polimorfismo TM6SF2 ou dose cumulativa de MTX. Para a análise das variáveis relacionadas com o aumento da rAo, um sub-grupo com 80 pacientes (idade 56,2±11,5 anos, 57,5% mulheres, IMC 28,6±5,3kg/m²), com prevalências de SM, DM2, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, esteatose e fibrose hepática avançada de 57,5%, 40,0%, 67,5%, 70,0%, 50,0% e 16,3%, respectivamente, foi avaliado. Com relação ao tratamento da psoríase, 45% receberam dose de MTX≥1500 mg e 33,8%, tratamento imunobiológico. Neste grupo, a prevalência de VOP-cf≥10m/s foi de 21,2%. Na análise de regressão logística, a idade foi independentemente relacionada com o aumento da rAo (OR: 1,21; IC95%:1,06-1,38; p=0,003), mas não a esteatose ou fibrose hepática avançada. MTX1500 foi um fator protetor cardiovascular (OR: 0,18; IC95%: 0,038-0,87; p=0,033), mas não a terapia imunobiológica. **Conclusões:** Em indivíduos com psoríase, SM e DM2 conferem maiores chances de esteatose e fibrose avançada, respectivamente. O alelo PNPLA3 G, mas não o polimorfismo TM6SF2, impacta em risco 5 vezes maior de fibrose hepática avançada. O aumento da rAo é associado à idade, mas não à esteatose ou fibrose avançada. Um efeito cardiovascular protetor do MTX foi encontrado em uma população psoríase com alta prevalência de SM e seus componentes.

Palavras-chave:

Psoríase - Polimorfismos Genéticos - Esteatose Hepática - Fibrose Hepática - Elastografia Hepática- Rigidez Aórtica - Aterosclerose - Metotrexato.

Abstract

Agoglia, Luciana Vanessa. Avaliação da esteatose e da fibrose hepática em pacientes com psoríase: o papel do metotrexate, da síndrome metabólica, de fatores genéticos e a associação com o risco cardiovascular.

Rio de Janeiro, 2024. Tese (Doutorado em Clínica Médica – Área de concentração Hepatologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Introduction: A high prevalence of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) has been described in psoriasis. The influence of the presence of metabolic factors, PNPLA3 and TM6SF2 gene polymorphisms and the cumulative dose of methotrexate (MTX) on the progression of steatotic disease requires further evaluation. Cardiovascular risk is also increased in MASLD and the presence of subclinical atherosclerosis may represent a marker of the inflammatory process that joins the components of the hepato-dermal axis hypothesis in psoriasis. **Objectives:** To evaluate the impact of PNPLA3 and TM6SF2 gene polymorphisms, metabolic parameters and cumulative MTX dose on steatosis and advanced liver fibrosis in patients with psoriasis. To evaluate the association of steatosis and advanced fibrosis with subclinical atherosclerosis. **Methods:** Cross-sectional study with prospective inclusion of outpatients with psoriasis, submitted to clinical and laboratory analysis, transient elastography (TE) with controlled attenuated parameter (CAP), with FibroScan® (Echosens,Fr). All patients underwent genotyping for PNPLA3/TM6SF2 polymorphisms. The measurement of carotid-femoral pulse wave velocity (PWV-cf) was adopted as a measure of aortic stiffness (AoS). Steatosis was defined by CAP ≥ 275 dB/m, advanced liver fibrosis as liver stiffness ≥ 10 kPa, increased AoS as PWV-cf ≥ 10 m/s. Significant cumulative dose of methotrexate was defined as ≥ 1500 mg (MTX1500). Logistic regression analysis evaluated the independent variables related to steatosis and advanced liver fibrosis and increased AoS; p value < 0.05 was considered significant. **Results:** 199 patients were included (age 54.6 ± 12.6 years, 57.3% feminine). The prevalence of metabolic syndrome (MetS), steatosis and advanced liver fibrosis was 55.8%, 54.8% and 9%, respectively. The frequencies of the PNPLA3 and TM6SF2 genotypes were CC 42.3%/CG 49.5%/GG 8.2% and CC 88.7%/CT 11.3%/TT 0%. MetS (OR 3.01 95% CI 1.51-5.98; $p=0.002$) and body mass index (OR 1.17 95% CI 1.08-1.26; $p<0.01$) were independently associated with

steatosis. Type 2 Diabetes Mellitus (DM2) (OR10.76 95% CI 2.42-47.87; p=0.002) and the presence of at least one PNPLA3 G allele (OR5.66 95% CI 1.08-29.52; p =0.039) were associated with advanced liver fibrosis, but not the TM6SF2 polymorphism or cumulative dose of MTX. To analyze the variables related to increased AoS, a sub-group with 80 patients (age 56.2±11.5 years, 57.5% feminine, BMI 28.6±5.3kg/m²), with prevalences of MetS, DM2, dyslipidemia, systemic arterial hypertension, steatosis and advanced liver fibrosis of 57.5%, 40.0%, 67.5%, 70.0%, 50.0% and 16.3%, respectively, was evaluated. Regarding psoriasis treatment, in this group, 45% received a dose of MTX≥1500 mg and 33.8%, immunobiological treatment. The prevalence of PWV-*cf*≥10m/s was 21.2%. In the logistic regression analysis, age was independently related to increased AoS (OR: 1.21; 95% CI: 1.06-1.38; p=0.003), but not steatosis or advanced liver fibrosis. MTX1500 was a cardiovascular protective factor (OR: 0.18; 95% CI: 0.038-0.87; p=0.033), but not immunobiological therapy. **Conclusions:** In individuals with psoriasis, MetS and DM2 confer a greater risk for steatosis and advanced fibrosis, respectively. The PNPLA3 G allele, but not the TM6SF2 polymorphism, impacts a 5-fold increased risk of advanced liver fibrosis. Increased AoS is associated with age, but not with steatosis or advanced fibrosis. A protective cardiovascular effect of MTX was found in a psoriasis population with a high prevalence of MetS and its components.

Key words:

Psoriasis - Genetic Polymorphisms - Hepatic Steatosis - Liver Fibrosis – Hepatic Elastography – Aortic Stiffness – Atherosclerosis – Methotrexate.

Sumário

1.	<i>Introdução</i>	14
2.	<i>Revisão da Literatura</i>	17
2.1	<i>Psoríase e síndrome metabólica</i>	17
2.2	<i>Psoríase e doença esteatótica hepática</i>	19
	Doença esteatótica hepática e Doença esteatótica hepática associada à disfunção metabólica (MASLD).....	19
	Psoríase e Doença hepática esteatótica associada à disfunção metabólica (MASLD)	22
	Metotrexate	24
	Avaliação de fibrose hepática por elastografia hepática transitória na psoríase	27
	Polimorfismos genéticos	29
2.3	<i>Psoríase e risco cardiovascular</i>	32
	Ateromatose subclínica na psoríase	34
	Terapia anti-inflamatória e risco cardiovascular	34
3.	<i>Objetivos</i>	37
4.	<i>Casuística e Métodos</i>	37
5.	<i>Discussão</i>	65
6.	<i>Conclusões</i>	71
7.	<i>Bibliografia</i>	72

Lista de siglas e abreviaturas

MASLD *Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease*

MTX Metotrexate

TE Elastografia Hepática Transitória

CAP *Controlled Attenuation Parameter*

VOP-cf Velocidade da onda de pulso carotídeo-femoral

rAo Rigidez aórtica

dB/m Decibéis/metro

kPa Kilopascal

MTX1500 Dose cumulativa de metotrexate > 1500mg

SM Síndrome Metabólica

DM2 Diabetes mellitus tipo 2

DCV Doenças cardiovasculares

TNF-alfa fator de necrose tumoral- alfa

PPAR-gama receptor ativado por proliferador de peroxissoma-gama

IMC índice de massa corporal

PASI *psoriasis area and severity index*

FIB4 *Fibrosis4-Index*

1. Introdução

A psoríase é uma doença inflamatória crônica sistêmica que possui associação epidemiológica forte com co-morbidades metabólicas tais como obesidade, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, doenças cardiovasculares (DCV) e diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (AZFAR; GELFAND, 2008) . A Síndrome Metabólica (SM) é definida por um conjunto de fatores metabólicos que prediz maior risco de doenças ateroscleróticas cardiovasculares e DM2 (KASSI et al., 2011). Há maior prevalência de SM em pacientes com psoríase quando comparado à população geral (AZFAR; GELFAND, 2008; GISONDI et al., 2007, 2018).

A SM tem estreita relação com a doença hepática esteatótica metabólica, do inglês “*metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease*” (MASLD), prevalente em cerca de 30% da população geral adulta mundial (RINELLA et al., 2023a). É definida pela presença de esteatose identificada por exame de imagem ou biópsia hepática, e é incontestavelmente mais prevalente nos pacientes com psoríase (BELLINATO et al., 2022; CANDIA et al., 2015; GISONDI et al., 2009b, 2018; MIELE et al., 2009). Existe associação da doença esteatótica hepática e psoríase independente de fatores de risco metabólicos (VAN DER VOORT et al., 2014), o que levou à hipótese de um eixo hepato-dérmico (MANTOVANI et al., 2016), onde mecanismos sobrepostos de inflamação sistêmica de baixo grau poderiam contribuir para a associação entre a psoríase e a MASLD, sobrepondo-se às alterações metabólicas que coexistem em doentes psoriáticos. Notavelmente, o risco de MASLD parece ter ligação com a gravidade da psoríase, e ser mais prevalente em pacientes com artrite psoriática que entre aqueles com psoríase cutânea isolada (BELLINATO et al., 2022).

A presença de esteatohepatite e fibrose hepática são os preditores primários de progressão da MASLD. A progressão é influenciada por muitos fatores, como a presença e gravidade de co-morbidades metabólicas, perfil genético e epigenético e fatores ambientais (RINELLA et al., 2023a). No caso da psoríase, a dose acumulada do Metotrexate (MTX) é historicamente motivo de preocupação devido à potencial indução de fibrose hepática nesta população (AITHAL et al., 2004).

Apesar da introdução de medicamentos imunobiológicos, o MTX continua sendo uma droga crucial no tratamento da psoríase. Há cerca de vinte anos seu papel como causa isolada de doença hepática vem sendo questionado (BERENDS et al., 2006; LANGMAN; HALL; TODD, 2001). Diretrizes para o monitoramento da hepatotoxicidade pelo

metotrexate foram revisitadas, enfatizando a presença dos fatores de risco metabólicos relacionados à gênese da fibrose hepática (KALB et al., 2009) e não à dose acumulada de MTX.

As características histológicas da lesão hepática induzida por MTX incluem esteatose macrovesicular, infiltrado inflamatório crônico portal, fibrose perivenular e portal, e cirrose. Nenhuma lesão, ou mesmo uma combinação de lesões, é patognomônica, e as características histológicas são semelhantes às encontradas na MASLD. A sobreposição de fatores metabólicos ou uso crônico de álcool torna impossível atribuir os resultados histológicos anormais apenas ao MTX. (LANGMAN; HALL; TODD, 2001). A não associação clara entre dose cumulativa de MTX e fibrose foi sedimentada mais recentemente (ATALLAH et al., 2023; MAYBURY et al., 2014), e a impressão é de que o MTX poderia aumentar o risco de fibrose, principalmente nos pacientes que já apresentam MASLD, e não de forma isolada.

Os polimorfismos genéticos dos genes PNPLA3 e TM6SF2 impactam o metabolismo lipídico, levando à esteatose hepática e graus mais avançados de fibrose na MASLD (KOZLITINA et al., 2014; ROMEO et al., 2008). No entanto, até o presente momento, nenhum estudo avaliou o seu papel como fator adicional para a presença de estágios mais avançados de fibrose com impacto prognóstico em pacientes com psoríase.

A doença cardiovascular é uma das principais causas de mortalidade na psoríase, e apesar dos fatores de risco cardiovascular exercerem papel preponderante neste aumento de mortalidade, não a explicam completamente. A rigidez aórtica (rAo), tendo como padrão-ouro para a sua avaliação a velocidade da onda de pulso carotídeo-femoral (VOP-cf), é um marcador preciso de lesão subclínica de órgãos no processo aterosclerótico. Indivíduos com psoríase apresentam aumento da rigidez arterial bem estabelecido quando comparados aos controles (BERGER; FESLER; ROUBILLE, 2021; SHAHARYAR et al., 2014; TRIANTAFYLLIAS et al., 2023) e, na maioria dos estudos, a associação é independente da presença dos fatores de risco cardiovasculares tradicionais, como tabagismo, hipertensão arterial sistêmica e obesidade.

O estado inflamatório a longo prazo está associado à SM e à aterosclerose (ARIAS DE LA ROSA et al., 2022). A MASLD foi recentemente definida pela presença de esteatose, associada a critérios cardiometabólicos, na ausência de outra causa secundária de esteatose (RINELLA et al., 2023b). A MASLD é *per se* risco para aterosclerose (GANZETTI, 2016). A rAo, portanto, pode representar um marcador mais precoce não só risco cardiovascular, mas também da magnitude do quadro inflamatório e suas

possíveis repercussões na esteatose e fibrose hepáticas. Os múltiplos mecanismos inflamatórios mediados por citocinas da hipótese do eixo hepato-dérmico (MANTOVANI et al., 2016; PRUSSICK; MIELE, 2018), poderiam estar representados pelo aumento da rAo nos pacientes com psoríase.

Assim, considerando a potencial associação entre Pso, doença esteatótica hepática e doença cardiovascular, o objetivo deste estudo é avaliar a prevalência de fibrose e esteatose hepáticas, respectivamente por elastografia hepática transitória (TE) (FibroScan®) e o *Controlled Attenuation Parameter* (CAP) e a associação com fatores metabólicos, polimorfismos genéticos PNPLA3 e TM6SF2, dose cumulativa de MTX e rigidez aórtica (avaliada pela medição da VOP-cf) em pacientes com psoríase.

2. Revisão da Literatura

2.1 Psoríase e síndrome metabólica

A psoríase é uma doença inflamatória cutânea crônica, imunomediada, dependente de fatores genéticos e ambientais. É caracterizada pela formação de placas cutâneas elevadas e descamativas, derivadas de hiperproliferação epidérmica, preferencialmente nos cotovelos, joelhos, couro cabeludo, região umbilical e lombar. Há diferenciação queratinocítica anormal, hiperplasia e ectasia vascular, além de infiltração inflamatória principalmente às custas de linfócitos T (KRUEGER; BOWCOCK, 2005). A prevalência em adultos, em países ocidentais, é de cerca de 2-4% (PARISI R; SYMMONS D P M; GRIFFITHS C E M, 2013), e está associada com perda na qualidade de vida, mesmo em casos leves, e aumento de mortalidade em casos graves. Afeta igualmente ambos os sexos e pessoas de todas as idades, com picos de incidência no início da vida adulta (20 anos) e no final da vida adulta (50 e 60 anos). A maioria dos pacientes, aproximadamente 80%, tem doença limitada (<10% da área de superfície corporal), mas aproximadamente 20% tem envolvimento mais extenso da pele (>10% da área de superfície corporal) (TORRES; BETTENCOURT, 2014). Aproximadamente 10–30% dos pacientes com psoríase desenvolvem artrite psoriática. No entanto, o desenvolvimento de artrite psoriática pode exigir estímulos ambientais ou fatores genéticos adicionais. Na artrite psoriática não há destruição, mas sim proliferação de sinoviócitos, mediado por células T (KRUEGER; BOWCOCK, 2005).

A síndrome metabólica é uma desordem complexa com alto custo socioeconômico e é definida por uma junção de fatores interconectados que aumentam diretamente o risco de doença coronariana, outras formas de doenças cardiovasculares ateroscleróticas e diabetes mellitus tipo 2. A associação da SM com o risco aumentado de DCV e DM2 está bem estabelecida (GISONDI et al., 2018; KASSI et al., 2011). Seus principais componentes são dislipidemia (elevação de triglicérides e diminuição de lipoproteínas de alta densidade - HDL), hipertensão arterial sistêmica, obesidade e resistência insulínica. Apesar de critérios diagnósticos diferentes e da variação com relação ao sexo, raça e etnias, a prevalência no mundo ocidental e em adultos é de aproximadamente 34% e aumenta com a idade: aproximadamente 20% dos homens e 16% das mulheres com menos de 40 anos de idade, 41% dos homens e 37% das mulheres entre 40-59 anos, e 52% dos homens e 54% mulheres com 60 anos ou mais (KASSI et al., 2011).

A psoríase é o protótipo de uma doença inflamatória mediada por células T, com produção de citocinas Th-1. Da mesma forma, a inflamação crônica via ativação Th-1 é importante para a fisiopatologia da SM, DM2 e aterosclerose. A prevalência de SM em pacientes com psoríase chega a 50%; o risco de SM é o dobro em pacientes com psoríase em comparação com indivíduos controle sem psoríase. A SM também é mais comum em pacientes com psoríase grave (GISONDI et al., 2018). Danielsen *et al* conduziram um estudo de base populacional confirmando um aumento na prevalência de SM em pacientes com psoríase em comparação com controles. Curiosamente, uma tendência diferente foi enfatizada entre os sexos: foi encontrada uma probabilidade 3,8 vezes maior de SM em mulheres jovens (<30 anos), com uma redução da razão de probabilidade com o aumento da idade. Por outro lado, os homens apresentaram uma razão de chances 1,35 vezes maior de SM, independentemente da idade. Houve uma prevalência maior de síndrome metabólica em homens e mulheres com psoríase em comparação com aqueles sem psoríase em todas as faixas etárias (DANIELSEN et al., 2015).

Níveis circulantes de citocinas Th-1, elevados na psoríase, obesidade e doença arterial coronariana, possuem efeitos na sinalização da insulina, adipogênese e metabolismo lipídico (AZFAR; GELFAND, 2008). Adicionalmente, a disfunção do tecido adiposo subcutâneo também contribui para o desenvolvimento da resistência à insulina, e existem evidências de que o tecido adiposo subcutâneo é disfuncional diretamente abaixo das lesões cutâneas psoriáticas. Portanto, esse pode ser um mecanismo fisiopatológico plausível para a associação entre psoríase e síndrome metabólica. (CATON et al., 2017). Citocinas inflamatórias e hormônios produzidos por condições tais como obesidade, diabetes e aterosclerose também podem influenciar na patogênese da psoríase aumentando a susceptibilidade ou gravidade da doença já estabelecida. O TNF-alfa (fator de necrose tumoral- alfa), por exemplo, é uma citocina inflamatória Th-1 secretada no tecido adiposo e pode levar à resistência à insulina através da inibição da atividade da tirosina quinase (do receptor da insulina) e ativando o receptor ativado por proliferador de peroxissoma-gama (PPAR-gama). O mesmo promove a proliferação epidérmica e também suprime a secreção de adiponectina dos adipócitos, que é uma importante molécula anti-inflamatória e que regula a sensibilidade à insulina (AZFAR; GELFAND, 2008). Os níveis baixos de adiponectina e altos níveis de leptina presentes na psoríase, além de outras citocinas inflamatórias também produzidas pelo tecido adiposo, como IL-1, IL-6, IL-17, têm repercussão na patogênese da doença cutânea e metabólica

(GANZETTI, 2016; GISONDI et al., 2018). A psoríase já foi associada à hiperleptinemia de forma independente à SM. (CHEN et al., 2008).

Alguns genes relacionados à susceptibilidade para psoríase também são associados à susceptibilidade para doenças metabólicas. Os loci PSORS2, PSORS3, e PSORS4, responsáveis por maior susceptibilidade à psoríase são também associados a loci de susceptibilidade à síndrome metabólica, diabetes tipo 2, hiperlipidemia familiar e doença cardiovasculares. Além disso, genes com impacto comprovado no risco cardiovascular, como a isoforma ApoE4 do gene ApoE são significativamente mais prevalentes em pacientes com psoríase em placa que em controles (AZFAR; GELFAND, 2008).

A possibilidade de existência de um “eixo hepato-dérmico” baseado nessas evidências foi levantada, onde o tecido adiposo visceral seria a conexão entre o fígado esteatótico, componente hepático do espectro da SM, e a pele psoriática (MANTOVANI et al., 2016). O fígado esteatótico, além de contribuir ativamente para a gravidade da psoríase através da liberação de citocinas pró-inflamatórias, também é um dos mecanismos subjacentes para a aterogênese (GISONDI et al., 2009b).

2.2 Psoríase e doença esteatótica hepática

Doença esteatótica hepática e Doença esteatótica hepática associada à disfunção metabólica (MASLD)

A doença esteatótica hepática é um termo abrangente que inclui todos os estágios da doença e se refere ao acometimento por esteatose macrovesicular de mais de 5% dos hepatócitos. A prevalência em adultos é estimada entre 25% e 30% na população geral. O espectro da doença inclui a esteatose hepática macrovesicular, que pode ser acompanhada por inflamação leve, e a esteatohepatite, que é adicionalmente caracterizada pela presença de inflamação e lesão celular (balonização), com ou sem fibrose, e finalmente cirrose, caracterizada por septos fibrosos levando à formação de nódulos cirróticos e alteração da arquitetura hepática. Pacientes com esteatohepatite e fibrose em estágio 2 (F2) têm um risco comprovadamente maior de morbidade e mortalidade relacionadas ao fígado. A progressão da fibrose é influenciada por muitos fatores, como a presença e gravidade das co-morbidades metabólicas, o perfil genético e fatores ambientais. Entre pacientes com cirrose, a progressão para descompensação clínica varia

de 3% a 20% ao ano. A inflamação sistêmica, particularmente decorrente do tecido adiposo disfuncional, contribui para a progressão da doença e a resistência à insulina tem papel central na doença (RINELLA et al., 2023a).

