

GUSTAVO MOREIRA AMORIM

**ESTUDO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE PACIENTES COM DOENÇA
PSORÍASICA GRAVE**

Rio de Janeiro

2024

GUSTAVO MOREIRA AMORIM

**ESTUDO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE PACIENTES COM DOENÇA
PSORÍASICA GRAVE**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina, área de concentração em Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito para obtenção do título de Doutor em Anatomia Patológica.

Orientadora: Prof. Dra. Sueli Coelho da Silva Carneiro

Rio de Janeiro

2024

CIP - Catalogação na Publicação

A982e AMORIM, GUSTAVO MOREIRA
ESTUDO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE PACIENTES COM
DOENÇA PSORIÁSICA GRAVE / GUSTAVO MOREIRA AMORIM. -
Rio de Janeiro, 2024.
149 f.

Orientadora: SUELI COELHO DA SILVA CARNEIRO.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio
de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós
Graduação em Medicina (Anatomia Patológica), 2024.

1. Psoríase. 2. Artrite Psoriática. 3.
Microbiota. 4. Microbioma gastrointestinal. I.
CARNEIRO, SUELI COELHO DA SILVA, orient. II. Título.

GUSTAVO MOREIRA AMORIM

**ESTUDO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE PACIENTES COM DOENÇA
PSORÍASICA GRAVE**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina, área de concentração em Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Anatomia Patológica.

Orientador(a): Prof^a Sueli Coelho da Silva Carneiro

Aprovado em: 13 de Maio de 2024 (conforme ata em anexo).



ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Medicina

Ata de Defesa de Tese para a concessão do grau de Doutor em Medicina

Área de Concentração: Anatomia Patológica

Defesa realizada no dia 13 de Maio de 2024

Candidato: Gustavo Moreira Amorim

Orientadora:

1) Sueli Coelho da Silva Carneiro

Banca examinadora (Nome Completo)

1) Sueli Coelho da Silva Carneiro

2) Cristiane Bedran Milito

3) Tullia Cuzzi Teichner

4) José Marcus Telles da Cunha

5) David Ruben Azulay

Título da Tese:

ESTUDO DO MICROBIOMA INTESTINAL DE PACIENTES COM DOENÇA PSORÍASICA GRAVE

Local da Defesa

Em sessão pública, após exposição de cerca de 40 minutos, o candidato foi argüido oralmente pelos membros da banca tendo como resultado:



APROVAÇÃO DA TESE SEM RESTRIÇÕES

APROVAÇÃO DA TESE CONDICIONADA AO CUMPRIMENTO DE EXIGÊNCIAS FEITAS PELA BANCA (NUM PRAZO NÃO SUPERIOR A 90 (NOVENTA) DIAS)

Rio de Janeiro, 13 de Maio de 2024

Na forma regulamentar foi lavrada a presente ata que é assinada eletronicamente pelo presidente e demais membros da banca na ordem acima determinada e pelo candidato.

Referência: Processo nº 23079.212938/2024-48

SEI nº 4220964

Av. Pedro Calmon, 550 - Prédio da Reitoria - Bairro Cidade Universitária

Rio de Janeiro - RJ - CEP: CEP 21941-901 - Telefone: - <http://www.ufrj.br>

“Neste trabalho contra a doença, começamos não com interações genéticas ou celulares, mas com seres humanos. São eles que tornam a medicina tão complexa e fascinante”

Atul Gawande

AGRADECIMENTOS:

À minha esposa, Dâmia Leal Vendramini Amorim, minha companheira na vida pessoal e profissional, pelo constante apoio, carinho e paciência. Sem você não teria condições de realizar mais este sonho profissional.

À minha filha, Eduarda Vendramini Amorim, meu amor e meu orgulho.

À minha mãe, Andrea Amorim, pela educação que me deu e por todas as oportunidades que me proporcionou durante a vida.

Ao meu pai, Roberto Moreira Amorim Filho, meu grande exemplo na vida, na medicina e na dermatologia. Ético, humano e extremamente competente.

Ao meu irmão, Gabriel Moreira Amorim, pela amizade fiel e sincera, além do apoio neste e em todos os meus projetos.

Ao Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho / Universidade Federal do Rio de Janeiro por ter me permitido concretizar um grande sonho de ser médico Dermatologista. Lá, com a confiança dos pacientes, com o apoio dos funcionários e com o integral ensinamento de grandes mestres da Dermatologia Brasileira, pude evoluir como médico e ser humano.

Ao Programa de Pós Graduação em Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por me receber como discente desde o Mestrado e, na sequência, no Doutorado. Cabe aqui mencionar a Professora Kátia Carneiro, incansável coordenadora deste Programa, atenta, disponível e sempre muito cordial na orientação dos alunos. Além dela, toda minha gratidão à professora Cristiane Bedran Milito que, semestralmente, nos avaliou de forma construtiva ao longo de 3 anos e termina por engrandecer esta banca de docentes.

A Faculdade de Medicina da Universidade do Sul de Santa Catarina, por me permitir atuar naquilo que sinto ser uma vocação: à docência.

Ao Serviço de Dermatologia do Hospital Santa Teresa, minha segunda casa e motivo de orgulho da minha trajetória profissional. Serviço onde estabelecemos um reconhecido Programa de Residência em Dermatologia; onde hoje funciona o Ambulatório de Psoríase Grave; ambulatório este que é o coração desta Tese de Doutorado. Agradeço aos pacientes, em primeiro lugar, por me permitirem cuidá-los. Os médicos residentes em dermatologia, por todo apoio e constante empenho. Aos meus colegas médicos dermatologistas do corpo clínico por serem exemplo constante de ética e competência técnica, além da amizade. Aos membros da nossa competente

equipe, enfermeiros, técnicos, auxiliares administrativos pelo esforço constante de oferecer o melhor em termos de acolhimento e cuidado; marcas do nosso Serviço e atuação.

Ao Laboratório de Biologia Molecular, BiomeHub, sediado em Florianópolis, dispondo de toda a tecnologia para a realização dos exames, além do time de bioinformática por todo o apoio no entendimento e interpretação dos exames.