Ao longo dos últimos anos, a mudança da nomenclatura da doença esteatótica hepática se tornou mais afirmativa, e os critérios diagnósticos foram selecionados para se alinharem aos fatores de risco cardiometabólicos associados à resistência à insulina, já bem validados no contexto das doenças cardiovasculares. Assim, a resistência insulínica toma seu papel central na doença. Pacientes com esteatose e qualquer um dos critérios cardiometabólicos (sobrepeso, intolerância à glicose, hipertensão arterial ou dislipidemia) seriam considerados portadores de doença esteatótica hepática associada à disfunção metabólica, ou, em inglês, *metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease* (MASLD), na ausência de uma causa secundária, como drogas, desnutrição e causas monogênicas, em indivíduos que bebem pouco ou nenhum álcool (definido como <20 g/d para mulheres e <30 g/d para homens) (RINELLA et al., 2023b).

O fígado é um local chave de ação da insulina: é a principal fonte de produção endógena de glicose, um importante local para a síntese e eliminação de lipídios e o principal local de degradação da insulina. Portanto, os efeitos deletérios da resistência insulínica/hiperinsulinemia compensatória no fígado potencializam cada fator de risco associado isoladamente a ela. Isto pode explicar a crescente evidência de que a MASLD é um marcador e promotor de resistência insulínica/hiperinsulinemia. Ou seja, o fígado não seria um “simples expectador” neste complexo fisiopatogênico. O acúmulo de lipídios hepáticos na MASLD prejudica o metabolismo hepático da glicose e dos lipídios, aumentando ainda mais o risco de DM2 e de doença cardiovascular, independentemente dos fatores de risco estabelecidos. A incidência, prevalência e gravidade destas complicações são proporcionais à gravidade histológica da lesão hepática, sugerindo que a MASLD, particularmente a esteatohepatite, também pode contribuir para o estado inflamatório de baixo grau através da liberação sistêmica de vários marcadores de inflamação, *stress* oxidativo e de fatores pró-coagulantes (VANNI et al., 2015).

Na população geral, pacientes com suspeita de MASLD (com base em fatores de risco metabólicos) ou incidentalmente identificados como tendo esteatose por exames de imagem, devem ser submetidos ao rastreamento de fibrose avançada, inicialmente pelo cálculo do escore FIB-4, seguidos pela elastografia hepática no caso de cálculo do FIB-4 maior do que 1,3. Assim, a TE tem sido uma ferramenta muito utilizada na prática clínica. A elastografia hepática transitória ou métodos baseados em ultrassom (elastografia por

onda de cisalhamento de ponto [p-SWE] e elastografia de onda de cisalhamento bidimensional [2D-SWE]), são preferidos à elastografia por ressonância magnética, devido a considerações de custo. A biópsia hepática é reservada para quando há incerteza diagnóstica, como resultados discordantes ou indeterminados dos testes não-invasivos, quando há discordância dos testes não-invasivos e características clínicas, radiográficas ou laboratoriais sugerindo diagnóstico de fibrose avançada, ou possíveis diagnósticos concorrentes ou concomitantes (RINELLA et al., 2023b). A medida da rigidez hepática por TE avaliada através do FibroScan[®] é a mais validada na MASLD (BERZIGOTTI et al., 2021).

A TE foi validada usando a histologia hepática como padrão de referência. Isto permitiu comprovar a associação entre rigidez e fibrose hepática. No entanto, em se medindo a rigidez, que está relacionada não apenas à fibrose (mas também à congestão, inflamação ou infiltração), a interpretação dos valores de rigidez usando uma classificação histológica de fibrose hepática pode ser imprecisa. Além disso, a rigidez é uma estimativa quantitativa em uma escala contínua, enquanto os sistemas de pontuação histológica para fibrose hepática são baseados em escalas categóricas. Assim, mesmo que em condições “ideais”, uma sobreposição entre estágios consecutivos de fibrose hepática é inevitável quando se utiliza a rigidez hepática como um marcador quantitativo de fibrose hepática. Deve-se ressaltar que o espectro de fibrose avançada (estágio F3) e cirrose (estágio F4) é um *continuum* em pacientes assintomáticos e muitas vezes não é possível diferenciar clinicamente os dois estágios. É mais relevante descartar ou incluir doença clinicamente significativa. Todas as técnicas de elastografia têm melhor desempenho na avaliação de fibrose avançada/cirrose e na exclusão da doença, do que na identificação de estágios iniciais de fibrose hepática (FERRAIOLI; ROCCARINA, 2022; WONG et al., 2019).

Há discrepância nos pontos de corte sugeridos para a exclusão de fibrose avançada na MASLD. *Guidelines* publicados recentemente recomendam a avaliação com dois métodos não-invasivos de forma sequencial, o FIB4 (*Fibrosis4-Index*) e posteriormente a TE, com ponto de corte de 8 kPa (RINELLA et al., 2023a; TACKE et al., 2024). A presença de fibrose avançada pode ser excluída independentemente da sonda utilizada (M ou XL, de acordo com o índice de massa corporal), com valores de rigidez hepática menores que 10kPa na MASLD (WONG et al., 2019), ou mesmo independente da etiologia (DE FRANCHIS et al., 2022). A fibrose avançada é o início do espectro histológico da doença hepática crônica avançada compensada, que inclui os pacientes com risco de hipertensão porta clinicamente significativa e descompensações hepáticas.

A exclusão de fibrose avançada, portanto, exclui o risco para estes desfechos, independente da sua etiologia (DE FRANCHIS et al., 2022; WONG et al., 2019).

A TE também permite o diagnóstico de esteatose com o CAP – “*Controlled attenuation parameter*” - através da análise da atenuação da onda de baixa frequência do FibroScan[®]. Valores acima de 275 dB/m podem ser usados para diagnosticar esteatose, com sensibilidade superior a 90% (BERZIGOTTI et al., 2021). A quantificação da esteatose através deste método é influenciada por fatores como a etiologia da doença hepática, pela presença de DM2 e pelo IMC (KARLAS et al., 2017), e mesmo em pacientes exclusivamente com MASLD a acurácia da quantificação é regular (CARDOSO et al., 2020).

Psoríase e Doença hepática esteatótica associada à disfunção metabólica (MASLD)

A prevalência de esteatose, diagnosticada por ultrassom, é notavelmente maior em pacientes com psoríase (47% vs. 28%, $p < 0,0001$) do que em pacientes sem psoríase, mesmo quando controlados para a idade, sexo e índice de massa corporal (GISONDI et al., 2009b). Achados semelhantes subsequentes também evidenciaram a presença de esteatose (diagnosticada por ultrassonografia) em 46,2% dos pacientes com psoríase em comparação com 33,3% dos controles ($p = 0,005$) em grande estudo de coorte prospectivo de base populacional (parte do Estudo de Rotterdam) onde 2.292 participantes (com idade maior que 55 anos) foram incluídos, dos quais 118 (5,1%) tinham psoríase. A psoríase foi significativamente associada à MASLD mesmo após ajuste para consumo de álcool, tabagismo e presença de síndrome metabólica (OR 1,7, IC95% 1,1-2,6) (VAN DER VOORT et al., 2014). Revisões subsequentes confirmam a maior prevalência de esteatose (diagnosticada por imagem ou por histologia) em pacientes com psoríase (ocorrendo em até 50% desses pacientes) quando comparados a indivíduos controle, mesmo após ajuste para componentes da SM (BELLINATO et al., 2022; GISONDI et al., 2018; MANTOVANI et al., 2016).

Em meta-análise avaliando o risco de MASLD em pacientes com psoríase, incluindo seis estudos controlados com pacientes sem psoríase ($n = 267.761$) a análise agrupada indicou que os pacientes com psoríase possuíam duas vezes mais risco de MASLD que os controles, e este risco parece estar aumentado em pacientes com psoríase mais grave ou

com artrite psoriática. Em análises de sub-grupos, variáveis como índice de massa corporal (IMC) e presença DM2 não demonstraram diferença estatística em relação à presença de MASLD (CANDIA et al., 2015).

Em recente revisão sistemática e meta-análise de estudos observacionais que avaliaram a associação entre psoríase e MASLD, diagnosticada por imagem ou códigos da Classificação Internacional de Doenças, a psoríase foi associada à MASLD (n = 11 estudos; OR 1,96, IC 95% 1,70–2,26; I² = 97%, p < 0,01). Pacientes com psoríase e MASLD tiveram uma média do índice de área e gravidade de psoríase (*psoriasis area and severity index- PASI*) mais alta do que seus pares sem MASLD (BELLINATO et al., 2022). Este índice mede a gravidade das lesões psoriáticas (avaliando o grau de eritema, espessura e descamação das placas psoriáticas em quatro áreas distintas do corpo) com base na cobertura da área e na aparência da placa (MANTOVANI et al., 2016). Cabe ressaltar que este índice é dinâmico, uma vez da melhora com tratamento ou piora a despeito dele.

Uma consideração fundamental é a validação de todos esses dados após a nova definição e nomenclatura do espectro da doença esteatótica hepática. Esses estudos usaram o termo doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA). Para abordar o impacto da nova definição (MASLD), existe evidência de que 98% dos registros existentes de pacientes com DHGNA preencheriam os novos critérios para MASLD. Conceitualmente, os pacientes com a definição anterior (DHGNA) podem agora ser considerados completamente abrangidos pela categoria de MASLD (RINELLA et al., 2023b). É importante ressaltar ainda que os estudos de avaliação de esteatose em psoríase não separam claramente o componente de uso de álcool nesses pacientes.

Com base na evidência de que há forte associação entre psoríase, uma doença *per se* inflamatória, e MASLD, uma doença não restrita ao fígado no que se refere à contribuição para o estado inflamatório de baixo grau, a hipótese de um eixo hepato-dérmico, onde fígado e pele liberem uma série de substâncias pró-inflamatórias, pró-coagulantes, pró-oxidantes e pró-fibrogênicas é bastante plausível (MANTOVANI et al., 2016). A associação, independente de fatores metabólicos comuns, não explica, no entanto, o papel central do tecido adiposo expandido descrito nesta hipótese.

Historicamente, a preocupação com a fibrose hepática em pacientes com psoríase precede o conhecimento da associação entre psoríase e MASLD, e até mesmo a descrição da doença esteatótica hepática *per se*. O metotrexate é usado há mais de 50 anos como

tratamento eficaz para psoríase, é uma droga esteatogênica e com potencial de evolução para esteatohepatite e fibrose hepática (LIEBE et al., 2021) e seu uso é anterior à época de ensaios clínicos randomizados.

Metotrexate

O metotrexate atua na inibição competitiva da enzima dihidrofolato redutase, diminuindo a síntese de co-fatores do folato e, por conseguinte, dos ácidos nucléicos. Essa droga possui efeito anti-inflamatório na resposta imuno mediada por células T e bloqueia a proliferação rápida de células epidérmicas (BERENDS et al., 2006). Décadas após sua introdução, o MTX continua sendo um tratamento eficaz no arsenal terapêutico da psoríase. Apesar da introdução das drogas imunobiológicas, é ainda regularmente utilizado isoladamente ou em combinação com os imunobiológicos para o tratamento da psoríase (DI MARTINO et al., 2023; KALB et al., 2009)

Os primeiros casos de fibrose hepática associada ao tratamento com MTX foram notificados por volta das décadas de 1950 e 1960, em crianças, na utilização de doses altas para tratamento de leucemia (COLSKY; GREENSPAN; WARREN, 1955). Posteriormente, resultados de diversas séries com acompanhamento histológico identificaram taxas de cirrose de 25% entre pacientes com psoríase tratados com MTX, precedidas pelo aparecimento de esteatose macrovesicular e inflamação portal (ZACHARIAE; KRAGBALLE; SØGAARD, 1980).

A classificação histológica de lesão hepática induzida pelo MTX foi formulada por Roenigk, e foi usada por dermatologistas desde a década de 1970 até meados da década de 2000 (DI MARTINO et al., 2023).

As diretrizes iniciais para monitoramento, também elaboradas por Roenigk e seus colaboradores em 1972, foram revisadas posteriormente em 1988 e 1998 (ROENIGK et al., 1988, 1998; ROENIGK; MAIBACH; WEINSTEIN, 1972). Todas essas diretrizes recomendavam biópsia hepática inicial ou próximo ao início do tratamento com MTX e após cada dose cumulativa de 1,5 g, para detectar alterações histológicas. Pacientes com fibrose moderada, emissão de septos fibrosos portais e alargamento de trato portal (Roenigk IIIa) deveriam ser reavaliados em 6 meses com nova biópsia hepática, e aqueles com fibrose moderada a acentuada (Roenigk IIIb ou IV) deveriam suspender a droga. No entanto, na época não havia exclusão de hepatopatias virais, e evidências começaram a

surgir relacionando o grau de fibrose à maior ingestão alcoólica (não excluída nos estudos), e não à dose cumulativa do MTX (ZACHARIAE, 2000). Pela primeira vez em 1998, as recomendações de biópsia pré-tratamento foram flexibilizadas (KALB et al., 2009).

No início da década de 2000, já com o conhecimento da doença esteatótica do fígado, à época denominada doença hepática gordurosa não-alcoólica, Langman *et al* foram os primeiros a observar que as características histopatológicas de toxicidade hepática pelo MTX assemelhavam-se à esteatohepatite não-alcoólica, e que em tais circunstâncias seria difícil ou impossível atribuir a histologia anormal ao metotrexate isoladamente. Essa sobreposição sugeria mecanismos fisiopatogênicos semelhantes que poderiam resultar em lesão hepática na psoríase com o uso prolongado de MTX e/ou, que a doença hepática gordurosa não-alcoólica pré-existente, possivelmente agravada pelo MTX, poderia ser a principal causa de lesão hepática. A correlação da toxicidade do MTX com a dose cumulativa da droga, no entanto, foi mantida pelo estudo (LANGMAN; HALL; TODD, 2001).

Aithal *et al*, em 2004, mostrou que a progressão para fibrose hepática avançada (utilizando já a classificação histológica de Ishak ≥ 4 , usada para hepatites virais e próxima à Roenigk $\geq 3b$) com terapia com baixas doses de MTX seria menos frequente do que relatado anteriormente, com probabilidade de fibrose avançada $< 2,6\%$ com uma dose cumulativa de até 4g (AITHAL et al., 2004). A partir deste estudo, a dose cumulativa de 3,5 a 4g de MTX foi considerada de maior risco isolado para lesão hepática. Em 2006, estudo conduzido por Berends *et al* encontrou prevalência de fibrose avançada (segundo classificação de Roenigk) de 15%, não associada à dose cumulativa, dose semanal de MTX, idade ou duração do tratamento, mas sim à presença de DM2 e obesidade (BERENDS et al., 2006). De forma semelhante, Rosenberg *et al* encontraram fibrose avançada (utilizando classificação já própria para doença esteatótica hepática, descrita por Kleiner e Brunt em 2005) em 38% dos pacientes com fatores de risco metabólicos, principalmente DM2 e sobrepeso (mediana da dose cumulativa de MTX 1,6g), comparado a 9% no grupo sem fatores de risco (mediana da dose cumulativa de MTX 2,1g) ($p = 0,0012$) (ROSENBERG et al., 2007). Estudos sucessivos, ainda utilizando a classificação de Roenigk para avaliação de fibrose mantiveram os achados, evidenciando ausência de fibrose avançada (equivalente a Roenigk IIIb) em um estudo prospectivo com 54 pacientes e dose cumulativa média de MTX de 4,3g (LINDSAY et al., 2008), e 12% de fibrose grau III de Roenigk em 59 pacientes asiáticos com dose cumulativa média de

MTX de 1,5g (YEO, 2013) , ambos tendo como associação à fibrose hepática apenas os componentes da SM.

Por fim, em 2014, Maybury *et al* realizaram uma revisão sistemática de estudos observacionais sobre MTX e fibrose hepática em pacientes com psoríase. Incluíram somente estudos com mais de duas biópsias consecutivas no mesmo paciente em uso de MTX, na tentativa de avaliar se de fato o MTX aumenta o risco de fibrose hepática. Nos resultados, pode-se afirmar somente que houve um risco aumentado de 22% de “qualquer fibrose” na biópsia após o uso de MTX. A dose cumulativa e a duração da terapia com MTX não foram associadas à fibrose/cirrose na biópsia (como variáveis independentes). A conclusão do estudo é de que o MTX aumenta o risco de fibrose, mas não em todas as pessoas ou não por si só, onde a SM e seus componentes ou fatores genéticos determinariam quem desenvolveria toxicidade medicamentosa (MAYBURY *et al.*, 2014).

Estudos experimentais mostram que a toxicidade hepática do metotrexato é aguda, dose-dependente e histologicamente caracterizada por esteatose microvesicular e lesões microvasculares do fígado, que não mimetizam lesões de MASLD. In vitro, foi demonstrado que a homocisteína e a adenosina, duas moléculas que se acumulam nos hepatócitos expostos a altas doses de metotrexato, são capazes de ativar células estreladas e, portanto, a fibrogênese. No entanto, seu efeito na inibição da fibrinólise não é conhecido, portanto a comprovação da fisiopatogenia da fibrose hepática em humanos é ainda falha (DI MARTINO, 2023).

À luz das evidências atuais, parece improvável que o metotrexato por si só seja capaz de induzir doença hepática crônica, sendo o risco de lesão hepática induzida por MTX principalmente de natureza aguda. No entanto, o MTX pode ter um papel indireto na progressão das lesões da MASLD através da indução de danos mitocondriais e da redução das concentrações de folato circulante e hepático. Apesar de, na exposição crônica ao MTX, vários aspectos poderem se combinar para promover a fibrogênese hepática através da transformação de células estreladas hepáticas, a dose cumulativa de metotrexato não parece ter valor preditivo para ocorrência de fibrose (DI MARTINO *et al.*, 2023).

A triagem pré-tratamento é, portanto, aconselhável para verificar a possível presença de doença hepática em pacientes considerados para tratamento com MTX. Cabe ainda ressaltar que a avaliação histológica do fígado, ainda sendo o padrão ouro de avaliação de fibrose hepática, possui limitações quanto a erros de amostragem e à variabilidade intra e inter-observador. Neste contexto, no final da década de 2000 a avaliação de fibrose

hepática em pacientes com psoríase começou a ser avaliada através da rigidez hepática com TE, com diferentes pontos de corte.

Avaliação de fibrose hepática por elastografia hepática transitória na psoríase

Berends et al, em 2007, avaliou 20 biópsias e concluiu que a TE conseguiu excluir corretamente 88% dos casos sem fibrose significativa, usando a classificação de Metavir (F2 Metavir) com o ponto de corte de 7,1kPa (BERENDS et al., 2007). Com o mesmo desenho de estudo, porém utilizando tanto as classificações histológicas de Roenigk quanto a de Metavir, um grupo asiático confirmou a boa performance da TE em excluir fibrose significativa, onde 10 dos 41 pacientes desenvolveram lesão hepática induzida por MTX (grau Roenigk $\geq 3a$) e dois deles tiveram fibrose hepática significativa (estágio de fibrose Metavir ≥ 2). O ponto de corte de 7,1 kPa teria 50% de sensibilidade e 83,9% de especificidade para detectar lesão hepática induzida por MTX e 50% de sensibilidade e 76,9% de especificidade para identificar fibrose hepática significativa (RONGNGERN et al., 2017).

Desde a década de 2010, portanto, os estudos relacionados à avaliação de fibrose hepática na psoríase utilizaram a TE como ferramenta não-invasiva, substituindo progressivamente a biópsia hepática nessa prática clínica.

Em uma avaliação transversal de pacientes idosos ($n=1535$), 4,7% tinham o diagnóstico de psoríase. A prevalência de fibrose hepática avançada foi de 8,1%, *versus* 3,6% no restante da coorte ($p= 0,05$), definida por elastografia hepática $>9,5kPa$, que seria o ponto com mais alto valor preditivo positivo em estudo de Wong e colaboradores na MASLD (WONG et al., 2010). Os pacientes com psoríase, todos sem uso de MTX no estudo, teriam duas vezes mais probabilidade de ter fibrose hepática avançada, e quatro vezes mais probabilidade no sub-grupo de pacientes com MASLD. Análises de regressão logística neste sub-grupo mostrou que os pacientes com psoríase tinham um risco 4 vezes maior de fibrose hepática avançada em comparação com a população de referência (OR4,2, IC 95% 1,1–16,0). Este risco permaneceu 4 vezes aumentado após ajuste para idade, sexo, consumo de álcool, ALT e presença de síndrome metabólica em um modelo de regressão logística multivariável (OR4,1, IC 95% 1,01–17,0) (VAN DER VOORT 2016). Apesar das restrições que podem ser feitas com relação à não correlação histológica e ao ponto de corte da elastografia, este estudo populacional dá a ideia da

magnitude do risco de fibrose hepática em pacientes com psoríase, independente do uso de MTX, quando comparados à população geral e população com MASLD.

No mesmo ano, em estudo menor incluindo 165 pacientes (PONGPIT et al., 2016), a presença de fibrose significativa (F2) foi de 11% e se associou principalmente ao diagnóstico de DM2. O ponto de corte da elastografia foi de 7,1 kPa, tendo um valor preditivo negativo de 84% para fibrose significativa na MASLD (WONG et al., 2010). No início da década, no entanto, um estudo prospectivo incluindo 518 pacientes tratados com MTX por várias doenças inflamatórias crônicas, dos quais 111 apresentavam psoríase, já havia demonstrado que a dose cumulativa do metotrexate (>1,5g) não se associava à maior rigidez hepática [prevalência de 12% de fibrose avançada com ponto de corte 7,9kPa, com sensibilidade de 91% para afastar de fibrose avançada (WONG et al., 2010)], mas sim o diagnóstico de psoríase, e a presença de síndrome metabólica (LAHARIE et al., 2010).

Em uma população de pacientes com psoríase grave, um estudo com 333 pacientes encontrou 14,1% de fibrose hepática avançada diagnosticada por TE, usando o ponto de corte de 8,7kPa [valor preditivo negativo de 95% para o diagnóstico de fibrose avançada na MASLD (WONG et al., 2010)]. Esta prevalência é em torno de 7 vezes maior em comparação com a prevalência na população em geral; os fatores clínicos que se associaram à fibrose avançada foram circunferência abdominal, resistência à insulina, nível de aspartato aminotransferase, contagem de plaquetas e gravidade da doença psoríase. A dose cumulativa de MTX não foi avaliada, apesar de 21% estarem em uso ativo da droga e 85% terem sido expostos à mesma (MAYBURY et al., 2019). Em 2021, meta-análise com cinco estudos (majoritariamente com pacientes com o diagnóstico de artrite reumatóide), que utilizaram elastografia para rastreamento de fibrose, não encontraram correlação significativa entre as medidas de rigidez hepática e a dose cumulativa de MTX (AZZAM; JIYAD; O'BEIRNE, 2021).

Em 2023, o maior estudo de coorte longitudinal com 999 pacientes (876 expostos aos MTX, com dose cumulativa média de 4,8g e média de 6 anos de duração de tratamento), sendo 308 com diagnóstico de psoríase e o restante da população composta por pacientes com artrite reumatóide, não encontrou associação entre dose cumulativa de MTX e fibrose avançada [prevalência de 15,3% de fibrose avançada com ponto de corte 7,9kPa, com sensibilidade de 91% para afastar de fibrose avançada (WONG et al., 2010)]. O fator de risco que mais se associou à rigidez hepática aumentada foi o diagnóstico de DM2 (OR 3.19 IC95% 1.95 - 5.20 $p < 0.001$) (ATALLAH et al., 2023).

Polimorfismos genéticos

A MASLD é uma doença geneticamente complexa e os polimorfismos em genes-chave podem determinar a suscetibilidade à MASLD e progressão da doença independente de fatores metabólicos.

O polimorfismo I148M (rs738409) do gene 3 da adiponutrina – *Patatin-like Phospholipase 3 Gene* (PNPLA3) emergiu como um dos principais determinantes genéticos da MASLD, independentemente do IMC, DM2, e uso de álcool (ROMEO et al., 2008; TRÉPO et al., 2016). Romeo *et al* descreveram maior frequência alélica em hispânicos (0,49), seguido por euro-americanos (0,23) e afro-americanos (0,17). A presença de um alelo do polimorfismo I148M (rs738409) foi fortemente associada ao aumento dos níveis de gordura hepática (avaliados por ressonância magnética) e à inflamação hepática (avaliado pelos níveis da enzima alanina aminotransferase) (ROMEO et al., 2008). Esse polimorfismo de nucleotídeo único, que exibe uma transição de citosina para guanina (C>G), resultando na substituição de isoleucina por metionina, está relacionado à perda da atividade da hidrolase (lipase) sob triglicerídeos hepatocitários, promovendo o acúmulo lipídico (HE et al., 2010). Os achados de Romeo *et al* foram estendidos com relação à gravidade histológica, incluindo associação com esteatohepatite, após ajuste para idade, sexo, IMC e resistência à insulina (SOOKOIAN et al., 2009). Estudos subsequentes confirmaram estes achados (mantendo em sua maioria a não-associação com IMC, resistência insulínica e dislipidemia); duas meta-análises exclusivamente em populações com MASLD, comparando os genótipos CC e GG, mostram o risco aumentado para todo o espectro da doença: esteatose (OR = 3.26 IC95% 2.73-3.90), esteatohepatite (OR = 3.26 IC95% 2.15-4.95) (SOOKOIAN; PIROLA, 2011) e fibrose hepática (OR = 3.11 IC95% 2.66-3.65) (XU et al., 2015).

Evidências já demonstraram que o polimorfismo I148M influencia todo o espectro da MASLD, chegando até ao carcinoma hepatocelular. Além disso, é também determinante de progressão da esteatohepatite relacionada ao álcool e progressão da fibrose hepática na hepatite crônica pelo vírus da hepatite C, bem como em outras doenças hepáticas. Portanto, esse polimorfismo pode representar um modificador da fibrogênese em doenças hepáticas. Notavelmente, o efeito dessa variante na fibrose é independente da esteatose e

inflamação hepática, sugerindo um efeito na biologia das células hepáticas além dos hepatócitos, promovendo diretamente a fibrogênese. (DONGIOVANNI, 2013).

Os portadores da mutação I148M apresentam retenção intracelular de retinol em células estreladas hepáticas *in vitro*. Em resposta à inflamação crônica, as células estreladas hepáticas alteram seu fenótipo de células de estoque de retinol quiescentes para células miofibroblasto-*like* ativadas, que secretam o colágeno (TRÉPO et al., 2016). *In vivo*, o PNPLA3 é de fato expresso nas células estreladas hepáticas; evidências recentes mostram uma forte contribuição do PNPLA3 para o fenótipo de miofibroblasto-*like* nas células estreladas: a expressão hepática do PNPLA3 aumenta durante a progressão da fibrose hepática em pacientes com esteatohepatite relacionada à MASLD (BRUSCHI et al., 2020). Ao final de 2022, Vilar-Gomez *et al* evidenciaram através de modelos com características histológicas intermediárias que, na MASLD, quase metade do efeito total do alelo rs738409 G na gravidade da fibrose pode ser explicado por uma via direta, ativando vias fibrogênicas específicas e que uma grande proporção do efeito indireto do rs738409 na gravidade da fibrose é mediada por inflamação portal (VILAR-GOMEZ et al., 2022).

Em meta-análise para avaliação do efeito do PNPLA3 na progressão de fibrose hepática e desenvolvimento de carcinoma hepatocelular envolvendo 9.915 pacientes, o PNPLA3 foi associado à gravidade da fibrose (OR 1,32 IC 95% 1,20-1,45), com um risco consistentemente aumentado entre várias etiologias de doença hepática. Em nove estudos (2.937 pacientes), o PNPLA3 foi associado ao aumento do risco de carcinoma hepatocelular em pacientes com cirrose (OR 1,40, IC 95 % 1,12-1,75). Na análise de subgrupos, o aumento do risco de carcinoma hepatocelular foi demonstrado em pacientes com cirrose relacionada à MASLD ou álcool (OR 1,67 IC 95 % 1,27-2,21), mas não naqueles com outras etiologias de cirrose (OR 1,33 IC 95 % 0,96-1,82) (SINGAL et al., 2014).

Embora o polimorfismo do PNPLA3 não seja diretamente associado aos fatores de risco metabólicos, eles podem ser o gatilho para o impacto do PNPLA3 na esteatose e fibrogênese. As relações complexas entre esses fatores não devem ser dissociadas, já que o aumento da suscetibilidade a danos no fígado observado com o rs738409 [G] ocorre predominantemente na presença de um insulto hepático concomitante, como por exemplo, obesidade, consumo de álcool, infecção viral (TRÉPO et al., 2016). Em humanos, a interação entre adiposidade e PNPLA3 I148M foi demonstrada em duas grandes coortes da população geral, onde o impacto da variante I148M no acúmulo de

esteatose, inflamação (usando níveis de alanina aminotransferase) e o risco de cirrose foi modulado pelo IMC. A maior parte do efeito foi observada em indivíduos obesos (IMC de 30-35 kg/m²) ou muito obesos (IMC >35 kg/m²), indicando que o impacto da variação do PNPLA3 na história natural da MASLD é fortemente dependente do IMC (TRÉPO; VALENTI, 2020).

Além do polimorfismo do gene da PNPLA3, o polimorfismo do *human transmembrane 6 superfamily member 2 gene* (TM6SF2) também se associa à MASLD e a níveis mais elevados de alanina aminotransferase. Estudos em ratos *in vitro* mostram que a perda de função do TM6SF2 aumenta a concentração de triglicérido intra-hepático em três vezes. Essa variante E167K (rs58542926), também está associada à MASLD e é independente do efeito da variante I148M do PNPLA3, mas igualmente não associada ao IMC, à resistência insulínica e ao consumo de álcool (KOZLITINA et al., 2014).

O polimorfismo rs58542926 C>T, que codifica a variante E167K do TM6SF2, favorece o acúmulo de gotículas lipídicas no hepatócito, diminuindo a secreção de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDLs), levando assim ao aumento da suscetibilidade à esteatohepatite e fibrose. Ao mesmo tempo, a variante E167K confere menor risco cardiovascular, uma vez da redução dos lipídeos circulantes. A frequência da variante TM6SF2 foi maior em indivíduos de ascendência europeia (7,2%) do que em afro-americanos (3,4%) ou hispânicos (4,7%) (KOZLITINA et al., 2014).

Em uma coorte com 1201 pacientes submetidos à biópsia hepática por suspeita de esteatohepatite relacionada à MASLD, 188 indivíduos (13%) eram portadores da variante E167K (presença do polimorfismo de um único nucleotídeo). Eles tinham níveis lipídicos séricos mais baixos do que os não portadores ($p < 0,05$), apresentavam esteatose, necroinflamação, balonização e fibrose mais graves ($p < 0,05$) e, maior risco de esteatohepatite (OR 1,84; IC95% 1,23-2,79) e fibrose avançada (OR, 2,08; IC 95%: 1,20-3,55) após ajuste para idade, sexo, IMC, resistência insulínica e variante de risco I148M (PNPLA3); adicionalmente, os portadores da variante E167K tiveram menor risco de desenvolver placas carotídeas (OR, 0,49; IC 95%: 0,25-0,94). Neste mesmo estudo, no grupo controle de 1819 pacientes, os portadores da variante E167K apresentaram níveis mais elevados de alanina aminotransferase e níveis lipídicos mais baixos ($p < 0,05$), bem como uma menor incidência de eventos cardiovasculares (HR 0,61; IC 95%: 0,39-0,95) (DONGIOVANNI et al., 2015).

Não é conhecido, até o momento, o impacto dos polimorfismos dos genes PNPLA3 e TM6SF2 em pacientes com psoríase, uma população com maior prevalência de MASLD e maior risco cardiovascular.

2.3 Psoríase e risco cardiovascular

O estado inflamatório a longo prazo está associado à SM e à aterosclerose (ARIAS DE LA ROSA et al., 2022). A associação entre psoríase e SM é clinicamente relevante, pois a SM é um fator de risco para doenças cardiovasculares. O risco cardiovascular de pacientes com psoríase é sabidamente aumentado, mas se a psoríase em si é um fator de risco cardiovascular independente ou se está relacionada à concomitância de muitos fatores de risco ainda está em aberto (GISONDI et al., 2018).

Ahlehoff *et al* , em um estudo de coorte dinamarquês (1997 a 2006) com 34.371 pessoas com psoríase leve, 2.621 com psoríase grave e 4.003.265 controles, demonstraram aumento no risco de morte por causa cardiovascular (RR 1,14 IC 95% 1,06–1,22 para psoríase leve e RR 1,57 IC 95% 1,27– 1,94 para grave), com o maior aumento entre jovens (idades entre 18 e 50 anos, RR 2,98, IC 95% 1,32–6,73) com doença grave. No que se refere ao desfecho composto avaliado (infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e morte por causa cardiovascular) o risco foi também aumentado para psoríase leve e grave (RR 1,20 IC95% 1,14–1,25 e RR 1,58 IC 95% 1,36–1,82, respectivamente). O risco foi semelhante em pacientes com doença cutânea grave isoladamente e naqueles com artrite psoriática (AHLEHOFF et al., 2011).

Meta-análise com 33 estudos observacionais que avaliaram as taxas de eventos cardiovasculares em pacientes com psoríase em comparação com controles mostrou um risco aumentado de infarto do miocárdio (OR 1,25 IC 95% 1,03–1,52 na psoríase exclusivamente cutânea e 1,57 IC 95% 1,08–2,27 na artrite psoriática), em comparação com a população geral, e permaneceu significativamente elevado após o controle dos principais fatores de risco cardiovasculares. A meta-análise identificou uma associação pequena, mas significativa, entre psoríase e doença arterial coronariana (OR 1,19 IC 95% 1,14–1,24 para estudos transversais, OR 1,20 IC 95% 1,13–1,27 para estudos de coorte e OR 1,84 IC 95% 1,09–3,09 para estudos caso-controle), principalmente em pacientes com psoríase grave ou de início precoce. A avaliação do risco de acidente vascular cerebral apresentou resultados inconclusivos: os estudos transversais sugeriram um risco ligeiramente maior de acidente vascular cerebral (OR 1,14 IC 95% 1,08–1,99) em

pacientes com psoríase, enquanto a meta-análise de estudos de coorte não conseguiu mostrar uma associação. Neste estudo não houve aumento de mortalidade cardiovascular entre pacientes com psoríase ou artrite psoriática (HORREAU et al., 2013).

A rigidez aórtica (rAo) é considerada um importante marcador pré-clínico do desenvolvimento de complicações cardiovasculares, e ganhou reconhecimento como fator de risco em pacientes com hipertensão arterial e outras doenças cardiovasculares. O consenso de especialistas sobre a medição da rigidez aórtica na prática clínica (VAN BORTEL et al., 2012) definiu a velocidade da onda de pulso carotídeo-femoral (VOP-cf) como o padrão ouro para medição da rigidez arterial. Neste documento e nas diretrizes da Sociedade Europeia de Hipertensão e da Sociedade Europeia de Cardiologia de 2013 para o manejo da hipertensão arterial (MILAN et al., 2019), o valor de VOP-cf superior a 10 m/s é indicado como um índice de dano orgânico subclínico, o que aumenta o risco cardiovascular global, sendo portanto um marcador preciso para aterosclerose subclínica. O valor preditivo da rigidez aórtica medido pela VOP-cf foi superior no Framingham Heart Study à rigidez da artéria braquial (VOP carotídeo-radial) (VAN BORTEL et al., 2012). A padronização da técnica de medição, e o valor de corte de 10m/s usando 80% da distância entre artéria carótida comum e a artéria femoral comum passaram a ser adotados desde 2012 (VAN BORTEL et al., 2012) e devem ser utilizados na comparação entre estudos clínicos.

MASLD é *per se* um fator de risco para aterosclerose (GANZETTI, 2016; VILLELANOGUEIRA et al., 2016). Curiosamente, foi descrita a associação entre aumento da rAo e fibrose hepática avançada, independente de outros fatores de risco cardiometabólicos tradicionais (VILLELANOGUEIRA et al., 2016). Em pacientes com DM2 e MASLD, a rigidez aórtica aumentada ou progressivamente maior foi preditor de fibrose hepática avançada, avaliada por TE (LEITE et al., 2016).

A avaliação da rigidez aórtica em pacientes com psoríase poderia ser útil, portanto, para prever o risco de fibrose hepática e cardiovascular nesta população. O aumento da rAo pode ser um marcador que ligaria os múltiplos mecanismos inflamatórios e mediados por citocinas da hipótese do eixo hepato-dérmico (MANTOVANI et al., 2016; PRUSSICK; MIELE, 2018), pois reflete os efeitos a longo prazo de riscos estabelecidos e fatores desconhecidos (TRIANAFYLLIAS et al., 2023) para complicações cardiovasculares e hepáticas.

Ateromatose subclínica na psoríase

Indivíduos com Pso apresentam aumento da rigidez arterial bem estabelecido quando comparados a controles (BERGER; FESLER; ROUBILLE, 2021; SHAHARYAR et al., 2014; TRIANTAFYLLIAS et al., 2023); na maioria dos estudos é independente do efeito de fatores de risco tradicionais, como tabagismo, hipertensão arterial sistêmica e IMC. Já houve associação independente entre idade e aumento da rAo, o que reflete os processos fisiopatológicos causados pelo envelhecimento nas paredes arteriais da matriz extracelular composição (ANGOFF; MOSARLA; TSAO, 2021; TRIANTAFYLLIAS et al., 2023).

A variação da VOP-cf em pacientes com psoríase na maioria dos estudos que usaram a velocidade de onda de pulso entre a carótida e a artéria femoral para análise comparativa foi de 7,0 m/s a 10,4m/s, com grupos variando entre 30 a 59 pacientes com psoríase (ALTEKIN, 2012; BALTA et al., 2014; DATTILO et al., 2018; GISONDI et al., 2009a; IKONOMIDIS et al., 2015). Quando comparado aos controles, todas as diferenças tiveram significância estatística. Variações com relação ao método de medida entre a carótida e a artéria femoral ocorreram entre os estudos, mesmo sendo realizada após as recomendações de 2012 (VAN BORTEL et al., 2012). Outros estudos caso-controles usando a VOP carótida-braquial encontraram da mesma forma significância estatística com relação a maior rAo entre os pacientes com psoríase (COSTA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2019; SHEN et al., 2015; SUNBUL et al., 2014).

Todos os estudos anteriores na psoríase foram caso-controle e nenhum deles utilizou o valor de corte padrão da cf-PWV de 10 m/s (estabelecido em 2012) para predição de eventos cardiovasculares. Em 477 pacientes da coorte de estudo de DM2 do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Cohort Study- (CARDOSO et al., 2015), também uma população com alto risco cardiovascular, foi encontrada prevalência de 25% de rAo maior ou igual a 10m/s.

Terapia anti-inflamatória e risco cardiovascular

Algumas terapias medicamentosas utilizadas no tratamento da psoríase podem piorar alguns parâmetros metabólicos. Por exemplo, a ciclosporina pode ter um impacto negativo nos lípidos e glicose séricos, bem como pode induzir ou agravar a hipertensão arterial sistêmica. O efeito potencialmente diabetogênico do tratamento com ciclosporina

pode estar relacionado à inibição da secreção de insulina pelas células beta pancreáticas, um efeito que pode ser ainda mais pronunciado em pacientes com psoríase e obesidade. Semelhante à ciclosporina, a acitretina pode induzir hipertrigliceridemia e/ou hipercolesterolemia (GISONDI et al., 2018).

Apesar da hepatotoxicidade do MTX ser historicamente discutida, e da mielotoxicidade associada ao uso de MTX também ser motivo para monitoramento regular (KALB et al., 2009) o efeito protetor do MTX na aterosclerose se baseia na ação sobre o processo inflamatório que liga a patogênese da psoríase e a DCV. Portanto, a terapia anti-inflamatória (incluindo as drogas imunobiológicas, que representam o avanço das últimas décadas no tratamento da psoríase) poderia ser relevante no tratamento e prevenção dessas patologias.

Os dados clínicos disponíveis na artrite reumatóide são consistentes e convergem para a conclusão de que o MTX melhora o risco cardiovascular de forma dose-dependente. No entanto, este impacto positivo do MTX parece ser menor do que a terapia imunobiológica, provavelmente em paralelo com a eficácia clínica e biológica. Na psoríase, os dados disponíveis são escassos e insuficientes para permitir tirar conclusões sólidas (VERHOEVEN et al., 2021).

Na avaliação de artrites inflamatórias, há maior prevalência de fatores de risco cardiovasculares na artrite psoriática, seguida pela artrite reumatoide, em comparação com o resto das artrites inflamatórias (BARBARROJA et al., 2022).

Em 2011, quando ainda os imunobiológicos não eram difusamente utilizados, uma meta-análise de 10 estudos observacionais em pacientes com psoríase, artrite reumatóide e poliartrites, o metotrexato foi associado a um risco 21% menor de DCV total ($n=10$ estudos, IC 95% 0,73-0,87, $p<0,001$) e risco 18% menor de infarto do miocárdio ($n=5$ estudos, IC 95% 0,71-0,96, $p=0,01$) (MICHA et al., 2011).

Em uma primeira meta-análise já na era da terapia imunobiológica, apenas seis estudos com pacientes com psoríase e artrite psoriática foram incluídos. Houve uma redução nos eventos cardiovasculares com terapia sistêmica (incluindo MTX e anti-TNF) na artrite psoriática (RR 0,75; IC 95% 0,63 a 0,91). Dada a escassez de estudos em psoríase, foi avaliado somente o efeito da terapia sistêmica em comparação com nenhuma terapia sistêmica sobre o risco de todos os eventos cardiovasculares (ROUBILLE et al., 2015).

Em estudo prospectivo mais recente avaliando o risco comparativo de eventos cardiovasculares maiores (síndrome coronariana aguda, angina instável, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral) com 5.468 pacientes com psoríase tratados com

adalimumabe, etanercepte, ustequinumabe e MTX, não encontraram diferenças significativas no risco de eventos cardiovasculares maiores entre as terapias biológicas (RUNGAPIROMNAN et al., 2020)

Em uma sub-análise da revisão sistemática de Horreau et al (HORREAU et al., 2013), exclusivamente em pacientes com Pso, dois grandes estudos retrospectivos encontraram um efeito protetor do MTX na incidência de eventos cardiovasculares maiores. Em um deles, o tratamento com MTX e agentes biológicos também foi associado à redução do risco de morte e eventos de doenças cardiovasculares em pacientes com psoríase grave em uma análise subsequente de mundo real (AHLEHOFF et al., 2013).

Os dados da avaliação do papel do MTX e imunobiológicos no risco cardiovascular subclínico (e não de eventos cardiovasculares) na psoríase são escassos.