Entre meus mestres, tantos merecem minha gratidão. Agradeço ao professor David Rubem Azulay por todas as oportunidades que me concedeu, por tudo que me ensinou e, acima de tudo, por ser um amigo com quem sempre pude contar. Entre os vários atos de sua generosidade, fez questão de ser membro da banca desde o primeiro dia que soube que eu havia ingressado neste programa de pós-graduação. Agradeço ao professor Celso Sodré. Gênio. De uma inteligência e brilhantismo notáveis, o admiro ainda mais por toda sua humildade. Durante a especialização em Dermatologia, ainda dando os meus primeiros passos, incerto se havia feito corretamente a minha escolha, passei a acompanhá-lo nos pareceres pelas enfermarias do Hospital Universitário e ali tive a certeza de que esta era a Dermatologia que eu desejava exercer. Toda a minha admiração por este verdadeiro professor, a quem levo comigo diariamente nos meus pensamentos. À querida Professora Tullia Cuzzi. Certamente um dos meus maiores exemplos de dedicação à vida acadêmica, em que muito me espelho. Sempre dedicada ao ensino, pude aproveitar ao máximo durante o Mestrado por meio de sua orientação e, hoje, felizmente me honra com sua presença em minha banca. À Professora Márcia Ramos-e-Silva, primeiro pela oportunidade de ter me permitido fazer parte de um grande Serviço de Dermatologia. Em segundo lugar, agradeço a orientação durante o Mestrado e o pronto aceite de contribuir com o artigo da Tese de Doutorado.

Agradeço a professora Sueli Carneiro por todo o conhecimento transmitido e por aceitar me conduzir, sempre de forma próxima, neste período do Doutorado.

A Deus, por toda graça que me concede diariamente.

RESUMO

Introdução: A disbiose intestinal parece desempenhar um papel importante em diversas doenças imunomediadas, havendo um interesse crescente em compreender a influência do microbioma intestinal na doença psoriásica.

Objetivos: Estudar o microbioma intestinal em pacientes com doença psoriásica grave em comparação com indivíduos sem psoríase. Em paralelo, avaliar as diferenças do microbioma intestinal de indivíduos portadores de psoríase, com e sem doença articular associada. Por fim, avaliar o microbioma dos indivíduos do grupo controle, diferenciando-os quanto a história positiva de psoríase em parentes de primeiro grau.

Métodos: Estudo tipo caso controle, onde foi realizado sequenciamento do gene 16S rRNA V3/V4 e análises bioinformáticas com o DNA total extraído de amostras de fezes de 30 pacientes com doença psoriásica grave e 30 controles, pareados por idade e sexo e pertencentes à mesma localização geográfica. A classificação de gravidade respeitou os critérios do consenso, sendo considerados graves aqueles com superfície corporal acometida acima de 10% e/ou escore de PASI maior que 10 e/ou questionário DLQI maior que 10.

Resultados: Foram estudados 60 indivíduos. Não se documentou diferença em alfa diversidade entre os grupos ($p > 0.05$). Entretanto, a análise da diversidade beta do microbioma intestinal mostrou diferentes agrupamentos entre os pacientes portadores de psoríase quando comparados aos controles ($p = 0.031$). A relação *Firmicutes/Bacterioidetes* (F/B) foi maior nos expostos ($p = 0.05$). A abundância diferencial ajustada mostrou aumento da expressão do gênero *Sutterella* ($p < 0.01$) e da espécie *Sutterella wadsworthensis* ($p < 0.05$) no grupo com psoríase. Quando comparados pacientes com e sem doença articular, não foi possível documentar diferenças em termos de alfa ou betadiversidade. Entretanto, pacientes com artrite psoriásica estabelecida apresentaram maior expressão do gênero *Bacterioides* ($p = 0.02$), além da espécie *Bacterioides uniformes* ($p = 0.03$). Não foi identificada qualquer diferença relevante entre os controles, quando comparados indivíduos com e sem história familiar de psoríase.

Conclusões: Foi possível demonstrar um microbioma intestinal diferente entre os portadores de doença psoriásica grave, quando comparados aos controles sem psoríase. Verificou-se uma maior expressão, significativa, do gênero *Sutterella* e da espécie *Sutterella wadsworthensis* entre os portadores de doença psoriásica, podendo

representar uma marca da disbiose relacionada à esta doença. Em paralelo, verificou-se diferenças estatisticamente significativas entre pacientes com doença articular, sendo, porém, uma marca nestes pacientes a maior expressão do gênero *Bacterioides* e da espécie *Bacterioides uniformes*. Cabe destacar que a razão F/B foi inferior nos expostos. Achado não inédito, porém contrário a maior parte das publicações onde se demonstra predomínio do filo *Firmicutes* entre doentes. Do mesmo modo, redução de *Akkermansia* e *Ruminococcus*, previamente relacionados à doença psoriásica, não foram verificados. Talvez por baixa leitura em ambos os grupos. Por fim, não houve diferença naqueles indivíduos com história familiar de psoríase em parentes de primeiro grau, em termos de microbioma intestinal. Este trabalho é um dos poucos estudos brasileiros e traz novas evidências sobre microbioma e psoríase. Consideramos que o microbioma merece atenção, especialmente porque traz diferentes oportunidades de intervenção, embora ainda existam alguns pontos a serem confirmados com estudos prospectivos.

Descritores: Psoríase; Artrite Psoriática; Microbiota; Microbioma gastrointestinal;

ABSTRACT:

Background: Gut dysbiosis may play a role in immune-mediated diseases. There is a growing interest in understanding microbiome influence in psoriasis.

Objectives: To study the gut microbiome in patients with severe psoriatic disease, when compared with individuals without psoriasis. In parallel, to evaluate the differences in the gut microbiome of individuals with psoriasis, with and without psoriatic arthritis. Finally, to evaluate the microbiome of individuals in the control group, differentiating them based on a positive family history of psoriasis in first-degree relatives.

Methods: V3/V4 16S rRNA gene sequencing and bioinformatic analyses were performed with the total DNA extracted from the stool samples of 30 patients with severe plaque psoriasis and 30 age and gender-matched controls from the same geographic location. The severity classification respected the consensus criteria, with those with an affected body surface area above 10% and/or a PASI score greater than 10 and/or a DLQI questionnaire also greater than 10; being considered severe disease.

Results: Sixty individuals were studied. No difference in alpha-diversity was documented between the groups ($p > 0.05$). Beta-diversity analysis showed different clustering of the gut microbiome in severe psoriasis when compared with controls ($p = 0.031$). *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio was higher psoriasis ($p = 0.05$). Adjusted differential abundance showed an increased expression of *Sutterella* genus ($p < 0.01$) and *Sutterella wadsworthensis* species ($p < 0.05$) in psoriasis group. When comparing patients with and without joint disease, it was not possible to document differences in terms of alpha or beta diversity. However, patients with established psoriatic arthritis showed higher expression of the *Bacterioides* genus ($p = 0.02$), and *Bacterioides uniform* species ($p = 0.03$). No relevant difference was identified between controls when comparing individuals with and without a family history of psoriasis.