O estudo PSARA (Psoriatic Arthritis, Ankylosing Spondylitis, Rheumatoid Arthritis Study), que teve como objetivo observar os efeitos na função endotelial (avaliada pela tonometria arterial periférica com hiperemia reativa, expressa pelo razão entre a magnitude da amplitude média da onda de pulso pós-obstrutiva e pré-oclusão) do MTX em monoterapia, MTX em combinação com inibidores de TNFalfa e o mesmo em monoterapia nas artrites inflamatórias, observou uma melhora na função endotelial após 6 meses de tratamento em todos os três grupos de tratamento. O efeito foi mais forte no grupo de pacientes tratados com MTX em monoterapia (ATZENI et al., 2021; DEYAB et al., 2017).

A velocidade da onda de pulso foi avaliada apenas em pacientes com artrite reumatoide tratados com MTX ou diferentes drogas modificadoras de doença sintéticas ou biológicas de forma prospectiva, e o MTX foi capaz de controlar o enrijecimento arterial em uma segunda avaliação da rAo (BĂLĂNESCU et al., 2019). Não há estudos do efeito do MTX ou drogas imunobiológicas na aterosclerose subclínica.

Cerca de 20% dos pacientes com história de doença cardiovascular aterosclerótica na população geral sofrerão eventos cardiovasculares, apesar do tratamento farmacológico pleno. Isto realça a presença de risco cardiovascular residual numa proporção significativa de pacientes e a necessidade de terapias novas que tenham como alvo as vias inflamatórias e imunitárias. O metotrexato vem fazendo parte de vários estudos prospectivos que investigam o seu efeito nos desfechos cardiovasculares, morbidade e mortalidade para definir o papel terapêutico exato do metotrexato neste contexto (MANGONI et al., 2018).

3. Objetivos

Objetivo geral:

Avaliar o impacto dos polimorfismos genéticos PNPLA3/TM6SF2, dos parâmetros metabólicos e da dose cumulativa de metotrexato na esteatose na fibrose hepática em pacientes com psoríase.

Objetivos específicos:

- 1) Determinar a frequência de esteatose hepática e fibrose hepática avançada através do CAP e da elastografia hepática transitória (FibroScan[®]) em pacientes com psoríase.
- 2) Determinar a frequência de síndrome metabólica em pacientes com psoríase.
- 3) Determinar a frequência dos genótipos PNPLA3/TM6SF2 em pacientes com psoríase.
- 4) Determinar a associação da síndrome metabólica, da dose cumulativa de metotrexato e dos genótipos PNPLA3/TM6SF2 com a esteatose hepática e fibrose hepática avançada em pacientes com psoríase.
- 5) Avaliar a associação da aterosclerose subclínica, avaliada pela velocidade de onda de pulso carótido-femoral, com a presença de esteatose e fibrose hepática avançada, síndrome metabólica e a dose cumulativa de metotrexate em pacientes com psoríase.

4. Casuística e Métodos

A casuística e métodos de nossos estudos estão descritos nos dois artigos, um já publicado e outro submetido para publicação, apresentados a seguir.



Contents lists available at ScienceDirect

Annals of Hepatology

journal homepage: www.elsevier.es/annalsofhepatology

Original article

Psoriasis and steatotic liver disease: Are PNPLA3 and TM6SF2 polymorphisms suitable for the hepato-dermal axis hypothesis?



Luciana Agoglia^{a,b,*}, Ana Carolina Cardoso^a, Lívia Barbosa^c,
Cecília Schubert Xavier Lagalhard Victor^d, Sueli Carneiro^d,
Paulo Henrique Condeixa de França^e, Maria Chiara Chindamo^a,
Cristiane Alves Villela-Nogueira^a

^a School of Medicine and Hepatology Unit, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil

^b Section of Gastroenterology, Hospital Universitário Antônio Pedro, Federal University Fluminense, Niterói, Brazil

^c Dermatology Division, Hospital Federal de Bonsucesso, Rio de Janeiro, Brazil

^d School of Medicine and Dermatology Unit, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil

^e University of the Region of Joinville, UNIVILLE, Joinville, Santa Catarina, Brazil

ARTICLE INFO

Article History:

Received 7 December 2023

Accepted 4 February 2024

Available online 14 February 2024

Keywords:

Psoriasis

Genetic polymorphisms

Liver steatosis

Liver fibrosis

Elastography

ABSTRACT

Introduction and Objectives: A high prevalence of steatotic liver disease has been described in psoriasis. However, the influence of genetic polymorphisms has yet to be investigated in this scenario. This study aims to determine the frequency of steatosis, advanced liver fibrosis and PNPLA3/TM6SF2 genotypes in individuals with psoriasis and to evaluate the impact of genetic polymorphisms, metabolic parameters and cumulative methotrexate dose on steatosis and fibrosis.

Materials and Methods: Cross-sectional study that prospectively included psoriasis outpatients, submitted to clinical and laboratory analysis, transient elastography (FibroScan®, Fr) and PNPLA3/TM6SF2 genotyping. Steatosis was defined by CAP ≥ 275 dB/m and advanced liver fibrosis as transient elastography ≥ 10 kPa. Logistic regression analysis evaluated the independent variables related to steatosis and fibrosis; p-value < 0.05 was considered significant.

Results: One hundred and ninety-nine patients were enrolled (age 54.6 ± 12.6 years, 57.3% female). Metabolic syndrome (MetS), steatosis and advanced liver fibrosis prevalence were 55.8%, 54.8% and 9%, respectively. PNPLA3 and TM6SF2 genotypes frequencies were CC 42.3%/CG 49.5%/GG 8.2% and CC 88.7%/ CT 11.3%/ TT 0%. MetS (OR 3.01 95%CI 1.51-5.98; $p = 0.002$) and body mass index (OR 1.17 95%CI 1.08-1.26; $p < 0.01$) were independently associated with steatosis. Diabetes Mellitus (T2DM) (OR 10.76 95%CI 2.42-47.87; $p = 0.002$) and harboring at least one PNPLA3 G allele (OR 5.66 95%CI 1.08-29.52; $p = 0.039$) were associated with advanced fibrosis, but not TM6SF2 polymorphism or cumulative MTX dose.

Conclusions: MetS and T2DM confer higher odds for steatosis and advanced fibrosis in individuals with psoriasis. PNPLA3 G allele, but not TM6SF2 polymorphism, impacts a 5-fold odds of advanced liver fibrosis.

© 2024 Fundación Clínica Médica Sur, A.C. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

1. Introduction

Psoriasis (Pso) is a chronic, immune-mediated inflammatory skin disease whose severity depends on environmental and inherited factors [1]. Prevalence in Western countries is around 2–4% of the population, depending on age and ethnicity [2], and it is associated with metabolic syndrome (MetS) [3,4]. Psoriatic patients have a two-fold risk of Steatotic Liver Disease (SLD) compared to non-psoriatic controls [5]. SLD is bi-directionally associated with MetS and its components, which increases the risk of advanced fibrosis and cirrhosis [6], especially in specific populations like patients with type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) and medically complicated obesity [7]. A new

Abbreviations: Pso, psoriasis; MetS, metabolic syndrome; SLD, steatotic liver disease; T2DM, type 2 diabetes mellitus; MTX, methotrexate; PNPLA3, patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene; BMI, body mass index; TM6SF2, transmembrane 6 superfamily member 2 gene; CAP, controlled attenuation parameter; TE, transient elastography; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transferase; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; LSM, liver stiffness measurement; IQR, interquartile interval; kPa, kilopascals; dB/m, decibels per meter; MASLD, metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease

* Corresponding author.

E-mail address: luagoglia13@gmail.com (L. Agoglia).

<https://doi.org/10.1016/j.aohep.2024.101477>

1665-2681/© 2024 Fundación Clínica Médica Sur, A.C. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

perspective of the liver as “a non-innocent bystander” in the steatosis scenario has emerged, as hepatic lipid accumulation also impacts glucose and lipid metabolisms [8].

Observational studies have demonstrated associations between Pso and SLD in recent decades, even independently of MetS [9,10]. In retrospective studies, liver fibrosis in Pso has been linked to MetS and SLD more than the cumulative methotrexate (MTX) dose despite difficulties in histological differentiation since both MTX and SLD share common histological aspects [11–15]. A recent large longitudinal cohort study found no association between cumulative MTX dose and elevated liver stiffness or serologic markers of fibrosis, showing that T2DM was the most significant risk factor associated with liver stiffness [16].

Since 2016, a Hepato-Dermal Axis hypothesis has emerged, demonstrating multiple inflammatory and cytokine-mediated mechanisms shared by the steatotic liver and Pso, coming from a unique trigger, such as the expanded and inflamed adipose tissue [17]. Although it appears reasonable, there may be additional factors to justify the independent association between SLD and Pso and, especially, fibrosis.

Patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene (PNPLA3) polymorphism I148M (rs738409) has emerged as one of the key genetic determinants of SLD, metabolic steatohepatitis and progressive liver fibrosis, irrespective of body mass index (BMI), insulin resistance and dyslipidemia [18,19]. In addition, a polymorphism of the transmembrane 6 superfamily member 2 gene (TM6SF2), variant E167K (rs58542926), has also been associated with SLD independently of PNPLA3 variant I148M effect, but equally not associated with BMI and insulin resistance [20]. So far, the impact of both polymorphisms has not been evaluated in Pso patients.

Considering the potential association between Pso and SLD, this study aimed to determine the frequency of steatosis, advanced liver fibrosis, PNPLA3 and TM6SF2 genotypes in this population. Additionally, we sought to evaluate the impact of genetic polymorphisms, metabolic parameters and cumulative MTX dose on steatosis and advanced liver fibrosis in individuals with psoriasis.

2. Material and methods

2.1. Study design and patients

This bicentric cross-sectional study included outpatients with established Pso diagnosis (clinically and/or histologically), at least 18 years old, regardless of the type of Pso-specific treatment, from dermatology divisions at tertiary hospitals, Federal Hospital of Bonsucesso and Clementino Fraga Filho University Hospital of the Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.

Exclusion criteria were: HIV, hepatitis B and hepatitis C, as well as those with other etiologies for chronic liver diseases; use of hepatotoxic drugs in the last six months, steatogenic drugs (except MTX) like systemic corticosteroids, amiodarone, valproic acid and tamoxifen in the last two years or systemic chemotherapy in the last five years; daily alcohol intake greater than 20g for women and 30g for men in the last five years; conditions that could interfere with liver stiffness analysis (liver congestion, ascites, serum aminotransferase values greater than five times the upper standard limit, cholestasis and pregnancy).

2.2. Study procedures

Individuals included in the study were submitted to clinical and laboratory evaluation and liver stiffness /controlled attenuation parameter (CAP) measurements using transient elastography (TE) (FibroScan® TOUCH 502, Echoscans, Fr). Blood sample collection for PNPLA3/TM6SF2 genotyping, metabolic evaluation, and TE were performed on the same day.

2.3. Demographic, clinical and laboratory variables

Demographic (sex, age), anthropometric (BMI, abdominal circumference) and clinical data (diagnosis of T2DM, systemic arterial hypertension, dyslipidemia and MetS according to ATPIII criteria [21]) were collected. Data regarding clinical psoriasis characteristics were: time since psoriasis onset (time since the first cutaneous lesion onset, reminded by the patient), time of dermatological follow-up (defined as the time since any dermatologic treatment/follow-up until the study enrollment date), use of immunobiological (anytime) and cumulative MTX dose. Cumulative MTX doses ≥ 1500 mg were considered at risk for steatosis and fibrosis [13].

Laboratory data included alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT), total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, glycated hemoglobin and platelet count. Liver enzymes (AST, ALT and GGT) were analyzed as absolute values and indexes (absolute value/upper standard limit).

2.4. Liver stiffness measurement (LSM) and controlled attenuation parameter (CAP)

Liver stiffness measurement was performed with at least 3 hours of fasting by a single experienced operator using Fibroscan® TOUCH 502 (Echoscans, France) with M and XL probes designed for this device. The technique used was previously described [22]. Only results with ten valid shots, success rate $> 60\%$ and an interquartile interval (IQR) /median liver stiffness ratio $\leq 30\%$ were included in the analysis. The results were expressed in kilopascals (kPa). The CAP was simultaneously evaluated within valid LSM and was expressed in decibels per meter (dB/m). The XL probe, designed to evaluate measurements between 35 mm and 75 mm in depth (against 25–65 mm in the M probe), was used in those patients who failed to obtain valid measurements with the M probe. The best cut-off for advanced liver fibrosis was 10 kPa [23]. CAP results equal to or greater than 275 dB/m are defined as the presence of steatosis [24].

2.5. Genetic analysis of PNPLA3 and TM6SF2 polymorphisms

DNA extraction was performed according to the procedures recommended by the manufacturer of the “Qiaamp DNA Mini Kit” (Qiagen), followed by quantification and determination of the degree of purity via spectrophotometric readings at 260 and 280 nm in an Epoch equipment (BioTek Instruments). The polymorphisms rs738409 (C / G) of the PNPLA3 gene and rs58542926 (C / T) of the TM6SF2 gene were genotyped using specific allele TaqMan® (Applied Biosystems) probes via real-time polymerase chain reaction (qPCR), using the CFX96 thermocycler (Bio-Rad), under universal amplification conditions. The identified alleles characterized three genotypes of PNPLA3 (CC, CG and GG) and TM6SF2 (CC, CT and TT). After genotyping, the SNP analysis tool (<https://www.snpstats.net/start.htm>) was used to determine whether the studied sample was in Hardy-Weinberg equilibrium. The presence of at least one allele G for the PNPLA3 gene and at least one allele T for the TM6SF2 gene were considered for analysis.

2.6. Statistical analysis

Data was recorded in case report forms and entered in SPSS 21.0 software (IBM Corp, Armonk, New York). Categorical and continuous variables were analyzed and expressed as frequencies for categorical variables. Continuous variables were expressed as means with standard deviation or medians with interquartile intervals in the case of parametric or non-parametric distribution, respectively. Univariate analysis was performed using the Chi-square or Fisher test for categorical variables and Student's *t*-test or Mann-Whitney test for

continuous variables as appropriate. Binary logistic regression analysis was performed to identify variables independently associated with steatosis and fibrosis. The variables included in the model were those with clinical plausibility or p-values < 0.20 in the univariate analysis. The significance level adopted was 5%, with descriptive levels (p) below this value being considered statistically significant.

2.7. Ethical statements

Written informed consent was obtained from each patient included in the study and the study protocol conforms to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a priori approval by the Ethics Committee of Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Federal University of Rio de Janeiro (CAAE 13459019.2.0000.5257) and Hospital Federal de Bonsucesso (CAAE 13459019.2.3001.5253).

3. Results

Two hundred and eight patients were selected; eight lost follow up, and one was excluded due to unreliable LSM. Thus, one hundred and ninety-nine patients were enrolled for the analysis. All patients had blood collected adequately. Unequivocal PNPLA3 and TM6SF2 genotyping data were achieved in 194 and 177 patients, respectively (Fig. 1). Demographic, clinical and laboratory data, PNPLA3/TM6SF2 genotypes, TE and CAP data were shown in Table 1. The distribution of genotypes for PNPLA3/TM6SF2 on this studied sample was in Hardy-Weinberg equilibrium (data not shown).

3.1. Analysis of steatosis and advanced liver fibrosis evaluated by TE

The comparative analysis regarding patients with and without steatosis and advanced liver fibrosis evaluated by TE are shown in Table 2 and Table 3, respectively.

Variables included on logistic regression for steatosis were BMI, MetS, GGT index and cumulative MTX dose (the latter was included based on clinical plausibility). Abdominal circumference, arterial hypertension, dyslipidemia, HDL and triglycerides were also statistically significant but not included as they were competitive with BMI and MetS. MetS and BMI were independently associated with steatosis (Table 4).

Regarding liver stiffness, variables included in logistic regression were PNPLA3 CG/GG, TM6SF2 CT/TT, T2DM, Arterial Hypertension, BMI and cumulative MTX dose (the latter also for clinical plausibility). Abdominal circumference, GGT index and CAP were also not included

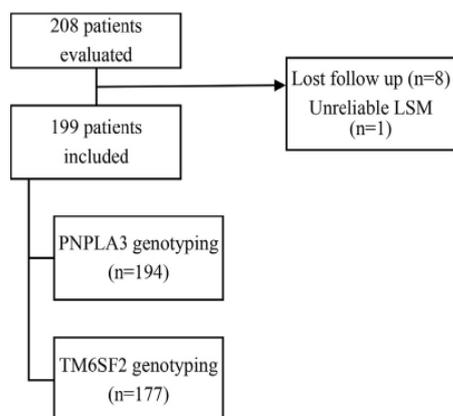


Fig. 1. Study flowchart. TM6SF2, Transmembrane 6 superfamily member 2 gene; PNPLA3, Patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene; LSM, Liver stiffness measurement.

Table 1
Study population characteristics.

Variables	n = 199
Demographic, anthropometric and clinical data	
Female sex (%)	57.3
Age (years)	54.6 ± 12.6
BMI (Kg/m ²)	29.3 ± 5.7
BMI > 25 Kg/m ² (%)	75.0
BMI > 30 Kg/m ² (%)	37.7
Abdominal circumference (cm)	103.0 ± 13.2
Type 2 Diabetes Mellitus (%)	30.7
Arterial hypertension (%)	60.8
Dyslipidemia (%)	69.8
Metabolic Syndrome (%)	55.8
Clinical psoriasis characteristics	
Time since psoriasis onset (months)	146.0 (78.6-264.0)
Time of dermatological follow-up (months)	45.0 (16.0-97.5)
MTX treatment (%)	79.3
Cumulative MTX dose (mg)	1365 (663.7-3570)
Cumulative MTX dose ≥ 1500mg (%)	38.6
Cumulative MTX dose ≥ 1500mg (mg)	3600 (2320-5785)
Immunobiological treatment (%)	35.2
Laboratory results	
ALT (U/L)	21.0 (17.0-32.5)
ALT index	0.45 (0.29-0.66)
AST (U/L)	21.0 (18.0-27.0)
AST index	0.52 (0.45-0.69)
GGT (U/L)	29.0 (21.2-40.0)
GGT index	0.46 (0.35-0.73)
LDL (mg/dL)	119.0 ± 36.7
HDL (mg/dL)	45.0 (39.0-55.0)
Triglycerides (mg/dL)	127.0 (91.0-169.0)
Glycated hemoglobin (%)	5.8 (5.5-6.4)
Platelet count (x10 ³)	251.2 ± 68.8
Genetic characteristics	
PNPLA3 CC/CG/GG (%) [†]	42.3/49.5/8.2
G allele frequency (%)	32.9
TM6SF2 CC/CT/TT (%) ^{††}	88.7/11.3/0
T allele frequency (%)	5.6
Elastographic characteristics	
LSM (kPa)	5.3 (4.2-6.7)
LSM (kPa) ≥ 10 (%)	9
IQR (%)	15.0 (10.0-20.0)
CAP (dB/m) ≥ 275 (%)	54.8
CAP (dBm)	275.8 ± 55.6
Success Rate (%)	100.0 (87.0-100.0)
M Probe (%)	63.3

Values are proportion for categorical data, mean (SD) for normally distributed data and medians (interquartile interval) for non-parametric data. BMI, Body Mass Index; ALT, AST, and GGT indexes absolute value/upper normal limit; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein; LSM, liver stiffness measurement; CAP, controlled attenuation parameter.

[†] Total PNPLA3 genotyping, n = 194.

^{††} Total TM6SF2 genotyping, n = 177.

as they were competitive with variables included in the initial model. Both models were adjusted for age and gender. T2DM and at least one G allele of the PNPLA3 genotype were independently associated with advanced liver fibrosis in this population (Table 5).

4. Discussion

This is the first study to evaluate the frequency and impact of PNPLA3 and TM6SF2 polymorphisms on SLD in a population diagnosed with psoriasis. We demonstrated the association between the PNPLA3 rs738409 C > G polymorphism and advanced liver fibrosis assessed by LSM higher than 10 kPa. On the other hand, no impact was observed either in steatosis or fibrosis due to TM6SF2 polymorphism.

The prevalence of SLD was elevated in this Brazilian multi-ethnic population of Pso patients. At least one PNPLA3 G allele was associated with a 5.7-fold increased odds of advanced liver fibrosis. The present study has also shown that the distribution of PNPLA3 and

Table 2
Comparative analysis between patients with Pso with and without steatosis (CAP \geq 275dB/m) (n = 199).

Variables	<275dB/m (n=90)	\geq 275 dB/m (n=109)	p
Female sex (%)	61.1	54.1	0.32
Age (years)	53.7 \pm 13.6	55.3 \pm 11.8	0.37
BMI (Kg/m ²)	26.9 \pm 5.1	31.3 \pm 5.4	<0.001
Abdominal circumference (cm)	97.2 \pm 11.4	107.7 \pm 12.7	<0.001
Type 2 Diabetes Mellitus (%)	26.7	33.9	0.26
Arterial hypertension (%)	40.0	78.0	<0.001
Dyslipidemia (%)	54.4	82.6	<0.001
Metabolic Syndrome (%)	35.6	72.5	<0.001
ALT index	0.33 (0.27)	0.46 (0.47)	0.37
AST index	0.52 (0.23)	0.54 (0.30)	0.75
GGT index	0.45 (0.44)	0.59 (0.42)	0.01
LDL (mg/dL)	122.4 \pm 34.6	116.1 \pm 38.2	0.24
HDL (mg/dL)	50 (11)	43 (12)	<0.001
Triglycerides (mg/dL)	114 (59)	157 (100)	<0.001
Time since psoriasis onset (months)	132.0 (246.0)	145.3 (183.1)	0.87
Cumulative MTX dose (mg)	900 (2330)	1200 (2730)	0.73
Cumulative MTX dose \geq 1500mg (%)	38.9	38.5	0.95
PNPLA3 CG/GG (%)	53.4	61.3	0.26
PNPLA3 GG (%)	6.8	9.4	0.51
TM6SF2 CT/TT (%)	11.4	11.2	0.97

Values are proportion for categorical data, mean (SD) for normally distributed data and medians (interquartile range) for non-parametric data. BMI, Body Mass Index; ALT, AST and GGT indexes (absolute value/ upper standard limit); LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein.

Table 3
Comparative analysis between patients with Pso with and without advanced liver fibrosis (LSM \geq 10kPa) (n=199).

Variables	<10kPa (n = 181)	\geq 10 kPa (n = 18)	p
Female sex (%)	56.4	66.7	0.39
Age (years)	54.4 \pm 12.6	56.7 \pm 13.0	0.46
BMI (Kg/m ²)	29.0 \pm 5.3	32.9 \pm 8.0	0.056
Abdominal circumference (cm)	102.0 \pm 12.6	112.4 \pm 15.5	0.001
Type 2 Diabetes Mellitus (%)	25.4	83.3	<0.001
Arterial hypertension (%)	58.0	88.9	0.01
Dyslipidemia (%)	69.1	77.8	0.44
Metabolic Syndrome (%)	52.5	88.9	0.003
Platelet Count (x 10 ³)	251.5 \pm 66.2	252.9 \pm 90.8	0.93
ALT index	0.45 (0.36)	0.41 (0.28)	0.69
AST index	0.52 (0.22)	0.49 (0.36)	0.88
GGT index	0.46 (0.33)	0.54 (0.83)	0.06
Time since psoriasis onset (months)	146.1 (184.6)	142.2 (249.6)	0.98
Cumulative MTX dose (mg)	980 (2564)	510 (2340)	0.44
Cumulative MTX dose \geq 1500mg (%)	38.7	38.9	0.98
CAP (dB/m)	273.0 \pm 55.4	301.8 \pm 52.6	0.03
CAP \geq 275 dB/m (%)	52.5	77.8	0.04
PNPLA3 CG/GG (%)	55.1	87.5	0.012
PNPLA3 GG (%)	7.3	18.8	0.11
TM6SF2 CT/TT (%)	12.3	0.0	0.14

Values are proportion for categorical data, mean (SD) for normally distributed data and medians (interquartile range) for non-parametric data. BMI, Body Mass Index; ALT, AST and GGT indexes (absolute value/ upper standard limit), and CAP, controlled attenuation parameter.

Table 4
Model for independently associated variables with the presence of steatosis (CAP \geq 275dB/m).

Covariates*	Odds Ratio	p	95%CI
Metabolic Syndrome	3.01	0.002	1.51-5.98
BMI	1.17	<0.001	1.08-1.26

* Adjusted for age and sex. CI, confidence interval.

Table 5
Model for independently associated variables with the presence of advanced liver fibrosis as outcome (LSM \geq 10kPa).

Covariates*	Odds Ratio	p	95%CI
Type 2 Diabetes Mellitus	10.76	0.002	2.42-47.87
PNPLA3 CG/GG	5.66	0.039	1.08-29.52

* Adjusted for age and sex. CI, confidence interval.

TM6SF2 genotypes is similar to those regarding non-psoriatic SLD South American populations [25–27]. The expanded adipose tissue/dysmetabolism seems to be the main trigger for the hepato-dermal axis [17], and we may hypothesize if the PNPLA3 polymorphism in Pso may have a role in the direct hepato-dermal interplay, resulting in a phenotype of high risk of liver disease [28]. In parallel, there is evidence of the association between spleen longitudinal diameter and duration of disease in psoriasis; this reinforces the hepato-dermal axis hypothesis, also pointing to the enlarged spleen as an indicator of systemic inflammation in psoriasis [29].

Data from a well-powered meta-analysis showed that PNPLA3 rs738409 C > G polymorphism impacts fibrosis in Metabolic Dysfunction-associated Steatotic Liver Disease (MASLD) patients, where GG homozygous had a 3.2-fold higher odds of developing liver fibrosis [30]. A similar study investigating the relationship between advanced liver fibrosis and genetic polymorphisms in T2DM patients has also described the impact of harboring the GG PNPLA3 genotype [27]. This finding may suggest that SLD in Pso patients may have similar multifactorial aspects as in other populations with MASLD. In our study, T2DM was also independently associated with advanced liver fibrosis, as reported in previous studies involving Pso patients [12,13,16,31]. This result reinforces the evidence that T2DM is the major risk factor for developing MASLD and fibrosis progression in the general population [7].

Interestingly, our study showed no association with steatosis despite the observed relationship between PNPLA3 polymorphism and advanced liver fibrosis. Although PNPLA3 rs738409 C > G polymorphism is related to loss of lipase activity towards triglycerides, increasing liver fat levels [19,32], there is evidence of direct activation of specific fibrogenic signaling pathways [33,34]. On the other hand, TM6SF2 rs58542926 C>T polymorphism had no impact on steatosis or fibrosis in our population, despite the fact of being a variant known for decreasing hepatocyte lipid secretion [20] resulting in more steatosis and liver fibrosis [35,36]. This lack of association might be due to one or both of these factors: first, genotyping was not possible in twenty-two patients due to obtaining dubious results, impairing the power of a possible association; and second, this is a low-frequency polymorphism in our population, with only 11% harboring the T allele, any with the homozygous genotype. A larger population may be necessary to find a potential impact. This way, further studies may better investigate the potential association of TM6SF2 polymorphism with steatosis and fibrosis in Pso individuals, confirming or not our finding.

Although some studies addressed the factors associated with steatosis in Pso patients, with most showing steatosis prevalence ranging between 44 and 47%, the diagnosis of steatosis was always based on ultrasonography [37]. Ultrasonography generally detects only moderate steatosis (20 and 30%), has inter-operator variability and has reduced accuracy in patients with obesity [24]. In the present study, we used the CAP measurement to diagnose steatosis, adopting the recent cut-off recommendation of 275 dB/m with over 90% sensitivity [24], and we detected a higher prevalence of steatosis of 54.8%. Of note, our study also had a slightly higher prevalence of MetS of 55.8%, compared to previously published studies that described a prevalence of 20 to 50% in Pso patients [4].

Importantly, we once again highlighted the absence of an association between cumulative MTX dose and steatosis or advanced liver fibrosis, even when considering cumulative doses of MTX > 1500 mg

[13]. Less than half (38.6%) of the patients had a cumulative MTX dose ≥ 1500 mg despite a total frequency of MTX use of 79.3%. In recent years, there has been a greater availability of immunobiological therapies frequently used with MTX in lower doses in more severe Pso disease. Our study did not evaluate the impact of immunobiological as an indirect protective factor in these patients since they help maintain lower doses of MTX in more severe cases. This hypothesis may also be better investigated in further studies with more patients using immunobiological therapies. However, our study's expressive prevalence of liver fibrosis and steatosis occurred in a population with a median cumulative MTX dose lower than 1500 mg, reinforcing the possible low impact of long-term MTX on liver fibrosis [16,38]. Previous studies based on TE in patients using MTX due to Pso and other chronic inflammatory diseases [39,40,31,41,42,16] adopted lower cut-offs to detect liver fibrosis. They showed a similar prevalence of liver fibrosis from 4.8 to 15.8% compared to our findings (9%) using a cut-off of 10 kPa (none of the patients with $LSM \geq 10$ kPa ($n = 18$) had liver failure. Nonetheless, three of them had clinically significant portal hypertension). Cumulative MTX dose in these studies ranged from 1.38 g [39] to 4.8 g [16], including studies with no MTX use or reported cumulative MTX dose. Those who reported cumulative MTX doses had no association with TE values. Noteworthy, MTX-induced liver fibrosis has been described based on serial liver biopsies when SLD and even viral hepatitis were not recognized [43]. Finally, the most relevant concern would be whether MTX can worsen the natural history of SLD in Pso [43,44]. *In vitro* research has recently shown that PNPLA3 rs738409 polymorphism loss of function can also increase sensitivity to hepatotoxins [45], an exciting finding, especially if added to the association between the presence of the PNPLA3 rs738409 C > G polymorphism and advanced liver fibrosis found in our study.

There are some limitations in our study. First, it was a cross-sectional study, where causality cannot be proven. Second, steatosis and liver fibrosis were not histologically proven. However, there was no rationale to perform liver biopsy in these patients since TE and CAP are non-invasive tools used mainly to screen steatosis and liver fibrosis [24,46,47] and have progressively replaced liver biopsy in clinical practice. Third, disease severity on Pso was not measured, and associations were not performed regarding this variable. However, all patients were followed at outpatient clinics from tertiary hospitals, with long-term dermatological follow-up (median: 45.0 months [16.0-97.5]), and mostly on systemic therapy (79.3% on methotrexate and 35.2% on immunobiological therapy), suggesting more severe disease. Lastly, TM6SF2 genotyping was not feasible in 22 patients, which might have underpowered our results regarding its association with liver steatosis or advanced liver fibrosis. On the contrary, this was the first study that has shown the impact of PNPLA3 polymorphism in psoriasis patients, and longitudinal studies evaluating long-term liver outcomes may be valuable to confirm it as a prognostic factor regarding fibrosis in individuals with psoriasis. As the factors related to steatosis in the present study were all metabolic, these individuals may also be prone to lifestyle modifications to control metabolic syndrome and possibly steatosis.

5. Conclusions

There is a clear-cut relationship between the G allele of PNPLA3 polymorphism and the presence of advanced liver fibrosis evaluated by TE, in addition to T2DM, independently of cumulative MTX dose, in patients with psoriasis. TM6SF2 was not associated with SLD in Pso patients. Metabolic risk factors are prevalent in Pso and contribute to steatosis and fibrosis development, but a new perspective emerges, placing PNPLA3 polymorphism as an additional hypothesis for the hepato-dermal axis.

Funding

This study was supported by grants 429965/2018-4 from the National Council for Research and Technology, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil. The sponsors have no role in study design, data collection and analysis, interpretation or preparation of results, or review and approval of the manuscript.

Data availability statement

The data supporting this study's findings are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

Declaration of interests

None.

References

- [1] Krueger J, Bowcock A. Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(Suppl 2):ii30-6. <https://doi.org/10.1136/ard.2004.031120>.
- [2] Parisi R, Symmons DPM, Griffiths CEM. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence. *J Invest Dermatol* 2013;133:377-85. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.339>.
- [3] Azfar RS, Gelfand JM. Psoriasis and metabolic disease: epidemiology and pathophysiology. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20(4):416-22. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e3283031c99>.
- [4] Gisondi P, Fostini AC, Fossà I, Girolomoni G, Targher G. Psoriasis and the metabolic syndrome. *Clin Dermatol* 2018;36(1):21-8. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2017.09.005>.
- [5] Candia R, Ruiz A, Torres-Robles R, Chávez-Tapia N, Méndez-Sánchez N, Arrese M. Risk of non-alcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29(4):656-62. <https://doi.org/10.1111/jdv.12847>.
- [6] EASL-EASD-EASO. Clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2016;64(6):1388-402. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>.
- [7] Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, Abdelmalek MF, Caldwell S, Barb D, et al. AASLD practice guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2023;77(5):1797-835. <https://doi.org/10.1097/JHEP.000000000000323>.
- [8] Vanni E, Marengo A, Mezzabotta L, Bugianesi E. Systemic complications of non-alcoholic fatty liver disease: when the liver is not an innocent bystander. *Semin Liver Dis* 2015;35(03):236-49. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1562944>.
- [9] Gisondi P, Targher G, Zoppini G, Girolomoni G. Non-alcoholic fatty liver disease in patients with chronic plaque psoriasis. *J Hepatol* 2009;51(4):758-64. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.04.020>.
- [10] van der Voort EAM, Koehler EM, Dowlatshahi EA, Hofman A, Stricker BH, Janssen HLA, et al. Psoriasis is independently associated with nonalcoholic fatty liver disease in patients 55 years old or older: results from a population-based study. *J Am Acad Dermatol* 2014;70(3):517-24. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.10.044>.
- [11] Aithal GP, Haugk B, Das S, Card T, Burt AD, Record CO. Monitoring methotrexate-induced hepatic fibrosis in patients with psoriasis: are serial liver biopsies justified? Monitoring methotrexate-induced fibrosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19(4):391-9. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.2004.01819.x>.
- [12] Berends MAM, Snoek J, De Jong EMGJ, Van De Kerkhof PCM, Van Oijen MGH, Van Krieken JH, et al. Liver injury in long-term methotrexate treatment in psoriasis is relatively infrequent. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24(5):805-11. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.03047.x>.
- [13] Rosenberg P, Urwitz H, Johannesson A, Ros A-M, Lindholm J, Kinnman N, Hultcrantz R. Psoriasis patients with diabetes type 2 are at high risk of developing liver fibrosis during methotrexate treatment. *J Hepatol* 2007;46(6):1111-8. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.01.024>.
- [14] Lindsay K, Fraser AD, Layton A, Goodfield M, Gruss H, Gough A. Liver fibrosis in patients with psoriasis and psoriatic arthritis on long-term, high cumulative dose methotrexate therapy. *Rheumatology* 2008;48(5):569-72. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kep023>.
- [15] Yeo CM, Chong VH, Earnest A, Yang WL. Prevalence and risk factors of methotrexate hepatotoxicity in asian patients with psoriasis. *World J Hepatol* 2013;5(5):275-80. <https://doi.org/10.4254/wjh.v5.i5.275>.
- [16] Atallah E, Grove JL, Crooks C, Burden-Teh E, Abhishek A, Moreea S, Aithal GP, et al. Risk of liver fibrosis associated with long-term methotrexate therapy may be overestimated. *J Hepatol* 2023;S01682782300020X. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.12.034>.

- [17] Mantovani A, Gisoni P, Lonardo A, Targher G. Relationship between non-alcoholic fatty liver disease and psoriasis: a novel hepato-dermal axis? *IJMS* 2016;17(2):217. <https://doi.org/10.3390/ijms17020217>.
- [18] Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008;40(12):1461–5. <https://doi.org/10.1038/ng.257>.
- [19] Trépo E, Romeo S, Zucman-Rossi J, Nahon P. PNPLA3 gene in liver diseases. *J Hepatol* 2016;65(2):399–412. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.03.011>.
- [20] Kozlitina J, Smagris E, Stender S, Nordestgaard BG, Zhou HH, Tybjaerg-Hansen A, Vogt TF, Hobbs HH, Cohen JC. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2014;46(4):352–6. <https://doi.org/10.1038/ng.2901>.
- [21] Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med* 2011;9(1):48. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-48>.
- [22] de Lédinghen V, Vergniol J. Transient elastography (FibroScan). *Gastroentérol Clin Biol* 2008;32(6):58–67. [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(08\)73994-0](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(08)73994-0).
- [23] Wong VWS, Irlles M, Wong GLH, Shili S, Chan AWH, Merrouche W, et al. Unified interpretation of liver stiffness measurement by M and XL probes in non-alcoholic fatty liver disease. *Gut* 2019;68(11):2057–64. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-317334>.
- [24] Berzigotti A, Tsochatzis E, Boursier J, Castera L, Cazzagon N, Friedrich-Rust M, et al. EASL clinical practice guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis –2021 update. *J Hepatol* 2021;75(3):659–89. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.05.025>.
- [25] Sookoian S, Castaño GO, Scian R, Mallardi P, Fernández Gianotti T, Burgueño AL, et al. Genetic variation in transmembrane 6 superfamily member 2 and the risk of nonalcoholic fatty liver disease and histological disease severity. *Hepatology* 2015;61(2):515–25. <https://doi.org/10.1002/hep.27556>.
- [26] Mazo DF, Malta FM, Stefano JT, Salles APM, Gomes-Gouveia MS, Natri ACS, et al. Validation of PNPLA3 polymorphisms as risk factor for NAFLD and liver fibrosis in an admixed population. *Ann Hepatol* 2019;18(3):466–71. <https://doi.org/10.1016/j.aohp.2018.10.004>.
- [27] Machado CM, Leite NC, França PH, Cardoso CR, Salles GF, Villela-Nogueira CA. PNPLA3 gene polymorphism in Brazilian patients with type 2 diabetes: a prognostic marker beyond liver disease? *Nutr Metabol Cardiovasc Dis* 2019;29(9):965–71. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.06.002>.
- [28] Arrese M, Arab JP, Barrera F, Kaufmann B, Valenti L, Feldstein AE. Insights into nonalcoholic fatty-liver disease heterogeneity. *Semin Liver Dis* 2021;41(04):421–34. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1730927>.
- [29] Balato N, Napolitano M, Ayala F, Patrino C, Megna M, Tarantino G. Nonalcoholic fatty liver disease, spleen and psoriasis: new aspects of low-grade chronic inflammation. *World J Gastroenterol* 2015;21(22):6892–7. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i22.6892>.
- [30] Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011;53(6):1883–94. <https://doi.org/10.1002/hep.24283>.
- [31] Pongpit J, Porntharukchareon S, Kaewduang P, Promson K, Stitthantrakul W, Pet-raksa S, et al. Liver stiffness measurement in psoriasis: do metabolic or disease factors play the important role? *Biomed Res Int* 2016;2016:7963972. <https://doi.org/10.1155/2016/7963972>.
- [32] He S, McPhaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin NV, et al. Sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem* 2010;285(9):6706–15. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.064501>.
- [33] Oliveira CP. Should PNPLA3 polymorphism be performed in clinical practice in patients with NAFLD to predict the risk of disease progression? *Hepatology* 2022;76(5):1246–7. <https://doi.org/10.1002/hep.32510>.
- [34] Vilar-Gomez E, Pirola CJ, Sookoian S, Wilson LA, Liang T, Chalasani N. PNPLA3 Rs738409 and risk of fibrosis in NAFLD: exploring mediation pathways through intermediate histological features. *Hepatology* 2022;76(5):1482–94. <https://doi.org/10.1002/hep.32491>.
- [35] Dongiovanni P, Petta S, Maglio C, Fracanzani AL, Pipitone R, Mozzi E, et al. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. *Hepatology* 2015;61(2):506–14. <https://doi.org/10.1002/hep.27490>.
- [36] Trépo E, Valenti L. Update on NAFLD genetics: from new variants to the clinic. *J Hepatol* 2020;72(6):1196–209. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.02.020>.
- [37] Prussick RB, Miele L. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a consequence of systemic inflammatory burden? *Br J Dermatol* 2018;179(1):16–29. <https://doi.org/10.1111/bjd.16239>.
- [38] Di Martino V, Verhoeven DW, Verhoeven F, Aubin F, Avouac J, Vuitton L, Lioté F, Thévenot T, Wendling D. Busting the myth of methotrexate chronic hepatotoxicity. *Nat Rev Rheumatol* 2023;19(2):96–110. <https://doi.org/10.1038/s41584-022-00883-4>.
- [39] Laharie D, Seneschal J, Schaevebeke T, Doutre M-S, Longy-Boursier M, Pellegrin J-L, et al. Assessment of liver fibrosis with transient elastography and fibrotest in patients treated with methotrexate for chronic inflammatory diseases: a case-control study. *J Hepatol* 2010;53(6):1035–40. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.04.043>.
- [40] Voort E, Koehler E, Nijsten T, Stricker B, Hofman A, Janssen H, et al. Increased prevalence of advanced liver fibrosis in patients with psoriasis: a cross-sectional analysis from the rotterdam study. *Acta Derm Venerol* 2016;96(2):213–7. <https://doi.org/10.2340/00015555-2161>.
- [41] Rongngern P, Chularojanamontri L, Wongpraparut C, Silpa-Archa N, Chotiayaputta W, Pongpaibul A, et al. Diagnostic performance of transient elastography for detection of methotrexate-induced liver injury using roenic classification in asian patients with psoriasis: a retrospective study. *Arch Dermatol Res* 2017;309(5):403–8. <https://doi.org/10.1007/s00403-017-1733-4>.
- [42] Maybury CM, Porter HF, Kloczko E, Duckworth M, Cotton A, Thornberry K, et al. Prevalence of advanced liver fibrosis in patients with severe psoriasis. *JAMA Dermatol* 2019;155(9):1028. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2019.0721>.
- [43] Martino VD. Methotrexate-induced liver fibrosis: the end of a long-held belief. *J Hepatol* 2023;78(5):896–7. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.02.018>.
- [44] Maybury CM, Jabbar-Lopez ZK, Wong T, Dhillon AP, Barker JN, Smith CH. Methotrexate and liver fibrosis in people with psoriasis: a systematic review of observational studies. *Br J Dermatol* 2014;171(1):17–29. <https://doi.org/10.1111/bjd.12941>.
- [45] Tilson SG, Morell CM, Lenaerts A-S, Park SB, Hu Z, Jenkins B, et al. Modeling PNPLA3-associated NAFLD using human-induced pluripotent stem cells. *Hepatology* 2021;74(6):2998–3017. <https://doi.org/10.1002/hep.32063>.
- [46] Wong VWS, Vergniol J, Wong GLH, Foucher J, Chan HLY, Le Bail B, et al. de Lédinghen V. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010;51(2):454–62. <https://doi.org/10.1002/hep.23312>.
- [47] Karlas T, Petroff D, Sasso M, Fan JG, Mi YQ, de Lédinghen V, et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol* 2017;66(5):1022–30. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.022>.

Psoriasis and Cardiovascular risk: associated and protective factors

Luciana AGOGLIA^{a,b}, Helena PEIXOTO^a, Ana Carolina CARDOSO^a, Livia BARBOSA^c, Cecília S. X. L. VICTER^d, Sueli CARNEIRO^d, Gil F. SALLES^a, Cristiane A. VILLELA-NOGUEIRA^a and Maria Chiara CHINDAMO^a

^a School of Medicine, Department of Internal Medicine, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.