Conclusions: It was possible to demonstrate a different pattern of gut microbiome among those with severe psoriatic disease, when compared to controls. There was a significant greater expression of the genus *Sutterella* and *Sutterella wadsworthensis* species among patients, which may represent a sign of dysbiosis related to psoriasis. In parallel, there were no statistically significant differences in alpha and beta diversity between patients with joint disease when compared to those without psoriatic arthritis. However, a hallmark in these patients was the greater expression of the genus *Bacterioides* and the species *Bacterioides uniformes*. It is worth noting that

the F/B ratio was lower in psoriatic patients. This is not an unprecedented finding, but contrary to most publications that demonstrates the predominance of the *Firmicutes* phylum among patients. Likewise, reduction of *Akkermansia* and *Ruminococcus*, previously related to psoriatic disease, were not verified in our sample. Perhaps due to low reading in both groups. Finally, there was no difference in those individuals with a family history of psoriasis in first-degree relatives, in terms of gut microbiome. This paper is one of the few Brazilian studies and brings insights into microbiome and psoriasis. Microbiome deserves our attention, especially since it brings different opportunities for intervention, although there are still some key points to be confirmed with prospective studies.

Keywords: Psoriasis; Arthritis, Psoriatic; Microbiota; Gastrointestinal Microbiome; *Sutterella wadsworthensis*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Aspectos clínico-epidemiológicos de Casos x Controles	64
Tabela 2	Perfil clínico epidemiológico laboratorial do grupo casos	65

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Abundância relativa, demonstrando gêneros mais prevalentes	71
Gráfico 2	Abundância relativa, demonstrando espécies mais prevalentes	71
Gráfico 3	Alfa-diversidade – índice de Shannon controles x casos	72
Gráfico 4	Beta-diversidade – índice de dissimilaridade de Bray-Curtis; casos x controles	72
Gráfico 5	Razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> : controles x casos ($p = 0,05$)	73
Gráfico 6	Abundância diferencial não ajustada (ou ajustada para cada nível taxonômico), demonstrando associações de diferença de prevalência entre controles e casos	74
Gráfico 7	Abundância diferencial ajustada – família <i>Sutterellaceae</i> controles x casos ($p < 0,05$)	74
Gráfico 8	Abundância diferencial ajustada – gênero <i>Sutterella</i> controles x casos ($p < 0,01$)	75
Gráfico 9	Abundância diferencial ajustada – espécie <i>Sutterella</i> <i>wadsworthensis</i> controles x casos ($p < 0,05$)	75
Gráfico 10	Abundância relativa, demonstrando gêneros mais prevalentes	76
Gráfico 11	Abundância relativa, demonstrando espécies mais prevalentes	77
Gráfico 12	Alfa-diversidade – índice de Shannon sem x com artrite	77
Gráfico 13	Beta-diversidade – índice de dissimilaridade de Bray-Curtis; com x sem artrite	78
Gráfico 14	Razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> : controles x casos ($p = 0,11$)	78
Gráfico 15	Abundância diferencial ajustada – filo <i>Verrucomicrobia</i> controles x casos ($p = 0.04$)	79
Gráfico 16	Abundância diferencial ajustada – família <i>Bacteroidacea</i> controles x casos ($p = 0.02$)	79
Gráfico 17	Abundância diferencial ajustada – gênero <i>Bacterioides</i> controles x casos ($p = 0.02$)	79
Gráfico 18	Abundância diferencial ajustada – espécie <i>Bacterioides</i> <i>uniformes</i> controles x casos ($p = 0.03$)	80
Gráfico 19	Abundância diferencial ajustada para cada nível taxonômico, demonstrando associações de diferença de prevalência entre controles e casos	80

Gráfico 20	Alfa-diversidade – índice de Shannon sem x com história familiar de psoríase em parentes de 1º grau ($p = 0.65$)	81
Gráfico 21	Beta-diversidade – índice de dissimilaridade de Bray-Curtis, sem x com história familiar de psoríase em parentes de 1º grau ($p = 0.65$)	81

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Doença Psoriásica e suas principais comorbidades	43
Quadro 2	Cronograma de elaboração da pesquisa	116
Quadro 3	Orçamento de elaboração da pesquisa	117
Quadro 4	Instrumento de Coleta de Dados	118
Quadro 5	Compilado dos principais achados dos artigos consultados	122
Quadro 6	Critérios classificatórios de artrite psoriásica. Grupo CASPAR, 2006	131
Quadro 7	Índice de gravidade e área acometida em psoríase. PASI, 1978	132
Quadro 8	Escore de impacto da qualidade de vida em doenças dermatológicas. DLQI, 1994	133
Quadro 9	Escore de Atividade de Doença em Artrite Psoriática, do inglês <i>Disease Activity in PSoriatic Arthritis Score</i> DAPSA, 2010	134
Quadro 10	Índice de Atividade da Doença Espondilite Anquilosante, do inglês <i>The Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index</i> BASDAI, 1994	135
Quadro 11	Componentes da síndrome metabólica segundo NCEP-ATP III	136
Quadro 12	Componentes da ferramenta de screening de artrite psoriásica chamada PEST, do inglês, <i>Psoriasis Epidemiology Screening Tool</i>	137

ILUSTRAÇÕES FOTOGRÁFICAS

- Foto 1 Placas eritemato-descamativas, recobertas por escamas largas, branco prateadas; em superfícies extensoras dos membros superiores 35
- Foto 2 Placas grandes, eritematosas, bem delimitadas, infiltradas, de distribuição difusa no tronco, além das superfícies extensoras dos membros superiores 36
- Foto 3 Pápulas coalescendo, formando placas, neste caso predominando o eritema em detrimento da descamação. Forma mais instável, inflamatória, podendo estar no contexto de uma agudização de doença, em nosso meio, tipicamente induzida pelo uso inadvertido de corticoide sem o devido desmame ou mesmo exposição solar intensa, com queimadura 36
- Foto 4 Placa eritemato-descamativa, com áreas de escoriação, em área típica de acometimento: couro cabeludo 37
- Foto 5 Forma invertida, onde predominam as lesões em regiões flexurais. Nesta topografia, predominam placas eritematosas lisas, em geral não descamativas 37
- Foto 6 Forma *Gutata*, com pequenas placas ovaladas, em forma de gotas, de curso abrupto, eruptivo, tipicamente após quadro infeccioso, viral ou estreptocócico 38
- Foto 7 Placa eritemato-descamativa extensa, avançando à face, além da linha de implantação capilar 39
- Foto 8 A: Psoríase invertida: Placa eritematosa, brilhante, lisa, não descamativa, em região flexural – axila. B: Psoríase invertida, com acometimento genital – base, corpo do pênis e glândula, apresentando eritema e edema, além de fina descamação no corpo 39
- Foto 9 Psoríase plantar: Eritema e descamação plantar, predominando em arco plantar e calcâneo, refletindo “koebnerização” relacionada ao ortostatismo 40
- Foto 10 A: Psoríase ungueal, com predomínio de manifestação de leito ungueal: onicólise distal regular, com faixa de eritema contornando onicólise, além de estilhas hemorrágicas. B: Psoríase ungueal, com manifestação de matriz: *pitting* ungueal, não geométrico 40