^b Section of Gastroenterology, Hospital Universitário Antônio Pedro, Federal University Fluminense, Niterói, Brazil

^c Dermatology Division, Hospital Federal de Bonsucesso, Rio de Janeiro, Brazil

^d School of Medicine, Dermatology Unit, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil

Previous presentations disclosure: The authors declare there were no previous presentations of the whole or part of the work presented in the article.

Funding statement: This study was supported by grants 429965/2018-4 from the National Council for Research and Technology, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil.

Conflict of interest disclosure: None.

Correspondence to: Luciana Agoglia, MD, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rua Rodolpho Paulo Rocco 255, Serviço de Hepatologia, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, CEP 21.941-913, Brazil. Tel: +552122464601; e-mail: luagoglia13@gmail.com ORCID ID: 0000-0002-2284-4111

Manuscript: 1922 words, 3 Tables.

Abstract

Objective: To determine the relationship between anti-inflammatory therapy and subclinical atherosclerosis in individuals with Pso, using the gold standard carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV) measurement. Additionally, to evaluate the association between cf-PWV, steatosis and advanced fibrosis (AF) using Transient Elastography (TE) by Fibroscan®. **Methods:** Cross-sectional study including Pso patients submitted to cf-PWV and TE. Steatosis was defined as controlled attenuation parameter ≥ 275 dB/m, AF as liver stiffness measurement ≥ 10 kPa, increased aortic stiffness (AoS) as cf-PWV ≥ 10 m/s. Significant cumulative methotrexate dose was ≥ 1500 mg (MTX1500). Logistic regression analysis evaluated the independent variables associated with increased AoS. **Results:** Eighty patients were included (mean age 56.2 ± 11.5 years, 57.5% female, BMI 28.6 ± 5.3 kg/m²). Prevalences of MetS, diabetes mellitus, dyslipidemia, systemic arterial hypertension, steatosis and AF were 57.5%, 40.0%, 67.5%, 70.0%, 50.0% and 16.3%, respectively. MTX1500 was present in 45%, immunobiological treatment in 33.8% and cf-PWV ≥ 10 m/s in 21.2%. On logistic regression analysis, age was independently related to cf-PWV ≥ 10 m/s (OR: 1.21; CI95%: 1.06-1.38; p=0.003) and MTX1500 was a protective cardiovascular factor (OR: 0.18; CI95%: 0.038-0.87; p=0.033). No association was observed between steatosis, AF or immunobiological therapy and cf-PWV ≥ 10 m/s. **Conclusion:** In patients with Pso, increased AoS was associated with age, but not with steatosis or AF. A protective cardiovascular effect of MTX was found in a Pso population with a high prevalence of MetS and its components.

Keywords:

Psoriasis – Aortic Stiffness – Atherosclerosis - Steatotic Liver Disease – Methotrexate.

Introduction

Psoriasis (Pso) is a chronic immune-mediated inflammatory skin disease, which prevalence in western countries is around 2-4%[1], and is associated with metabolic syndrome (MetS)[2]. Psoriatic patients have a two-fold risk of steatotic liver disease (SLD) compared to non-psoriatic controls[3], and it increases the risk of advanced fibrosis (AF), cirrhosis and cardiovascular disease[4]. Methotrexate (MTX) and immunobiological (IB) therapy are effective anti-inflammatory strategies in Pso. On the last decades, liver fibrosis in Pso has been more associated with MetS and SLD than to the cumulative MTX dose[5], [6], [7].

Long-term inflammatory status is associated with MetS and atherosclerosis[8]. Aortic stiffness (AoS), assessed primarily by carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV), is an accurate marker for subclinical atherosclerosis[9]. Interestingly, it has been also described the association between increased arterial stiffness and advanced liver fibrosis, independent of other traditional cardiometabolic risk factors[10]. On type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) patients with SLD, a high or increasing aortic stiffness predicted development of advanced liver fibrosis on transient elastography (TE)[11].

Thereby, considering the potential association between Pso, cardiovascular risk and SLD, the aim of this study was to evaluate the prevalence of subclinical atherosclerosis assessed by AoS and relationships with MTX and IB therapy. Advanced liver fibrosis and steatosis, assessed respectively by transient elastography (FibroScan®) and controlled attenuation parameter (CAP), were additionally evaluated regarding the possible independent association with cardiovascular risk in Pso.

Methods

Study design and patients

This was a cross-sectional study from 2020 to 2022 of outpatients with established Pso diagnosis (clinically and/or histologically), followed by the dermatology division at two tertiary centers, Hospital Federal de Bonsucesso and Clementino Fraga Filho University Hospital, with at least 18 years old, regardless of the type of Pso specific treatment.

Exclusion criteria were: HIV, hepatitis B and hepatitis C infected patients, as well as those with other etiologies for chronic liver diseases, except Metabolic-associated steatotic liver disease (MASLD); use of hepatotoxic drugs in the last six months; use of steatogenic drugs (except MTX), like systemic corticosteroids, amiodarone, valproic acid and tamoxifen in the last two years or systemic chemotherapy in the last five years; daily alcohol intake greater than 20g for women and 30g for man in the last five years; conditions that could interfere with liver stiffness analysis (liver congestion, ascites, serum aminotransferase values greater than 5 times the upper normal limit, cholestasis and pregnancy). The Local Ethic Committee of both hospitals approved the study and all patients have signed an informed consent form.

Study procedures

Individuals included in the study were submitted to anthropometric, clinical and laboratory evaluation, measurement of cf-PWV and liver stiffness /CAP measurements using TE. Blood sample collection for metabolic evaluation, liver stiffness measurements (LSM) and the measurement of cf-PWV were performed at the same day.

Demographic, clinical and laboratorial variables

Demographic (sex, age), anthropometric (body mass index [BMI], abdominal circumference) and clinical (diagnosis of T2DM, systemic arterial hypertension, dyslipidemia, MetS according to ATPIII criteria[12]) data were collected. Data regarding clinical Pso characteristics were: time since Pso onset (time since the first cutaneous lesion onset, reminded by the patient), use of IB therapy (anytime) and cumulative MTX dose. Cumulative MTX doses ≥ 1500 mg were considered at risk for liver fibrosis[5]. Laboratorial data included alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gammaglutamyl transferase (GGT), total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, glycated haemoglobin and platelet count. Liver enzymes (AST, ALT and GGT), were analyzed as absolute values and as indexes (absolute value/ upper normal limit).

Liver stiffness and controlled attenuation parameter measures

Liver stiffness measurement was performed with at least 3 hours fasting by a single experienced operator using Fibroscan® TOUCH 502 (Echosens, France) with M and XL probes designed for this device. Used technique was previously described[13]. Only results with 10 valid shots, success rate > 60% and an interquartile interval (IQR) /median liver stiffness ratio <30% were included in the analysis. The results were expressed in kilopascals (kPa). CAP was simultaneously evaluated within valid LSM and was expressed in decibels per meter (dB / m). The XL probe, designed to evaluate measurements between 35 mm and 75 mm in depth (against 25-65 mm in the M probe), was used in those patients who failed to obtain valid measurements with the M probe. Cut-off of 10 kPa was used to rule out advanced fibrosis[14] and CAP results equal or greater than 275 dB/m defined the presence of steatosis[15].

Measurement of carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV)

The cf-PWV was measured by the validated Complior SP device and software (Artech Medical, Paris, France), by a single experienced operator. Carotid and femoral waveforms were recorded simultaneously using mechanotransducers applied directly to the skin, positioned in correspondence to the right carotid internal artery and right femoral artery. The software measured the difference in time (in milliseconds) elapsed between the beginning of the carotid and femoral pulse waves. Distance between the two points, the carotid-femoral distance (in centimeters), was measured directly and multiplied by 0.8[16]. Two measurements were obtained from each patient, the result was the mean of the two measurements. If the difference between the two measurements was more than 0.5m/s, a third measurement was taken. Cf-PVW was considered increased if ≥ 10 m/s[16].

Statistical Analysis

Data was recorded in case report forms and entered in SPSS 21.0 software (IBM Corp, Armonk, New York). Categorical and continuous variables were analyzed and expressed as frequencies for categorical variables, means with standard deviations and medians with interquartile intervals for continuous variables. Univariate analysis was performed using the Chi-square or Fisher test for categorical variables, and Student's *t* test or Mann-Whitney test for continuous variables, as appropriate. For the identification of variables independently associated with the presence of cf-PWV ≥ 10 m/s, binary logistic regression analysis was performed. The variables included in the model were those with clinical plausibility or p-values < 0.20 on the univariate analysis. The level of significance adopted was 5%, with descriptive levels (*p*) below this value being considered statistically significant.

Results

From 2020 to 2022, eighty patients were included (mean age 56.2 ± 11.5 years, 57.5% females, BMI 28.6 ± 5.3 kg/m²). The median duration of illness was 252 months (86-383 months). All patients had successful cf-PWV and LSM measurements, as well as blood sample collection. Demographic, anthropometric and clinical data are shown in **Table 1**. In univariate analysis, only age, T2DM, systemic arterial hypertension and cumulative MTX dose ≥ 1500 mg were associated with cf-PWV ≥ 10 m/s (the latter inversely associated) (**Table 2**). MetS, steatosis and advanced liver fibrosis were not associated with increased aortic stiffness. Variables included on logistic regression were age, sex, T2DM, systemic arterial hypertension, LSM (kPa) and cumulative MTX dose ≥ 1500 mg. Beyond MTX use, age was the only other independently factor associated with cf-PWV ≥ 10 m/s. Cumulative MTX dose ≥ 1500 mg, presented in 45% of the population, represented a cardiovascular protective factor, but not IB use (**Table 3**).

Discussion

This study, conducted on Pso patients with high prevalence of MetS and its components such as T2DM, dyslipidemia and systemic arterial hypertension, demonstrated a protective cardiovascular effect of cumulative MTX dose ≥ 1500 mg on subclinical atherosclerosis, using cf-PWV measurement for AoS. Although a high prevalence of SLD was found in this population, increased AoS was not associated with steatosis or AF.

Individuals with Pso have well established increased arterial stiffness when compared to controls[9], [17], [18], and in most of the studies it is independent of the effect of traditional risk factors, like smoking status, systemic arterial hypertension and BMI. It

suggests that psoriasis itself confers increased cardiovascular risk, probably due to chronic inflammation. The medium cf-PWV measurement on our study was 8.8 ± 2.0 m/s, and it was similar with most of studies using cf-PWV for comparative analysis[9], [19]. All previous studies in Pso were case-control, and none of them used the established recommendations for the measurement of cf-PWV, defined by a standard cut-off value of 10 m/s for prediction of cardiovascular events[16]. Therefore, our study was the first to report the prevalence of increased AoS using a standard value of $\text{cf-PWV} \geq 10$ m/s on a population of Pso patients.

Our prevalence of $\text{PWV} \geq 10$ m/s was 21.2%, similar to the 25% prevalence found on 477 patients with type 2 diabetes from the study nested within the Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Cohort Study[20], also a population with high cardiovascular risk. Of note, increased AoS was not independently associated with MetS and its components in our study, and this corroborates with the hypothesis that Pso itself could increase cardiovascular risk.

As MASLD is itself a risk factor for atherosclerosis[10], [21], evaluation of aortic stiffness may be useful to predict both cardiovascular and liver fibrosis risk in this population. Increased aortic stiffness could be the “hallmark” to link the multiple inflammatory and cytokine-mediated mechanisms from the Hepato-Dermal Axis hypothesis[22], [23], as it reflects the long-term effects of established and unknown risk factors[18] for cardiovascular and hepatic complications. Our study is the first to evaluates the association between arterial stiffness with SLD in Pso. Unfortunately, we could not show this link between liver fibrosis and early atherosclerosis, probably due to

a rather small sample size. Hence, studies with larger sample sizes are necessary to better clarify this potential relation.

The independent association between age and increased AoS reflects the pathophysiological processes caused by aging on arterial walls extracellular matrix composition [18], [24]. Curiously, the duration of disease in our study had no association with increased AoS, although it has been previously reported on a case-control study[25], which confirmed this association even after adjustment for confounders (age, weight, height, heart rate and central mean pressure). We could hypothesize that, in our study, patients using MTX had a benefit in cardiovascular risk, minimizing the effect of disease duration.

The protective effect of MTX on subclinical atherosclerosis in Pso found in our study is scarce in literature. Using carotid or brachial intima-media thickness and endothelial function measurements, results with MTX and IB are divergent [21], [26]. In our study, we evaluated subclinical cardiovascular risk (not cardiovascular events) with the gold standard method and could demonstrate the anti-inflammatory effect of MTX on cardiovascular risk, despite the high prevalence of cardiovascular co-morbidities like arterial hypertension, dyslipidemia and MetS itself in more than 50% of patients. This data highlights the role of inflammation on atherosclerosis regardless of the metabolic phenotype[27], [28]. We could not demonstrate the same protective effect with IB therapy, probable due to the smaller number of patients using IB and/or the fact that it is a more recent therapy for Pso.

When analyzing cardiovascular events, three meta-analysis with patients presenting systemic inflammation (mainly rheumatoid arthritis)[29], [30], [31], MTX treatment was associated with reduced incidence of cardiovascular events. On Horreau *et al*[29]

systematic review, exclusively in Pso patients, two large retrospective studies found a protective effect of MTX on major cardiovascular events incidence. In one of them, treatment with MTX and biological agents was also associated with reduced risk of death and cardiovascular disease events in patients with severe psoriasis in a subsequent real-world analysis[32].

There are some limitations in our study. The cross-sectional design does not allow causality to be proven. Disease severity was not measured, and associations were not performed regarding this variable. Sample size could have compromised the potential associations between liver fibrosis and early atherosclerosis, as well as a potential protective effect of IB on cardiovascular risk. Nevertheless, most of case-control studies that established significant higher AoS in Pso patients involved samples ranging from 20 to 73 patients[18]. In conclusion, a protective cardiovascular effect of MTX on subclinical atherosclerosis was found in a Pso population with a high prevalence of MetS and its components.

11

Acknowledgments:

This study was supported by grants from Conselho Brasileiro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brazil).

References:

- [1] Parisi R, Symmons D P M, and Griffiths C E M, "Global Epidemiology of Psoriasis: A Systematic Review of Incidence and Prevalence," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 133, pp. 377–385, 2013, doi: 10.1038/jid.2012.339.
- [2] R. S. Azfar and J. M. Gelfand, "Psoriasis and metabolic disease: epidemiology and pathophysiology," *Current Opinion in Rheumatology*, vol. 20, no. 4, pp. 416–422, Jul. 2008, doi: 10.1097/BOR.0b013e3283031c99.
- [3] R. Candia, A. Ruiz, R. Torres-Robles, N. Chávez-Tapia, N. Méndez-Sánchez, and M. Arrese, "Risk of non-alcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis," *J Eur Acad Dermatol Venereol*, vol. 29, no. 4, pp. 656–662, Apr. 2015, doi: 10.1111/jdv.12847.
- [4] "EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease," *Journal of Hepatology*, vol. 64, no. 6, pp. 1388–1402, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.004.
- [5] P. Rosenberg *et al.*, "Psoriasis patients with diabetes type 2 are at high risk of developing liver fibrosis during methotrexate treatment," *Journal of Hepatology*, vol. 46, no. 6, pp. 1111–1118, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.jhep.2007.01.024.
- [6] K. Lindsay, A. D. Fraser, A. Layton, M. Goodfield, H. Gruss, and A. Gough, "Liver fibrosis in patients with psoriasis and psoriatic arthritis on long-term, high cumulative dose methotrexate therapy," *Rheumatology*, vol. 48, no. 5, pp. 569–572, Dec. 2008, doi: 10.1093/rheumatology/kep023.
- [7] E. Atallah *et al.*, "Risk of liver fibrosis associated with long-term methotrexate therapy may be overestimated," *Journal of Hepatology*, p. S016882782300020X, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.jhep.2022.12.034.
- [8] I. Arias de la Rosa *et al.*, "The clinical and molecular cardiometabolic fingerprint of an exploratory psoriatic arthritis cohort is associated with the disease activity and

- differentially modulated by methotrexate and apremilast," *Journal of Internal Medicine*, vol. 291, no. 5, pp. 676–693, 2022, doi: 10.1111/joim.13447.
- [9] M. Berger, P. Fesler, and C. Roubille, "Arterial stiffness, the hidden face of cardiovascular risk in autoimmune and chronic inflammatory rheumatic diseases," *Autoimmunity Reviews*, vol. 20, no. 9, p. 102891, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.autrev.2021.102891.
- [10] C. Villela-Nogueira, N. Leite, C. Cardoso, and G. Salles, "NAFLD and Increased Aortic Stiffness: Parallel or Common Physiopathological Mechanisms?," *IJMS*, vol. 17, no. 4, p. 460, Apr. 2016, doi: 10.3390/ijms17040460.
- [11] N. C. Leite, C. A. Villela-Nogueira, M. T. Ferreira, C. R. L. Cardoso, and G. F. Salles, "Increasing aortic stiffness is predictive of advanced liver fibrosis in patients with type 2 diabetes: the Rio-T2DM cohort study," *Liver International*, vol. 36, no. 7, pp. 977–985, 2016, doi: 10.1111/liv.12994.
- [12] E. Kassi, P. Pervanidou, G. Kaltsas, and G. Chrousos, "Metabolic syndrome: definitions and controversies," *BMC Med*, vol. 9, no. 1, p. 48, Dec. 2011, doi: 10.1186/1741-7015-9-48.
- [13] V. de Lédinghen and J. Vergniol, "Transient elastography (FibroScan)," *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, vol. 32, no. 6, pp. 58–67, Sep. 2008, doi: 10.1016/S0399-8320(08)73994-0.
- [14] V. W.-S. Wong *et al.*, "Unified interpretation of liver stiffness measurement by M and XL probes in non-alcoholic fatty liver disease," *Gut*, vol. 68, no. 11, pp. 2057–2064, Nov. 2019, doi: 10.1136/gutjnl-2018-317334.
- [15] A. Berzigotti *et al.*, "EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update," *Journal of Hepatology*, vol. 75, no. 3, pp. 659–689, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.jhep.2021.05.025.
- [16] L. M. Van Bortel *et al.*, "Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity," *Journal of*

- Hypertension*, vol. 30, no. 3, pp. 445–448, Mar. 2012, doi:
10.1097/HJH.0b013e32834fa8b0.
- [17] S. Shaharyar *et al.*, “Subclinical cardiovascular disease in plaque psoriasis: Association or causal link?,” *Atherosclerosis*, vol. 232, no. 1, pp. 72–78, Jan. 2014, doi:
10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.023.
- [18] K. Triantafyllias, L.-E. Thiele, L. Cavagna, X. Baraliakos, G. Bertias, and A. Schwarting, “Arterial Stiffness as a Surrogate Marker of Cardiovascular Disease and Atherosclerosis in Patients with Arthritides and Connective Tissue Diseases: A Literature Review,” *Diagnostics*, vol. 13, no. 11, p. 1870, May 2023, doi: 10.3390/diagnostics13111870.
- [19] P. Gisondi *et al.*, “Chronic Plaque Psoriasis Is Associated with Increased Arterial Stiffness,” *Dermatology*, vol. 218, no. 2, pp. 110–113, Dec. 2008, doi: 10.1159/000182256.
- [20] C. R. L. Cardoso, C. B. M. Moran, F. S. Marinho, M. T. Ferreira, and G. F. Salles, “Increased aortic stiffness predicts future development and progression of peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes: the Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Cohort Study,” *Diabetologia*, vol. 58, no. 9, pp. 2161–2168, Sep. 2015, doi: 10.1007/s00125-015-3658-9.
- [21] G. Ganzetti, “Psoriasis, non-alcoholic fatty liver disease, and cardiovascular disease: Three different diseases on a unique background,” *WJC*, vol. 8, no. 2, p. 120, 2016, doi: 10.4330/wjc.v8.i2.120.
- [22] A. Mantovani, P. Gisondi, A. Lonardo, and G. Targher, “Relationship between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Psoriasis: A Novel Hepato-Dermal Axis?,” *IJMS*, vol. 17, no. 2, p. 217, Feb. 2016, doi: 10.3390/ijms17020217.
- [23] R. B. Prussick and L. Miele, “Nonalcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a consequence of systemic inflammatory burden?,” *Br J Dermatol*, vol. 179, no. 1, pp. 16–29, Jul. 2018, doi: 10.1111/bjd.16239.
-

- [24] R. Angoff, R. C. Mosarla, and C. W. Tsao, "Aortic Stiffness: Epidemiology, Risk Factors, and Relevant Biomarkers," *Front. Cardiovasc. Med.*, vol. 8, p. 709396, Nov. 2021, doi: 10.3389/fcvm.2021.709396.
- [25] L. Costa *et al.*, "Psoriatic arthritis is associated with increased arterial stiffness in the absence of known cardiovascular risk factors: a case control study," *Clin Rheumatol*, vol. 31, no. 4, pp. 711–715, Apr. 2012, doi: 10.1007/s10067-011-1892-1.
- [26] F. Verhoeven, C. Prati, M. Chouk, C. Demougeot, and D. Wendling, "Methotrexate and cardiovascular risk in rheumatic diseases: A comprehensive review," *Expert Review of Clinical Pharmacology*, vol. 14, no. 9, pp. 1105–1112, Sep. 2021, doi: 10.1080/17512433.2021.1932461.
- [27] N. Barbarroja *et al.*, "Nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory arthritis: Relationship with cardiovascular risk," *Front. Immunol.*, vol. 13, p. 997270, Sep. 2022, doi: 10.3389/fimmu.2022.997270.
- [28] A. A. Mangoni *et al.*, "Repurposing existing drugs for cardiovascular risk management: a focus on methotrexate," *DIC*, vol. 7, pp. 1–12, Nov. 2018, doi: 10.7573/dic.212557.
- [29] C. Horreau *et al.*, "Cardiovascular morbidity and mortality in psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic literature review," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, vol. 27, no. s3, pp. 12–29, 2013, doi: 10.1111/jdv.12163.
- [30] R. Micha *et al.*, "Systematic Review and Meta-Analysis of Methotrexate Use and Risk of Cardiovascular Disease," *The American Journal of Cardiology*, vol. 108, no. 9, pp. 1362–1370, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.amjcard.2011.06.054.
- [31] C. Roubille *et al.*, "The effects of tumour necrosis factor inhibitors, methotrexate, non-steroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids on cardiovascular events in rheumatoid arthritis, psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic review and meta-analysis," *Ann Rheum Dis*, vol. 74, no. 3, pp. 480–489, Mar. 2015, doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206624.

- [32] O. Ahlehoff *et al.*, "Cardiovascular disease event rates in patients with severe psoriasis treated with systemic anti-inflammatory drugs: a Danish real-world cohort study," *J Intern Med*, vol. 273, no. 2, pp. 197–204, Feb. 2013, doi: 10.1111/j.1365-2796.2012.02593.x.
-

Table

1

Table 1. Clinical-demographic and laboratorial data of patients with psoriasis:

Variables	n=80
Clinical-demographic characteristics	
Female gender (%)	57.5
Age (years)	56.2 ± 11.5
BMI (Kg/m ²)	28.6 ± 5.3
Abdominal circumference (cm)	101.7 ± 12.6
Type 2 Diabetes (%)	40.0
Arterial Hypertension (%)	70.0
Dyslipidemia (%)	67.5
Metabolic Syndrome (%)	57.5
Time since psoriasis onset (months)	252.0 (85.8-383.3)
Cumulative MTX dose ≥ 1500mg (%)	45.0
Immunobiological treatment (%)	33.8
Laboratory	
ALT index	0.47 (0.34-0.67)
AST index	0.51 (0.44-0.74)
GGT index	0.54 (0.37-0.79)
LDL (mg/dL)	121.0 ± 37.0
HDL (mg/dL)	46.0 (37.5-55.0)
Triglycerides (mg/dL)	133.5 (85.0-182.5)
Platelet count (x10 ³)	256.5 ± 76.1
Liver Transient Elastography	
LSM (kPa)	5.6 (4.4-8.7)

2

LSM (kPa) \geq 10 (%)	16.3
CAP (dBm)	273.5 \pm 51.9
CAP (dB/m) \geq 275 (%)	50.0
Carotid-femoral pulse wave velocity	
cf-PWV (m/s)	8.8 \pm 2.0
cf-PWV \geq 10m/s (%)	21.2

Values are proportions for categorical data, mean (SD) for normally distributed data and medians (interquartile intervals) for non-parametric data. BMI (Body Mass Index), ALT index (absolute ALT value/ upper normal limit), AST index (absolute AST value/ upper normal limit), GGT index, (absolute GGT value/ upper normal limit), LDL (low-density lipoprotein), HDL (high-density lipoprotein). LSM (liver stiffness measurement), CAP (controlled attenuation parameter), cf-PWV (carotid-femoral pulse wave velocity).

Table

1

Table 2. Comparative analysis between patients with psoriasis with and without increased aortic stiffness (cf-PWV ≥ 10 m/s):

	cf-PWV <10m/s n=63	cf-PWV ≥ 10 m/s n=17	<i>p-value</i>
Age (years)	53.7 \pm 11.2	65.7 \pm 6.7	<0.001
Female gender (%)	58.7	52.9	0.66
BMI (Kg/m ²)	28.9 \pm 5.5	27.6 \pm 4.6	0.18
Type 2 Diabetes (%)	31.7	70.6	0.004
Arterial Hypertension (%)	63.5	94.1	0.014
Dyslipidemia (%)	63.5	82.4	0.14
Metabolic Syndrome (%)	54	70.6	0.21
CAP (dB/m)	274.7 \pm 49.6	269.1 \pm 61.1	0.34
CAP ≥ 275 dB/m (%)	50.8	47.1	0.78
LSM (kPa)	5.4 (3.6)	7.1 (3.7)	0.20
LSM ≥ 10 kPa (%)	17.5	11.8	0.57
Time since psoriasis onset (months)	252.0 (299.4)	240 (289.5)	0.98
Cumulative MTX dose ≥ 1500 mg (%)	50.8	23.5	0.04
Immunobiological treatment (%)	36.5	23.5	0.31

Values are proportions for categorical data, means (SD) for normally distributed data and medians (interquartile ranges) for non-parametric data. BMI (Body Mass Index), ALT index (absolute ALT value/ upper normal limit), AST index (absolute AST value/ upper normal limit), GGT index, (absolute GGT value/ upper normal limit), not applicable (N/A). CAP (controlled attenuation parameter), cf-PWV (carotid-femoral pulse wave velocity).

Table

1

Table 3. Final regression model for independently associated variables with the presence of increased aortic stiffness (cf-PWV ≥ 10 m/s):

Covariates*	Odds Ratio	<i>p</i>	95%CI
Age	1.21	0.003	1.06-1.38
Cumulative MTX dose ≥ 1500 mg	0.18	0.033	0.038-0.87

*Adjusted for age and sex. CI, confidence interval.

5. Discussão

Os manuscritos contidos nesta tese tiveram como objetivo contribuir para um melhor entendimento dos fatores de risco associados à doença hepática esteatótica na psoríase e o papel da avaliação de marcadores subclínicos de doença aterosclerótica nessa população.

O presente estudo identificou uma elevada prevalência de esteatose em pacientes com psoríase e teve três principais achados: primeiro, em pacientes com psoríase, os fatores independentes associados à esteatose avaliada pelo CAP foram a SM e o IMC. Segundo a presença de pelo menos um alelo do polimorfismo do PNPLA3 se associou com estágios mais avançados de fibrose hepática, juntamente com o diagnóstico de DM2. E, finalmente, o uso do MTX parece proteger esses pacientes da presença de aterosclerose subclínica avaliada pela velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral.

No estudo intitulado “*Psoriasis and steatotic liver disease: Are PNPLA3 and TM6SF2 polymorphisms suitable for the hepato-dermal axis hypothesis?*” foram avaliados 199 pacientes adultos com psoríase, onde a presença de um alelo G do polimorfismo do gene PNPLA3 se associou de forma independente à presença de fibrose hepática avançada, diagnosticada pela TE, mas não foi observado nenhum impacto do polimorfismo TM6SF2, seja na esteatose ou na fibrose. A dose acumulada de MTX também não mostrou associação com a presença de fibrose avançada.

Após os estudos descritivos dos polimorfismos do PNPLA3 e TM6SF2, uma revisão mais recente mostra que as frequências alélicas das variantes I148M do gene PNPLA3 e E167K do gene TM6SF2 são, respectivamente: em hispânicos de 0,57/0,03, europeus 0,23/0,08 e africanos 0,14 /0,04 (TRÉPO; VALENTI, 2020). No nosso artigo, em uma população brasileira, a frequência alélica do polimorfismo do gene PNPLA3 foi de 0,32 e do polimorfismo do gene TM6SF2 de 0,05. A distribuição dos polimorfismos dos genes PNPLA3 e TM6SF2 também foi semelhante a de outros estudos brasileiros de pacientes com MASLD (MACHADO et al., 2019; MAZO et al., 2019).

Em uma população miscigenada como a brasileira, Mazo *et al* demonstraram, em estudo com pacientes com MASLD, confirmados por biópsia, que nos controles sadios, a frequência de PNPLA3 CG + GG foi de 50,74%, e em pacientes com MASLD 68,88% ($p = 0,0044$, IC 95% 1,037–2,977). Os indivíduos PNPLA3 GG tiveram um risco aumentado (3,29 vezes) de MASLD quando comparados aos indivíduos CC, sugerindo

que o polimorfismo do PNPLA3 (CG + GG) aumenta o risco de MASLD entre indivíduos brasileiros.

Na psoríase, nosso estudo pôde avaliar que não há maior prevalência dos polimorfismos dos genes PNPLA3 e TM6SF2 em relação à população geral, apesar de maior prevalência de esteatose e fibrose hepática nesta população. Entretanto, a presença do polimorfismo do gene PNPLA3 em pacientes com psoríase (e não exclusivamente com o diagnóstico de MASLD) impacta em mais de 5 vezes na chance de fibrose hepática avançada nesta população.

O tecido adiposo expandido/ dismetabolismo parece ser o principal gatilho para o eixo hepato-dérmico (MANTOVANI et al., 2016), e o polimorfismo do gene PNPLA3 resulta em um fenótipo de alto risco de doença hepática. Os fenótipos da MASLD não são dicotômicos (“metabólico vs. genético”), mas sim uma integração de fatores de risco (ARRESE et al., 2021), onde o impacto do componente genético foi comprovado nesta população, e a inflamação associada à psoríase poderia ser mais um fator associado, de difícil mensuração.

O polimorfismo TM6SF2 rs58542926 C>T não teve impacto na esteatose ou fibrose hepática na população do estudo. Esta falta de associação pode ser devida à genotipagem não ter sido possível em vinte e dois pacientes devido à obtenção de resultados duvidosos, prejudicando o poder de uma possível associação. Somado a este fato, é um polimorfismo de menor frequência na população geral e mais frequente em populações de ascendência europeia (KOZLITINA et al., 2014), sendo necessária uma maior população de estudo para avaliação de um potencial impacto.

A presença de DM2 também foi independentemente associada à fibrose hepática avançada neste estudo, e este achado já foi relatado em estudos anteriores envolvendo pacientes com psoríase (ATALLAH et al., 2023; BERENDS et al., 2006; PONGPIT et al., 2016; ROSENBERG et al., 2007). Este resultado reforça a evidência de que o DM2 é o principal fator de risco para o desenvolvimento de MASLD e progressão da fibrose na população geral (RINELLA et al., 2023a) e, neste caso, em populações específicas como na psoríase. Curiosamente, neste estudo também não houve associação do polimorfismo do gene PNPLA3 com a presença de esteatose, chamando a atenção para as hipóteses da ativação direta de vias específicas para a fibrogênese (BRUSCHI et al., 2020; DONGIOVANNI, 2013; VILAR-GOMEZ et al., 2022).

Embora alguns estudos tenham avaliado a presença de esteatose em pacientes com psoríase, com a maioria deles apresentando prevalência de esteatose entre 44-47%, o

diagnóstico da esteatose sempre foi baseado na ultrassonografia (PRUSSICK; MIELE, 2018). Em recente revisão sistemática e meta-análise sobre o risco de MASLD em pacientes com psoríase, nos 11 estudos elegíveis os métodos usados para diagnóstico de MASLD foram a ultrassonografia e o código internacional de doenças (CID). No geral, os pacientes com psoríase tiveram uma razão de chances aproximadamente dobrada para MASLD em comparação com indivíduos controle sem psoríase (OR 1,96, IC 95% 1,70–2,26, $I^2 = 97\%$, $p < 0,001$), e os resultados foram semelhantes quando os estudos foram estratificados pelos métodos de diagnóstico de MASLD, ou seja, por ultrassonografia ($n = 7$; efeitos aleatórios agrupados OR 2,02, IC 95% 1,78–2,28, $I^2 = 13\%$, $p = 0,33$) ou pelo CID ($n = 4$; efeitos aleatórios agrupados OR 1,83, IC 95% 1,45–2,32, $I^2 = 97\%$, $p < 0,001$). Não houve heterogeneidade significativa entre os estudos elegíveis que usaram ultrassonografia para diagnosticar MASLD (BELLINATO et al., 2022).

No entanto, a ultrassonografia detecta melhor a esteatose moderada (20-30% dos hepatócitos), apresenta variabilidade interoperador e reduz sua precisão em pacientes com obesidade (BERZIGOTTI et al., 2021). No presente estudo, a medida do CAP para diagnosticar esteatose, adotando a recente recomendação de corte de 275 dB/m com mais de 90% sensibilidade (BERZIGOTTI et al., 2021), detectou prevalência de esteatose de 54,8%, maior que a média dos estudos, podendo representar a detecção de esteatose em estágios mais precoces.

A ausência de associação entre a dose cumulativa de MTX e esteatose ou fibrose hepática avançada foi outro achado deste estudo, mesmo quando consideradas doses cumulativas de MTX $\geq 1,5g$. Menos da metade (38,6%) dos pacientes apresentava dose cumulativa de MTX $\geq 1,5g$ apesar de uma frequência total de uso de MTX, em algum momento no decurso da doença, de 79,3%. Nos últimos anos, tem havido uma maior disponibilidade de terapias imunobiológicas (frequentemente associadas ao MTX em doses mais baixas) na psoríase mais grave.

Estudos anteriores baseados em TE em pacientes com psoríase (em uso de MTX) adotaram pontos de corte mais baixos que o nosso estudo para detectar fibrose hepática (ATALLAH et al., 2023; LAHARIE et al., 2010; MAYBURY et al., 2019; PONGPIT et al., 2016; RONGNGERN et al., 2017; VOORT et al., 2016). Esses estudos mostraram uma prevalência de fibrose hepática de 4,8 a 15,8%, baseado nos cortes estabelecidos, em comparação com a prevalência de 9% em nosso estudo, usando um ponto de corte de 10 kPa. A dose cumulativa média de MTX nesses estudos variou de 1,38g a 4,8g, incluindo estudos sem uso de MTX. Aqueles que relataram doses cumulativas de MTX também

não mostraram associação com valores de rigidez hepática aumentada. Portanto, a alta prevalência de esteatose e fibrose hepática avançada na população do nosso estudo, mesmo com a mediana da dose cumulativa de MTX inferior a 1,5g, reforça o possível baixo impacto do MTX, como reportado por DI MARTINO et al., 2023.

Nas doses de MTX comumente administradas em dermatologia, a hepatotoxicidade é incomum e caracterizada por um aumento moderado e transitório das transaminases, mesmo quando o MTX é mantido, provavelmente graças a mecanismos eficientes de defesa celular. Neste contexto, o conceito de dose cumulativa é questionável, pois assume que os mecanismos de reparação celular são incapazes de agir e restaurar-se ao longo do tempo (DI MARTINO, 2023). O conceito de dose contínua de MTX, e não simplesmente a dose cumulativa (que pressupõe o uso do MTX em qualquer momento da vida) já foi sugerido na literatura. No entanto, o valor de corte da dose cumulativa contínua para o início do dano hepático irreversível não foi estudado (KHAITAN; GUPTA, 2020). A psoríase tem tendência natural a remissões e recaídas intermitentes. Portanto, quando indicado, o metotrexato é usado como terapia intermitente durante a atividade da doença e descontinuado/reduzido gradualmente quando a remissão é alcançada. Assim, longos períodos sem metotrexato podem permitir que algumas alterações hepáticas melhorem ou mesmo revertam completamente.

Finalmente, a preocupação mais relevante seria se o MTX poderia piorar a história natural da MASLD na psoríase (DI MARTINO, 2023; MAYBURY et al., 2014). Uma pesquisa *in vitro* mostrou recentemente que o polimorfismo PNPLA3 rs738409 também pode aumentar a sensibilidade às hepatotoxinas (TILSON et al., 2021). Esse achado pode ir de encontro à associação entre a presença do polimorfismo do PNPLA3 e a fibrose hepática avançada na psoríase e delimitar, enfim, o real impacto do MTX na fibrose hepática nesta população.

É importante ressaltar que um valor de rigidez $< 10\text{kPa}$ pela TE afasta doença hepática crônica avançada compensada, independentemente da sua etiologia (DE FRANCHIS et al., 2022), e na MASLD (WONG et al., 2019). Esse conceito engloba o *continuum* de fibrose avançada e cirrose, onde a relevância clínica seria a progressão para a hipertensão porta clinicamente significativa. Nos 18 pacientes do estudo com valores de TE $\geq 10\text{kPa}$, ou seja, onde não se pode excluir fibrose avançada, 3 pacientes apresentavam hipertensão portal clinicamente significativa. Do ponto de vista prático, suspender o MTX no contexto de TE $\geq 10\text{kPa}$ é razoável, mas a avaliação da presença do polimorfismo do PNPLA3 (pelo

menos um alelo) nos pacientes com psoríase e MASLD (particularmente DM) antes do início da droga, seria o mais indicado, tendo em vista as evidências do estudo.

As limitações deste estudo encontram-se principalmente no seu formato transversal, onde a causalidade não pode ser provada, e na não comprovação histológica de esteatose e fibrose hepática. No entanto, não há justificativa para realizar biópsia hepática, uma vez que as ferramentas não-invasivas usadas para rastrear esteatose e fibrose hepática têm substituído progressivamente a biópsia hepática na prática clínica (BERZIGOTTI et al., 2021). Podemos apontar ainda como limitação a não avaliação da gravidade da psoríase como variável para associações. No entanto, todos os pacientes eram provenientes de ambulatórios de hospitais terciários, com acompanhamento dermatológico de longo prazo (mediana: 45,0 meses [16,0- 97,5meses]), e principalmente a maior parte com indicação de terapia sistêmica (79,3% em MTX e 35,2% em terapia imunobiológica, estas duas drogas podendo ter sido utilizadas concomitantemente), sugerindo doença mais grave. O cálculo do PASI, índice mais comumente utilizado para avaliação da extensão da doença cutânea (e, por consequência, gravidade do quadro), dá a informação da gravidade da doença em um determinado momento. Em uma doença que se apresenta em surtos e remissões, este dado não reflete a magnitude do quadro inflamatório, principalmente em vigência de tratamento.

No segundo estudo intitulado: “*Psoriasis and Cardiovascular risk: associated and protective factors*”, foi avaliado o papel da rigidez aórtica como marcador de aterosclerose subclínica relacionada ao quadro inflamatório crônico e suas possíveis associações com a esteatose e fibrose hepática, independentemente dos fatores metabólicos associados. Neste subgrupo de 80 pacientes dessa população, apesar da alta prevalência de SM e seus componentes como DM2, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica, e da prevalência de aumento da rAo (VOP-cf \geq 10m/s =21,2%) ser semelhante à prevalência em pacientes com DM2 (CARDOSO et al., 2015), não houve relação da aterosclerose subclínica com a esteatose ou fibrose hepática avançada neste subgrupo. Esse é o primeiro estudo em psoríase que utiliza o valor de corte da VOP-cf de 10 m/s para possíveis associações com relação à aterosclerose subclínica.

Como o MASLD é em si um fator de risco para aterosclerose (GANZETTI, 2016; VILLELA-NOGUEIRA et al., 2016), a avaliação da rAo, através do padrão-ouro que é a medida da velocidade de onda de pulso carótida-femoral, poderia prever tanto o risco cardiovascular como o de fibrose hepática avançada nesta população. O aumento da rigidez aórtica poderia ser o “marcador” que ligaria os múltiplos mecanismos

inflamatórios e mediados por citocinas do eixo hepato-dérmico (MANTOVANI et al., 2016; PRUSSICK; MIELE, 2018), pois reflete os efeitos a longo prazo de fatores de risco estabelecidos e desconhecidos para complicações cardiovasculares e hepáticas (TRIANTAFYLLIAS et al., 2023). Este estudo é o primeiro a avaliar a associação entre rAo e MASLD na psoríase. Não foi possível mostrar a associação entre fibrose hepática avançada e aterosclerose precoce, podendo ter relação com o tamanho amostral.

Neste estudo foi encontrado um efeito protetor da dose cumulativa de MTX $\geq 1,5g$ em relação à aterosclerose subclínica. Esse achado é escasso na literatura. Usando a espessura médio-intimal das artérias carótida ou braquial e medidas para a avaliação da função endotelial, os resultados com MTX e IB são divergentes (GANZETTI, 2016; VERHOEVEN et al., 2021). Neste estudo avaliamos o risco cardiovascular subclínico [e não eventos cardiovasculares como desfechos, como já avaliado previamente (HORREAU et al., 2013)] com o método padrão-ouro para a sua avaliação. O efeito anti-inflamatório do MTX sobre o risco cardiovascular nesta população, apesar da alta prevalência de comorbidades cardiovasculares como hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia e SM (em mais de 50% dos pacientes), destaca o papel da inflamação na aterosclerose, independentemente do fenótipo metabólico (BARBARROJA et al., 2022; MANGONI et al., 2018). Não conseguimos demonstrar o mesmo efeito protetor com a terapêutica imunobiológica, provavelmente pelo menor número de pacientes em uso ou pelo fato de ser uma terapia mais recente na psoríase, com menos tempo de uso (não mensurado). Em conclusão, foi encontrado um efeito cardiovascular protetor do MTX na doença aterosclerótica subclínica em uma população de pacientes com psoríase com alta prevalência de SM e seus componentes.

A associação independente entre idade e aumento da rAo reflete os processos fisiopatológicos causados pelo envelhecimento da composição da matriz extracelular nas paredes arteriais (ANGOFF; MOSARLA; TSAO, 2021; TRIANTAFYLLIAS et al., 2023). Neste estudo, entretanto, a duração da doença não teve associação com rAo aumentada, embora tenha sido relatado anteriormente em um estudo caso-controle que confirmou essa associação mesmo após ajuste para fatores de confusão (idade, peso, altura, frequência cardíaca e pressão média central) (COSTA et al., 2012).