- Foto 11 Artrite psoriásica. Edema e eritema articular das interfalangianas distais das mãos, com distribuição não simétrica, irregular, alternando com dedos preservados; associado a pequenas placas eritemato-descamativas sobre as articulações, além de psoríase ungueal 41
- Foto 12 Artrite psoriásica. Placas eritemato-descamativas no dorso dos pés e dos dedos, acompanhando quadro de dactilite do hálux esquerdo 42
- Foto 13 A. Curetagem metódica de Brocq, com sinal da vela. B. Após curetagem, sinal do orvalho sangrante. Ambos típicos da psoríase em placas 44
- Foto 14 Placa eritemato-descamativa linear, sobre cicatriz de abdominoplastia, evidenciando o Fenômeno de Koebner 44
- Foto 15 H&E. A. 100x. Acantose regular, psoriasiforme. B. 400x. Hiperceratose, hipogranulose. C. 400x. Hiperceratose com paraceratose. D. 400x. Adelgaçamento da epiderme supra papilar, além de alongamento e edema das papilas dérmicas 45
- Foto 16 Paciente 6. Masculino, 50 anos; 14 anos de evolução da doença. BSA 14%. PASI: 11.8. Sem doença articular associada 68
- Foto 17 Paciente 24. Masculino, 28 anos; 8 anos de evolução. BSA 16%. PASI 13.1. Com artrite psoriásica associada; periférica, manifesta por entesite de calcâneo e dactilite (mãos e pés) 69
- Foto 18 Paciente 19. Feminina, 46 anos; 12 anos de evolução. BSA 22%. PASI 18.6. Com artrite psoriásica associada, periférica (entesite e sinovite, dedos das mãos) e axial (sacroileíte) 69

LISTA DE ABREVIATURAS

APso	Artrite psoriásica
BASDAI	Do inglês, <i>Bath Ankylosing Spondylitis Activity Index</i>
BSA	Área de superfície corpórea, do inglês, <i>Body surface Area</i>
BN	Distribuição BiNomial
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CASPAR	Critérios de classificação e diagnóstico da artrite psoriática, do inglês, <i>CLASSification for Psoriatic ARthritis (CASPAR) Criteria</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CPDAI	do inglês, <i>Composite Disease Activity Index in Psoriatic Arthritis</i> . Sintéticas, do inglês, <i>Classical Synthetic Disease-Modifying Antirheumatic Drugs</i>
DAPSA	Do inglês, <i>Disease Activity in Psoriatic Arthritis Score</i>
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DLQI	Índice de qualidade de vida em dermatologia, do inglês, <i>Dermatology Life Quality Index</i>
DLP	Dislipidemia
DM	Diabetes Melito
bDMARDs	Drogas antirreumáticas modificadoras de doença, do inglês, <i>Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drugs</i> , Imunobiológicas
csDMARDs	Drogas antirreumáticas modificadoras de doença, do inglês, <i>Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drugs</i> , Clássicas Sintéticas
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EUA	Estados Unidos da América
EULAR	Do inglês, <i>European League Against Rheumatism</i>
F/B	Razão <i>Firmicutes/Bacterioidetes</i>
FC	Do inglês, <i>Fold Change</i>
FDR	Do inglês, <i>False Discovery Rate</i>
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HLA	Do inglês, <i>Human Leucocyte Antigen</i> , ou Antígeno Leucocitário Humano
H&E	Hematoxilina e Eosina

HMP	Projeto do Microbioma Humano, do inglês, <i>Human Microbiome Project</i>
HST	Hospital Santa Teresa
IC	Intervalo de Confiança
IGA	Imunoglobulina A
IL	Interleucinas
IMC	Índice de Massa Corpórea
JAK	Janus Kinase
LCA	Do inglês, <i>Lowest Common Ancestor</i>
LPB	Proteína Ligadora de Lipossacarídeos, do inglês <i>Lipopolysaccharide binding protein</i>
LPS	Lipossacarídeo
MetaHIT	Do inglês, <i>Metagenomes of Human Intestinal Tract</i>
NbUVB	Ultravioleta B de banda estreita, do inglês, <i>Narrow band UltravioletB</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	Razão de chances, do inglês, <i>Odds Ratio</i>
PASI	Índice de gravidade e área acometida em psoríase, do inglês, <i>Psoriasis Area and Severity Index</i>
PCR	Reação em cadeia de polimerase, do inglês, <i>Polymerase Chain Reaction</i> & Proteína C reativa de alta sensibilidade, quando teste laboratorial de sangue venoso periférico
PEST	Do inglês, <i>Psoriasis Epidemiology Screening Tool</i>
Pso	Psoríase
RNA	Ácido Ribonucléico
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SES/SC	Secretaria Estadual de Saúde de Santa Catarina
SM	Síndrome Metabólica
SPSS	Pacote estatístico, do inglês, <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TH	T <i>Helper</i> , linfócitos
TNF	Fator de necrose tumoral, do inglês <i>tumor necrosis factor</i> (TNF)
USA	Do inglês, <i>United States of America</i>
VHS	Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1	DEFINIÇÃO	27
2.2	BREVE HISTÓRICO	27
2.3	ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	27
2.4	ASPECTOS ETIOPATOGÊNICOS	28
2.4.1	PAPEL DA DISBIOSE INTESTINAL NA ETIOPATOGÊNESE	30
2.4.1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA DO MICROBIOMA	31
2.4.1.2	DEFINIÇÕES DE MICROBIOMA E DISBIOSE	33
2.4.1.3	PAPEL DA DISBIOSE INTESTINAL NA DOENÇA PSORIÁSICA	33
2.5	ASPECTOS CLÍNICOS	35
2.6	IMPACTO DA DOENÇA	42
2.7	COMORBIDADES	42
2.8	DIAGNÓSTICO	43
2.9	CLASSIFICAÇÃO	45
2.10	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	46
2.11	TRATAMENTO	47
3	OBJETIVOS	50
3.1	OBJETIVO GERAL	50
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	50
4	MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1	TIPO DE ESTUDO	51
4.2	LOCAL DO ESTUDO	51
4.3	POPULAÇÃO DO ESTUDO	51
4.3.1	REGIÃO METROPOLITANA DE FLORIANÓPOLIS	51
4.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	51
4.4.1	PACIENTES (CASOS)	51
4.4.1.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	51
4.4.1.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	52