A medida média da VOP-cf neste estudo foi de $8,8 \pm 2,0m/s$, e foi semelhante à maioria dos estudos que usaram VOP-cf para análise comparativa de pacientes com psoríase e controles (BERGER; FESLER; ROUBILLE, 2021; GISONDI et al., 2009a). Indivíduos

com psoríase apresentam aumento da rigidez arterial bem estabelecido quando comparados a controles e na maioria dos estudos é independente do efeito de fatores de risco tradicionais, como tabagismo, hipertensão arterial sistêmica e IMC; a maioria desses estudos envolveu amostras variando de 20 a 73 pacientes (SHAHARYAR et al., 2014; TRIANTAFYLLIAS et al., 2023). Isto sugere que a própria psoríase confere risco cardiovascular aumentado, provavelmente devido à inflamação crônica. Sendo todos os estudos anteriores caso-controle, nenhum deles utilizou a recomendação de valor de corte da VOP-cf de 10 m/s para predição de eventos cardiovasculares e suas possíveis associações (VAN BORTEL et al., 2012).

6. Conclusões

- 1) Em indivíduos com psoríase, a síndrome metabólica e o diabetes mellitus tipo 2 conferem maior risco de esteatose hepática e fibrose hepática avançada, respectivamente.
- 2) A presença de um alelo G do polimorfismo do gene PNPLA3, mas não o polimorfismo do gene TM6SF2, impacta em um risco 5 vezes maior de fibrose hepática avançada em pacientes com psoríase.
- 3) A aterosclerose subclínica em pacientes com psoríase é associada à idade, mas não à esteatose hepática ou fibrose hepática avançada.
- 4) Um efeito cardiovascular protetor do MTX foi encontrado em uma população com psoríase com alta prevalência de SM e seus componentes. Este resultado requer validação em estudos futuros.

7. Bibliografia

AHLEHOFF, O. et al. Psoriasis is associated with clinically significant cardiovascular risk: a Danish nationwide cohort study. **Journal of Internal Medicine**, v. 270, n. 2, p. 147–157, ago. 2011.

AHLEHOFF, O. et al. Cardiovascular disease event rates in patients with severe psoriasis treated with systemic anti-inflammatory drugs: a Danish real-world cohort study. **Journal of Internal Medicine**, v. 273, n. 2, p. 197–204, fev. 2013.

AITHAL, G. P. et al. Monitoring methotrexate-induced hepatic fibrosis in patients with psoriasis: are serial liver biopsies justified?: MONITORING METHOTREXATE-INDUCED FIBROSIS. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 19, n. 4, p. 391–399, fev. 2004.

ALTEKIN, E. R. Determination of subclinical atherosclerosis in plaque type psoriasis patients without traditional risk factors for atherosclerosis. **Turk Kardiyoloji Dernegi Arsivi-Archives of the Turkish Society of Cardiology**, v. 40, n. 7, p. 574–580, 2012.

ANGOFF, R.; MOSARLA, R. C.; TSAO, C. W. Aortic Stiffness: Epidemiology, Risk Factors, and Relevant Biomarkers. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, p. 709396, 8 nov. 2021.

ARIAS DE LA ROSA, I. et al. The clinical and molecular cardiometabolic fingerprint of an exploratory psoriatic arthritis cohort is associated with the disease activity and differentially modulated by methotrexate and apremilast. **Journal of Internal Medicine**, v. 291, n. 5, p. 676–693, 2022.

ARRESE, M. et al. Insights into Nonalcoholic Fatty-Liver Disease Heterogeneity. **Seminars in Liver Disease**, v. 41, n. 04, p. 421–434, nov. 2021.

ATALLAH, E. et al. Risk of liver fibrosis associated with long-term methotrexate therapy may be overestimated. **Journal of Hepatology**, v. 78, n. 5, p. 989–997, maio 2023.

ATZENI, F. et al. Psoriatic Arthritis and Metabolic Syndrome: Is There a Role for Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs? **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 735150, 30 ago. 2021.

AZFAR, R. S.; GELFAND, J. M. Psoriasis and metabolic disease: epidemiology and pathophysiology. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 20, n. 4, p. 416–422, jul. 2008.

AZZAM, A.; JIYAD, Z.; O'BEIRNE, J. Is methotrexate hepatotoxicity associated with cumulative dose? A systematic review and meta-analysis. **Australasian Journal of Dermatology**, v. 62, n. 2, p. 130–140, 2021.

BĂLĂNESCU, A.-R. et al. Cardiovascular effects of methotrexate in immune-mediated inflammatory diseases. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 17, n. 2, p. 1024–1029, fev. 2019.

BALTA, I. et al. Aortic Arterial Stiffness is a Moderate Predictor of Cardiovascular Disease in Patients With Psoriasis Vulgaris. **Angiology**, v. 65, n. 1, p. 74–78, jan. 2014.

BARBARROJA, N. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory arthritis: Relationship with cardiovascular risk. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 997270, 23 set. 2022.

BELLINATO, F. et al. Risk of non-alcoholic fatty liver disease in patients with chronic plaque psoriasis: an updated systematic review and meta-analysis of observational studies. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 45, n. 7, p. 1277–1288, 1 jul. 2022.

BERENDS, M. A. M. et al. Liver injury in long-term methotrexate treatment in psoriasis is relatively infrequent. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 24, n. 5, p. 805–811, 2006.

BERENDS, M. A. M. et al. Biochemical and biophysical assessment of MTX-induced liver fibrosis in psoriasis patients: Fibrotest predicts the presence and Fibroscan[®] predicts the absence of significant liver fibrosis. **Liver International**, v. 27, n. 5, p. 639–645, jun. 2007.

BERGER, M.; FESLER, P.; ROUBILLE, C. Arterial stiffness, the hidden face of cardiovascular risk in autoimmune and chronic inflammatory rheumatic diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 20, n. 9, p. 102891, set. 2021.

BERZIGOTTI, A. et al. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update. **Journal of Hepatology**, v. 75, n. 3, p. 659–689, set. 2021.

BRUSCHI, F. V. et al. Metabolic regulation of hepatic PNPLA3 expression and severity of liver fibrosis in patients with NASH. **Liver International**, v. 40, n. 5, p. 1098–1110, maio 2020.

CANDIA, R. et al. Risk of non-alcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 29, n. 4, p. 656–662, abr. 2015.

CARDOSO, A. C. et al. The performance of M and XL probes of FibroScan for the diagnosis of steatosis and fibrosis on a Brazilian nonalcoholic fatty liver disease cohort. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 32, n. 2, p. 231–238, fev. 2020.

CARDOSO, C. R. L. et al. Increased aortic stiffness predicts future development and progression of peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes: the Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Cohort Study. **Diabetologia**, v. 58, n. 9, p. 2161–2168, set. 2015.

CATON, P. W. et al. Can the skin make you fat? A role for the skin in regulating adipose tissue function and whole-body glucose and lipid homeostasis. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 37, p. 59–64, dez. 2017.

CHEN, Y.-J. et al. Psoriasis Independently Associated With Hyperleptinemia Contributing to Metabolic Syndrome. **Archives of Dermatology**, v. 144, n. 12, 1 dez. 2008.

COLSKY, J.; GREENSPAN, E. M.; WARREN, T. N. Hepatic fibrosis in children with acute leukemia after therapy with folic acid antagonists. **A.M.A. Archives of Pathology**, v. 59, n. 2, p. 198–206, fev. 1955.

COSTA, L. et al. Psoriatic arthritis is associated with increased arterial stiffness in the absence of known cardiovascular risk factors: a case control study. **Clinical Rheumatology**, v. 31, n. 4, p. 711–715, abr. 2012.

DANIELSEN, K. et al. Elevated odds of metabolic syndrome in psoriasis: a population-based study of age and sex differences. **British Journal of Dermatology**, v. 172, n. 2, p. 419–427, fev. 2015.

DATTILO, G. et al. Psoriasis and Cardiovascular Risk: Correlation Between Psoriasis and Cardiovascular Functional Indices. **Angiology**, v. 69, n. 1, p. 31–37, jan. 2018.

DE FRANCHIS, R. et al. Baveno VII – Renewing consensus in portal hypertension. **Journal of Hepatology**, v. 76, n. 4, p. 959–974, abr. 2022.

DEYAB, G. et al. Methotrexate and anti-tumor necrosis factor treatment improves endothelial function in patients with inflammatory arthritis. **Arthritis Research & Therapy**, v. 19, n. 1, p. 232, 17 out. 2017.

DI MARTINO, V. et al. Busting the myth of methotrexate chronic hepatotoxicity. **Nature Reviews. Rheumatology**, v. 19, n. 2, p. 96–110, fev. 2023.

DI MARTINO, V. Methotrexate-induced liver fibrosis: The end of a long-held belief. **Journal of Hepatology**, v. 78, n. 5, p. 896–897, maio 2023.

DONGIOVANNI, P. PNPLA3 I148M polymorphism and progressive liver disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 41, p. 6969, 2013.

DONGIOVANNI, P. et al. Transmembrane 6 superfamily member 2 gene variant disentangles nonalcoholic steatohepatitis from cardiovascular disease. **Hepatology**, v. 61, n. 2, p. 506–514, fev. 2015.

FERRAIOLI, G.; ROCCARINA, D. Update on the role of elastography in liver disease. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 15, p. 175628482211406, jan. 2022.

GANZETTI, G. Psoriasis, non-alcoholic fatty liver disease, and cardiovascular disease: Three different diseases on a unique background. **World Journal of Cardiology**, v. 8, n. 2, p. 120, 2016.

GISONDI, P. et al. Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: a hospital-based case-control study. **British Journal of Dermatology**, v. 157, n. 1, p. 68–73, jul. 2007.

GISONDI, P. et al. Chronic Plaque Psoriasis Is Associated with Increased Arterial Stiffness. **Dermatology**, v. 218, n. 2, p. 110–113, 2009a.

GISONDI, P. et al. Non-alcoholic fatty liver disease in patients with chronic plaque psoriasis. **Journal of Hepatology**, v. 51, n. 4, p. 758–764, out. 2009b.

GISONDI, P. et al. Psoriasis and the metabolic syndrome. **Clinics in Dermatology**, v. 36, n. 1, p. 21–28, jan. 2018.

HE, S. et al. A Sequence Variation (I148M) in PNPLA3 Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease Disrupts Triglyceride Hydrolysis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 9, p. 6706–6715, fev. 2010.

HORREAU, C. et al. Cardiovascular morbidity and mortality in psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic literature review. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 27, n. s3, p. 12–29, 2013.

IKONOMIDIS, I. et al. Similarities in coronary function and myocardial deformation between psoriasis and coronary artery disease: the role of oxidative stress and inflammation. **The Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, n. 3, p. 287–295, mar. 2015.

KALB, R. E. et al. Methotrexate and psoriasis: 2009 National Psoriasis Foundation Consensus Conference. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 60, n. 5, p. 824–837, maio 2009.

KARLAS, T. et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. **Journal of Hepatology**, v. 66, n. 5, p. 1022–1030, maio 2017.

KASSI, E. et al. Metabolic syndrome: definitions and controversies. **BMC Medicine**, v. 9, n. 1, p. 48, dez. 2011.

KHAITAN, B. K.; GUPTA, S. Total Cumulative Dose of Methotrexate is Not the Same as Continuous Cumulative Dose: A Clinician's Perspective. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 11, n. 3, p. 425–427, 10 maio 2020.

KOZLITINA, J. et al. Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. **Nature Genetics**, v. 46, n. 4, p. 352–356, abr. 2014.

KRUEGER, J.; BOWCOCK, A. Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 64, n. Suppl 2, p. ii30–ii36, mar. 2005.

LAHARIE, D. et al. Assessment of liver fibrosis with transient elastography and FibroTest in patients treated with methotrexate for chronic inflammatory diseases: a case-control study. **Journal of Hepatology**, v. 53, n. 6, p. 1035–1040, dez. 2010.

LANGMAN, G.; HALL, P. D. L. M.; TODD, G. Role of non-alcoholic steatohepatitis in methotrexate-induced liver injury. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 16, n. 12, p. 1395–1401, dez. 2001.

LEITE, N. C. et al. Increasing aortic stiffness is predictive of advanced liver fibrosis in patients with type 2 diabetes: the Rio-T2DM cohort study. **Liver International**, v. 36, n. 7, p. 977–985, 2016.

LIEBE, R. et al. Diagnosis and management of secondary causes of steatohepatitis. **Journal of Hepatology**, v. 74, n. 6, p. 1455–1471, jun. 2021.

LINDSAY, K. et al. Liver fibrosis in patients with psoriasis and psoriatic arthritis on long-term, high cumulative dose methotrexate therapy. **Rheumatology**, v. 48, n. 5, p. 569–572, 24 dez. 2008.

MACHADO, C. M. et al. PNPLA3 gene polymorphism in Brazilian patients with type 2 diabetes: A prognostic marker beyond liver disease? **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 29, n. 9, p. 965–971, set. 2019.

MANGONI, A. A. et al. Repurposing existing drugs for cardiovascular risk management: a focus on methotrexate. **Drugs in Context**, v. 7, p. 1–12, 14 nov. 2018.

MANTOVANI, A. et al. Relationship between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Psoriasis: A Novel Hepato-Dermal Axis? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 217, 5 fev. 2016.

MAYBURY, C. M. et al. Methotrexate and liver fibrosis in people with psoriasis: a systematic review of observational studies. **British Journal of Dermatology**, v. 171, n. 1, p. 17–29, jul. 2014.

MAYBURY, C. M. et al. Prevalence of Advanced Liver Fibrosis in Patients With Severe Psoriasis. **JAMA Dermatology**, v. 155, n. 9, p. 1028, 1 set. 2019.

MAZO, D. F. et al. Validation of PNPLA3 polymorphisms as risk factor for NAFLD and liver fibrosis in an admixed population. **Annals of Hepatology**, v. 18, n. 3, p. 466–471, maio 2019.

MICHA, R. et al. Systematic Review and Meta-Analysis of Methotrexate Use and Risk of Cardiovascular Disease. **The American Journal of Cardiology**, v. 108, n. 9, p. 1362–1370, nov. 2011.

MIELE, L. et al. Prevalence, characteristics and severity of non-alcoholic fatty liver disease in patients with chronic plaque psoriasis. **Journal of Hepatology**, v. 51, n. 4, p. 778–786, out. 2009.

MILAN, A. et al. Current assessment of pulse wave velocity: comprehensive review of validation studies. **Journal of Hypertension**, v. 37, n. 8, p. 1547–1557, ago. 2019.

OLIVEIRA, A. N. D. et al. Cardiovascular Risk in Psoriasis Patients: Clinical, Functional and Morphological Parameters. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2019.

PARISI R; SYMMONS D P M; GRIFFITHS C E M. Global Epidemiology of Psoriasis: A Systematic Review of Incidence and Prevalence. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, p. 377–385, 2013.

PONGPIT, J. et al. Liver Stiffness Measurement in Psoriasis: Do Metabolic or Disease Factors Play the Important Role? **BioMed Research International**, v. 2016, p. 7963972, 2016.

PRUSSICK, R. B.; MIELE, L. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a consequence of systemic inflammatory burden? **British Journal of Dermatology**, v. 179, n. 1, p. 16–29, jul. 2018.

RINELLA, M. E. et al. AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 77, n. 5, p. 1797–1835, maio 2023a.

RINELLA, M. E. et al. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. **Hepatology**, v. 78, n. 6, p. 1966–1986, dez. 2023b.

ROENIGK, H. H. et al. Methotrexate in psoriasis: revised guidelines. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 19, n. 1 Pt 1, p. 145–156, jul. 1988.

ROENIGK, H. H. et al. Methotrexate in psoriasis: consensus conference. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 38, n. 3, p. 478–485, mar. 1998.

ROENIGK, H. H.; MAIBACH, H. I.; WEINSTEIN, G. D. Use of methotrexate in psoriasis. **Archives of Dermatology**, v. 105, n. 3, p. 363–365, mar. 1972.

ROMEO, S. et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. **Nature Genetics**, v. 40, n. 12, p. 1461–1465, dez. 2008.

RONGNGERN, P. et al. Diagnostic performance of transient elastography for detection of methotrexate-induced liver injury using Roenigk classification in Asian patients with psoriasis: a retrospective study. **Archives of Dermatological Research**, v. 309, n. 5, p. 403–408, jul. 2017.

ROSENBERG, P. et al. Psoriasis patients with diabetes type 2 are at high risk of developing liver fibrosis during methotrexate treatment. **Journal of Hepatology**, v. 46, n. 6, p. 1111–1118, jun. 2007.

ROUBILLE, C. et al. The effects of tumour necrosis factor inhibitors, methotrexate, non-steroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids on cardiovascular events in rheumatoid arthritis, psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic review and meta-analysis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 74, n. 3, p. 480–489, mar. 2015.

RUNGAPIROMNAN, W. et al. Risk of major cardiovascular events in patients with psoriasis receiving biologic therapies: a prospective cohort study. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV**, v. 34, n. 4, p. 769–778, abr. 2020.

SHAHARYAR, S. et al. Subclinical cardiovascular disease in plaque psoriasis: Association or causal link? **Atherosclerosis**, v. 232, n. 1, p. 72–78, jan. 2014.

SHEN, J. et al. Cumulative inflammatory burden is independently associated with increased arterial stiffness in patients with psoriatic arthritis: a prospective study. **Arthritis Research & Therapy**, v. 17, n. 1, p. 75, dez. 2015.

SINGAL, A. G. et al. The Effect of PNPLA3 on Fibrosis Progression and Development of Hepatocellular Carcinoma: A Meta-analysis. **American Journal of Gastroenterology**, v. 109, n. 3, p. 325–334, mar. 2014.

SOOKOIAN, S. et al. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. **Journal of Lipid Research**, v. 50, n. 10, p. 2111–2116, out. 2009.

SOOKOIAN, S.; PIROLA, C. J. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (*PNPLA3*) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 53, n. 6, p. 1883–1894, jun. 2011.

SUNBUL, M. et al. Assessment of arterial stiffness and cardiovascular hemodynamics by oscillometric method in psoriasis patients with normal cardiac functions. **Heart and vessels**, v. 30, 15 mar. 2014.

TACKE, F. et al. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). **Journal of Hepatology**, p. S0168827824003295, jun. 2024.

TILSON, S. G. et al. Modeling PNPLA3-Associated NAFLD Using Human-Induced Pluripotent Stem Cells. **Hepatology**, v. 74, n. 6, p. 2998–3017, 2021.

TORRES, T.; BETTENCOURT, N. Psoriasis: The visible killer. **Revista Portuguesa de Cardiologia (English Edition)**, v. 33, n. 2, p. 95–99, fev. 2014.

TRÉPO, E. et al. PNPLA3 gene in liver diseases. **Journal of Hepatology**, v. 65, n. 2, p. 399–412, ago. 2016.

TRÉPO, E.; VALENTI, L. Update on NAFLD genetics: From new variants to the clinic. **Journal of Hepatology**, v. 72, n. 6, p. 1196–1209, jun. 2020.

TRIANAFYLLIAS, K. et al. Arterial Stiffness as a Surrogate Marker of Cardiovascular Disease and Atherosclerosis in Patients with Arthritides and Connective Tissue Diseases: A Literature Review. **Diagnostics**, v. 13, n. 11, p. 1870, 26 maio 2023.

VAN BORTEL, L. M. et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. **Journal of Hypertension**, v. 30, n. 3, p. 445–448, mar. 2012.

VAN DER VOORT, E. A. M. et al. Psoriasis is independently associated with nonalcoholic fatty liver disease in patients 55 years old or older: Results from a population-based study. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 70, n. 3, p. 517–524, mar. 2014.

VANNI, E. et al. Systemic Complications of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: When the Liver Is Not an Innocent Bystander. **Seminars in Liver Disease**, v. 35, n. 03, p. 236–249, 17 set. 2015.

VERHOEVEN, F. et al. Methotrexate and cardiovascular risk in rheumatic diseases: A comprehensive review. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 14, n. 9, p. 1105–1112, 2 set. 2021.

VILAR-GOMEZ, E. et al. PNPLA3 rs738409 and risk of fibrosis in NAFLD: Exploring mediation pathways through intermediate histological features. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 76, n. 5, p. 1482–1494, nov. 2022.

VILLELA-NOGUEIRA, C. et al. NAFLD and Increased Aortic Stiffness: Parallel or Common Physiopathological Mechanisms? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 4, p. 460, 20 abr. 2016.

VOORT, E. et al. Increased Prevalence of Advanced Liver Fibrosis in Patients with Psoriasis: A Cross-sectional Analysis from the Rotterdam Study. **Acta Dermato Venereologica**, v. 96, n. 2, p. 213–217, 2016.

WONG, V. W.-S. et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. **Hepatology**, v. 51, n. 2, p. 454–462, fev. 2010.

WONG, V. W.-S. et al. Unified interpretation of liver stiffness measurement by M and XL probes in non-alcoholic fatty liver disease. **Gut**, v. 68, n. 11, p. 2057–2064, nov. 2019.

XU, R. et al. Association Between Patatin-Like Phospholipase Domain Containing 3 Gene (PNPLA3) Polymorphisms and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A HuGE Review and Meta-Analysis. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 9284, 20 mar. 2015.

YEO, C. M. Prevalence and risk factors of methotrexate hepatotoxicity in Asian patients with psoriasis. **World Journal of Hepatology**, v. 5, n. 5, p. 275, 2013.

ZACHARIAE, H. Liver biopsies and methotrexate: A time for reconsideration? **J AM ACAD DERMATOL**, 2000.

ZACHARIAE, H.; KRAGBALLE, K.; SØGAARD, H. Methotrexate induced liver cirrhosis: STUDIES INCLUDING SERIAL LIVER BIOPSIES DURING CONTINUED TREATMENT. **British Journal of Dermatology**, v. 102, n. 4, p. 407–412, 1 abr. 1980.