4.4.2	CONTROLES	53
4.4.2.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	53
4.4.2.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	53
4.5	TAMANHO DA AMOSTRA	53
4.6	PAREAMENTO DE CASOS E CONTROLES	54
4.7	COLETA DE DADOS	54
4.7.1	MICROBIOMA INTESTINAL	55
4.7.2	MÉTRICAS DE GRAVIDADE DA DOENÇA PSORIÁSICA	58
4.7.3	ARTRITE PSORIÁTICA	58
4.7.4	COMORBIDADES	59
4.7.5	PROVAS INFLAMATÓRIAS	60
4.8	MÉTODOS DE PROCESSAMENTO DE DADOS	60
4.9	ASPECTOS ÉTICOS	62
5	RESULTADOS	64
5.1	PERFIL CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO DA AMOSTRA (CASOS)	65
5.2	RESULTADOS DO MICROBIOMA INTESTINAL	69
5.3	RESULTADOS DO MICROBIOMA INTESTINAL, COM ENFOQUE NA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE ARTRITE PSORIÁSICA	75
5.4	RESULTADOS DO MICROBIOMA INTESTINAL COM ENFOQUE NOS INDIVÍDUOS CONTROLE COM HISTÓRIA FAMILIAR DE PSORÍASE EM PARENTES DE PRIMEIRO GRAU	80
6	DISCUSSÃO	82
6.1	ARTRITE PSORIÁTICA	86
6.1	INDIVÍDUOS CONTROLE, COM E SEM HISTÓRIA FAMILIAR EM PARENTES DE PRIMEIRO GRAU	91
7	CONCLUSÕES	93
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	94
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

10	APÊNDICES	108
10.1	APÊNDICE 1	108
10.2	APÊNDICE 2	112
10.3	APÊNDICE 3	116
10.4	APÊNDICE 4	117
10.5	APÊNDICE 5	118
10.6	APÊNDICE 6	122
11	ANEXOS	131
11.1	ANEXO 1	131
11.2	ANEXO 2	132
11.3	ANEXO 3	133
11.4	ANEXO 4	134
11.5	ANEXO 5	135
11.6	ANEXO 6	136
11.7	ANEXO 7	137
12	PRODUÇÃO CIENTÍFICA	138
12.1	POSTERS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS	138
12.2	ARTIGOS PUBLICADOS NA ÍNTEGRA	138
12.3	ARTIGOS ACEITOS, AGUARDANDO PUBLICAÇÃO	138
12.4	ARTIGOS SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO	139

1. INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença crônica, inflamatória, imunomediada, sistêmica, que acomete primordialmente a pele e as articulações.¹⁻⁴ É dolorosa, por vezes desfigurante e por vezes incapacitante. Impõe um dano cumulativo significativo à qualidade de vida de seu portador e, até o momento, não se dispõe de um tratamento curativo.^{5,6}

Estudos de incidência bem conduzidos e representativos ainda são escassos. Entretanto, entende-se a doença psoriásica como relativamente comum, com prevalência média estimada em torno de 2 a 3% da população mundial, podendo variar conforme etnia e localização geográfica. No Brasil, é estimada uma prevalência de 1,3% na população geral. Portanto, estima-se que em torno de 3 milhões de pessoas em nosso país convivam com a doença. Doença esta que, na pele, manifesta-se por lesões eritematosas e descamativas, podendo ser acompanhadas de prurido, fissuras, sangramento e mesmo dor. Em paralelo, pode haver inflamação e dano articular, dor incapacitante e por vezes crônica, além de redução de funcionalidade articular.^{4,7-10}

A doença psoriásica determina um grande comprometimento psicossocial em seus pacientes devido a um amplo prejuízo das capacidades física e cognitiva, além é claro da significativa diminuição da qualidade de vida.^{5,6,11} Verifica-se, portanto, um significativo impacto em termos de saúde pública, haja vista sua prevalência e grande morbidade. Existe, atrelado a ela, um impacto econômico negativo, determinado tanto pela redução de produtividade por parte do doente quanto pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e/ou sistema de saúde suplementar, com relação disponibilização de opções terapêuticas, manejo de comorbidades e mesmo reabilitação.⁶

Sua etiologia é complexa e multifatorial. De forma sumária, se deve a uma resposta imunológica aberrante, influenciada por fatores genéticos associados a diversos estímulos ambientais descritos.¹² Em relação à etiopatogênese e aos mecanismos fisiopatológicos da doença psoriásica, existe um crescente interesse na literatura pelo microbioma e seu papel ou influência nas doenças inflamatórias, imunomediadas e autoimunes.¹³⁻¹⁶

A literatura científica médica vem dando grande destaque ao dito eixo intestino, pele e articulação. Verifica-se uma interação contínua entre o microbioma intestinal e o sistema imunológico. Alterações dinâmicas ou permanentes da “arquitetura” desta complexa rede de microrganismos habitantes do trato gastrointestinal poderiam, quer seja por meio de antígenos reconhecíveis por células apresentadoras residentes na

mucosa intestinal, quer seja por produtos metabólicos envolvidos com a barreira mucosa e a permeabilidade intestinal, deflagrar ou perpetuar doenças inflamatórias imunomediadas.¹⁷⁻¹⁹ A disbiose intestinal, nome dado a este conceito de desequilíbrio do microbioma, poderia relacionar imunorreatividade intestinal, e inflamação “à distância”, em pele e articulação.

Avanços na compreensão dos mecanismos de doença permitem a identificação de alvos terapêuticos, impactando positivamente a história natural da doença e a jornada dos pacientes.

Um melhor entendimento do microbioma intestinal de pacientes com doença psoriásica grave, numa perspectiva nacional, é a contribuição principal a que este trabalho se propõe e neste sentido questiona-se: existe diferença do microbioma intestinal dos pacientes com doença psoriásica grave quando comparados a pacientes sem doença?

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. DEFINIÇÃO:

A doença psoriásica é atualmente compreendida como uma doença crônica, inflamatória, imunomediada e sistêmica. A pele é o grande órgão afetado pela psoríase e, dentro do seu espectro de apresentação, o acometimento das articulações, em suas diferentes formas, complementa os diferentes domínios clínicos da doença. Entretanto, diferentes comorbidades estão atreladas à doença psoriásica, quer seja por seu estado inflamatório persistente, pela hiperativação de vias imunes semelhantes ou mesmo por perfis de comportamento relacionados aos sinais, sintomas e estigmas determinados pela doença.¹⁻⁴

2.2. BREVE HISTÓRICO:

A história da psoríase inicia-se há muitos anos, passando por diversas épocas e povos. Acredita-se que o primeiro relato de sua ocorrência foi na mesopotâmia antiga, onde um paciente com uma doença escamosa da pele foi registrado, porém, na ocasião inapropriadamente denominada Lepra. Há também relatos sugestivos da doença no Antigo Testamento da Bíblia, em papiros do Egito antigo, e em registros da Grécia antiga, onde Hipócrates (460-375a.C.) descreveu lesões de aspecto semelhante à psoríase, denominando-as “lopoi” (do grego lepos, descamar). Foi Cornelius Celsus, na Roma Antiga, em meados do século I, quem primeiro fez a descrição da psoríase, em seu tratado sobre medicina, intitulado “Deartemédica”. Já a palavra psoríase, oriunda do grego “psora”, que significa prurido, foi cunhada por Galeno (133-200d.C.). Contudo, apesar desses relatos, até o final do século XVIII, a psoríase e a hanseníase eram classificadas em conjunto, e foi Ferdinand von Hebra, em 1841, o responsável por separá-las.^{20,21}

2.3. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS:

A psoríase é uma doença relativamente comum, acometendo em torno de 2 a 3% da população mundial, podendo variar conforme etnia e localização geográfica.⁷⁻⁹ Alguns estudos identificam prevalência crescente da doença, podendo esta representar um aumento verdadeiro, por mudanças de hábito ou estilo de vida, ou mesmo por meio de uma maior conscientização da doença, aumentando o diagnóstico.²² Maiores

prevalências são identificadas em localidades de maior latitude e em caucasianos, como por exemplo a Noruega que chega a registrar 11% em sua população.^{22,23} Em paralelo, a doença é mais comumente reportada em países mais desenvolvidos.²⁴

No Brasil, um inquérito de telefônico de abrangência nacional estimou uma prevalência de 1.3%, aumentando nos estados do Sul, haja vista distância dos trópicos, atingindo uma prevalência de 1.86% em Santa Catarina, estado que sediou o presente estudo.¹⁰

A doença afeta igualmente homens e mulheres e apresenta uma curva bimodal de início da doença: primeiro pico entre 16 e 22 anos e um segundo entre 57-60 anos.^{1,2} A maioria dos pacientes inicia a doença antes dos 35 anos, sendo a doença mais comum em adultos quando comparada a crianças.^{24,25}

2.4. ASPECTOS ETIOPATOGENICOS:

A etiologia da psoríase é complexa, multifatorial e não completamente compreendida até os dias atuais. Durante muito tempo foi considerada uma doença meramente epidérmica, hiperproliferativa, determinada por um aumento do *turnover* celular dos queratinócitos, promovendo as lesões eritematosas e descamativas vistas no exame clínico.^{1,2} Eis que, por ocasião de um transplante de órgão sólido, foi observada importante melhora da psoríase a partir do uso de ciclosporina como medicação para evitar rejeição do enxerto. Tal achado foi determinante para a mudança do curso de pesquisas e finalmente do entendimento da doença, uma vez que a ação imunossupressora anti-linfocitária da ciclosporina permitiu a hipótese da atuação dos linfócitos e do sistema imunológico como um todo. Hipótese posteriormente confirmada por inúmeros estudos e, mesmo pelos tratamentos mais recentes, demonstrando papel determinante do envolvimento de uma cascata inflamatória imunomediada na etiopatogênese da psoríase.¹⁻⁴

A doença psoriásica parece, portanto, ser determinada primariamente por uma resposta imune aberrante, influenciada por fatores genéticos envolvidos com uma pré-disposição para desenvolvimento do fenótipo da doença, associado a diversos estímulos ambientais descritos como possíveis mecanismos deflagradores e/ou agravantes da doença.¹² Esta hiperativação imunológica determina um estado inflamatório persistente, não restrito à pele. Pelo contrário, é responsável por um crescente número de comorbidades associadas à doença psoriásica, como, por

exemplo, a síndrome metabólica (obesidade, hipertensão, dislipidemia e diabetes), esteatose hepática e esteatohepatite não alcoólica; doença cardio e cerebrovascular; doença inflamatória intestinal e transtornos do humor. Estas comorbidades respondem por significativa parte do incremento de mortalidade identificado em pacientes com psoríase, além de influenciarem as decisões quanto ao tratamento.²⁶⁻²⁹

Do ponto de vista genético, a observação de múltiplos casos numa mesma família sugere sua base hereditária. A concordância entre gêmeos é comum, da ordem de 70% entre univitelinos.¹ Estudos da década de 80 envolvendo o sequenciamento do genoma humano identificaram múltiplos *loci* associados a maior susceptibilidade para psoríase, sendo o *locus* HLA-Cw6 tido como o de maior importância. Desde então, 63 *loci* foram identificados em pacientes psoriásicos com descendência europeia, entretanto, ainda assim, estes *loci* mapeados explicariam aproximadamente 50% da hereditariedade identificada em psoríase.^{2,12}

O sistema imunológico inato e adaptativo é ativado de maneira desordenada e persistente na psoríase.¹⁻⁴ Diferentes estímulos determinam a ativação de células dendríticas apresentadoras de antígeno presentes na epiderme e/ou no tecido e espaço sinovial. Estas células ativadas migram por meio do sistema linfático ao linfonodo regional, apresentando o antígeno ao linfócito T *naive*. Uma vez reconhecido este antígeno, o linfócito pode ser ativado, deflagrando uma sequência de reações que permitem a liberação de diversas citocinas, em especial as interleucinas (IL) 12 e 23, já secretadas também pelas células apresentadoras. Tais interleucinas são determinantes para diferenciação dos linfócitos T *naive* em linfócitos T *Helper* (TH) 1 e TH 17, que passam a ser as linhagens linfocitárias efetoras após migração para os tecidos alvo (pele e articulações). No tecido alvo, TH1 produz principalmente fator de necrose tumoral alfa, do inglês *tumor necrosis factor* (TNF) *alfa* e TH17 a IL-17. Ambas determinam inflamação dérmica e sinovial; diferenciação e proliferação epidérmica, quimiotaxia de polimorfonucleares, indução de apoptose, neoangiogênese, destruição de cartilagem e erosão óssea. A presença de TNF-alfa e IL-17, produzidas não somente pelas células do sistema imune adaptativo, mas também inato (linfócitos T *naive*, mastócitos, neutrófilos) contribui ainda para síntese e secreção exagerada de outras citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL12, IL-23, interferon-gama, fator transformador de crescimento alfa e beta, fator estimulador de colônia de macrófagos e granulócitos contribuem, além da inflamação,

para perpetuação do processo inflamatório, justificando o curso crônico da doença.^{1-4,12,30}

Apresentam, portanto, papel de destaque os eixos TH1 e, em especial TH17, modulado de forma significativa pela IL-23 e atuante por meio de inúmeras citocinas, porém primordialmente IL-17 e TNF-alfa.^{2,29,30}

O avanço no entendimento dos mecanismos imunológicos envolvidos na doença psoriásica permitiu o desenvolvimento de terapias alvo específicas, com bloqueio das citocinas efetoras, garantindo uma mudança de patamar em termos de controle e tratamento.^{2,26} O fato é que apesar da elucidação das vias imunológicas inflamatórias determinantes da doença, ainda não foi possível determinar com exatidão o fator iniciador desta hiperativação imunológica. Qual o gatilho para ativação das células dendríticas apresentadoras de antígeno? O que determina o reconhecimento do antígeno? O que de fato faz papel de antígeno? Qual antígeno ambiental? Seja antígeno próprio, em que momento ele passa a ser reconhecido e ativado com um antígeno não próprio, deflagrando ativação imunológica?

Neste sentido, existe grande esforço dentro da comunidade científica para identificação dos estímulos envolvidos na iniciação e perpetuação do processo inflamatório. O entendimento atual é de que a psoríase é, portanto, desencadeada por fatores ambientais exógenos e endógenos em pacientes geneticamente predispostos. Classicamente são reconhecidos como fatores ambientais desencadeantes ou de agravo as infecções (particularmente por estreptococo beta-hemolítico do grupo A, infecção periodontal crônica e algumas viremias), medicações (lítio, anti-maláricos, beta-bloqueadores, anti-inflamatórios, principalmente o ácido acetilsalicílico, a indometacina e os oxicams; interferon-alfa, corticoide sistêmico, especialmente no contexto de suspensão abrupta), fatores endócrinos, metabólicos, distúrbios no metabolismo do cálcio, trauma físico local (fenômeno de Koebner) e estresse emocional.^{1,3,4,31,32}

2.4.1. PAPEL DA DISBIOSE INTESTINAL NA ETIOPATOGENESE:

Conforme exposto na introdução, verifica-se em breve pesquisa em diferentes bases de dados científicas e mesmo em mídia dita “leiga” (de ampla veiculação) que existe um crescente interesse em microbioma, em seus diferentes sítios, e sua influência em doenças inflamatórias, imunomediadas e autoimunes.¹³⁻¹⁶

2.4.1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA DO MICROBIOMA:

Há pouco mais de 30 anos se estabelecia nos Estados Unidos o *US National Center for Human Genome Research*, hoje conhecido como *National Human Genome Research Institute*, na ocasião com a ambiciosa meta de sequenciar todas as 3 milhões de bases nitrogenadas do genoma humano. De forma simples, representava a determinação da exata ordem das bases de DNA, determinando os segmentos do material genético humano a partir de amostras de sangue de indivíduos saudáveis.³³

Participaram do projeto em um esforço conjunto mundial mais de 2000 pesquisadores de muitos países (Universidades e Centros de Pesquisas, majoritariamente dos EUA, Reino Unido, França, Alemanha, Japão e China), constituindo assim o *International Human Genome Sequencing Consortium*. Após pouco mais de 3 anos da data do primeiro direcionamento *Human Genome Project*, adiantado em relação à programação inicial, publicou a versão final em outubro de 2003, com o mapeamento de mais de 20 mil genes, representando mais de 90% do material genético humano (teto tecnológico da ocasião).³³⁻³⁵

O projeto Genoma Humano é uma das maiores realizações científicas da história e permitiu o estudo do DNA humano e suas diversas implicações. Além disso, impulsionou a ciência e a tecnologia em diferentes aspectos, contribuindo para evolução do conhecimento em grandes áreas.^{33,34,36}

No entanto, aparentemente 99% do material genético humano é idêntico, o que gerou uma pergunta relevante, o 1% restante seria responsável por toda diversidade e individualidade do ser humano?³⁷

Em paralelo, nós seres humanos dividimos nosso corpo (organismo) com trilhões de microorganismos. Para cada célula humana, existem pelo menos 10x mais bactérias, dividindo espaço e contribuindo para nosso equilíbrio e funcionamento. Com estes microorganismos, evoluímos ao longo do tempo, criando um ecossistema complexo, adaptativo, dinâmico e em constante interação fisiológica.³⁸

É possível que todos os genes humanos mapeados não representem a complexidade do nosso organismo e seu funcionamento. Conforme pontuado acima o ser humano é um holobionte, cuja definição é, um hospedeiro de muitas outras espécies que juntos formam uma unidade ecológica distinta. Temos cerca 100 a 150 vezes mais genes bacterianos que genes humanos e estima-se que cerca de 99% de todo o material genético transcrito no organismo derive de bactérias. Julian Davies,

em 2001, sugeriu que, apesar de ser o sequenciamento do genoma humano um avanço memorável, seria fundamental a identificação e o entendimento do sinergismo entre o ser humano e os microrganismos vivendo em conjunto.³⁸ Deste modo, um completo entendimento exigiria um inventário mais completo possível do genoma dos microrganismos que abrigamos. Com isso, iniciou-se no ano de 2007 o projeto do Microbioma Humano, visando acessar as informações do nosso hologenoma (genoma humano acrescido do genoma dos microrganismos).³⁹⁻⁴¹

2.4.1.2. DEFINIÇÕES DE MICROBIOMA E DISBIOSE:

O microbioma pode ser definido como uma comunidade ecológica comensal, simbiótica e patogênica dos microrganismos que dividem espaço com seus hospedeiros humanos.³⁹

Em 2010, o *Metagenomes of Human Intestinal Tract (MetaHIT)* publicou seus achados acerca do microbioma intestinal de 124 indivíduos europeus hígidos. Dois anos mais tarde, o *Human Microbiome Project (HMP)* acrescentou os achados de 242 adultos americanos saudáveis. Juntos, estes foram os estudos que sequenciaram o microbioma humano “saudável” e ainda hoje constituem os bancos de dados e controles, agora com amostras de 2000 indivíduos de diferentes continentes.⁴²⁻⁴⁴

Existem três sítios principais do microbioma humano: intestino, cavidade oral e pele; sendo que o trato gastrointestinal humano responde por cerca de 95% de todo o microbioma, sendo, portanto, o sítio mais representativo.³⁹ Íleo terminal e cólon contêm a maior quantidade e maior diversidade de microrganismos. Estes desempenham papéis importantes para nossa saúde, como digestão de determinados componentes (exemplo, celulose), produção de vitaminas, em especial vitamina K, além da produção de metabólitos ativos que servem de fonte de energia para as células do epitélio intestinal, os ácidos graxos de cadeia curta. Além disso, conforme previamente mencionado, desempenham papel importante no desenvolvimento e funcionamento adequado do sistema imunológico.^{46,47}

O conceito de disbiose é dinâmico e ainda em construção. Mas, atualmente, pode ser entendido como um desequilíbrio do microbioma, quer seja por diminuição de sua diversidade, da riqueza do material genético, de sua composição funcional e metabólitos produzidos, ou mesmo por redução de determinados microrganismos culminando com a expansão de outros.⁴⁵ Existindo uma interação contínua e direta do

microbioma, sua transcrição de proteínas e o reconhecimento pelo sistema imunológico, o desequilíbrio contribuiria para alteração da imunorreatividade, podendo influenciar o curso de doenças autoimunes.^{40,41} O avanço da técnica dos sequenciamentos genéticos de alto rendimento, impulsionados pelo projeto genoma e microbioma, permitiu a identificação de alterações destas comunidades microbianas no contexto de inúmeras doenças.^{51,52}

2.4.1.3 PAPEL DA DISBIOSE INTESTINAL NA DOENÇA PSORIÁSICA:

Certos padrões de disbiose intestinal contribuem para redução da barreira mucosa, desregulação das *tight junctions*, defeitos quali e quantitativos nas células de Paneth, culminando com aumento da permeabilidade da mucosa intestinal. A partir deste aumento de permeabilidade da barreira mucosa intestinal, duas são as hipóteses relacionadas à imunorreatividade. A primeira, por meio de uma maior exposição do hospedeiro exposto a uma série de antígenos, especialmente bacterianos (predominantemente seus metabólitos - lipossacarídeos componentes de membrana externa das bactérias Gram negativas – LPS); determinando a diferenciação das células apresentadoras de antígeno em células autoreativas e estas migrariam via sistema linfático a potenciais órgãos alvo, estabelecendo processo inflamatório imunomediado; em paralelo, ocorre diminuição da população de linfócitos T reguladores e aumento da diferenciação e expansão de linfócitos TH1 e TH17 por meio da síntese e secreção de IL17 e IL 23, além da diminuição da produção de IgA secretória e ácidos graxos de cadeia curta. Outra suposição, não excludente, mas potencialmente complementar à segunda, é a de migração / translocação dos próprios antígenos bacterianos, gerando células autoreativas em diferentes sítios.^{46,47}

Estudos mais recentes apontam uma alteração da produção de metabólitos microbianos em cenários de disbiose, com papel de destaque aos ácidos graxos de cadeia curta, capazes de induzir modificações epigenéticas através de alterações na metilação de DNA, variações de histona e da expressão de micro-RNAs, com potenciais implicações tanto na homeostase imunológica e na maior susceptibilidade a fenômenos autoimunes ou imunomediados, inclusive na doença psoriásica.⁴⁸⁻⁵⁰

Os primeiros estudos consultados a relacionarem microbioma, imunoreatividade e inflamação foram no cenário das doenças inflamatórias intestinais (DII).⁵³ Modelos experimentais em camundongos demonstraram efeito protetor em

animais sem colonização microbiana, além de permitirem indução de colite neste mesmo grupo de animais, quando ofertado material fecal com microbioma de pacientes portadores de DII.^{51,54} Estudos clínicos, quando agrupados, a maior parte dos estudos encontrou um aumento do número de *Enterobacteriaceae* em DII, as custas do aumento da expressão *Escherichia coli*, além da redução percentual de *Firmicutes*, justificada pela redução de múltiplas espécies de *Clostridium*.⁵⁵

Nesta mesma linha, modelos experimentais validados para estudo de espondiloartrites em camundongos transgênicos HLA-B27 positivos, em tempos anteriores ao estudo do microbioma, evidenciavam a importância das bactérias intestinais no desenvolvimento de doença, uma vez que, também, animais criados em ambiente estéril, não colonizados, também não desenvolviam doença ou o faziam de forma mais frustrante quando comparados ao cenário habitual.^{56,57} De modo semelhante, além da lesão de pele psoriasiforme como parte da doença espondiloartrite, em modelos com HLA-B27 positivos, outros modelos experimentais de psoríase com imiquimode, validados, verificaram além do efeito protetor do nascimento por cesárea, criação em ambiente estéril e alimentação estéril, uma menor expressão de linfócitos TH17 nesta população. Em paralelo, o uso de antibioticoterapia de largo espectro impacta negativamente na psoríase induzida por imiquimode.¹⁸

Em 2015, Scher e colaboradores publicaram seus achados pesquisando microbioma intestinal em amostras de fezes por meio do gene ribossomal 16s em 31 pacientes portadores de doença psoriásica e 17 controles saudáveis. Nestes, os autores documentaram uma menor diversidade entre os doentes quando comparados aos indivíduos controle. Os gêneros que melhor diferenciaram a população com artrite psoriásica foram a redução de *Akkermansia* (do filo *Verrucomicrobia*) *Ruminococcus* e *Pseudobutyrvibrio* (ambos da ordem *Eubacteriales*), além do aumento de *Bacteroides*. Em relação aos pacientes com psoríase sem artrite, redução dos gêneros *Parabacteroides* e *Coproacillus*.⁵⁸ De forma interessante, este padrão de disbiose se assemelha ao previamente descrito em DII.⁵⁹

Estudos subsequentes, majoritariamente envolvendo psoríase sem artrite, apontaram alguns achados semelhantes, outros discordantes. Estes serão abordados de maneira mais completa na discussão, em conjunto com os achados do presente estudo.

De forma semelhante, foram documentadas alterações de microbioma em

outros cenários clínicos, não somente nas doenças autoimunes (lupus, artrite reumatóide), mas também em doenças metabólicas (obesidade diabetes), alérgicas (alergias alimentares) e mesmo comportamentais (distúrbios do humor, autismo).⁶⁰⁻⁶⁵

2.5. ASPECTOS CLÍNICOS:

A doença psoriásica, na pele, manifesta-se por lesões eritematosas e descamativas. Entretanto, dentro do espectro da doença cutânea, existem diversos padrões clínicos de apresentação, subdivididos didaticamente, podendo estes ocorrer de maneira isolada ou combinada.

A psoríase vulgar, também denominada em placas, motivo da pesquisa, é a variante mais comum e responde por aproximadamente 85% dos casos. Esta se manifesta clinicamente pelo surgimento de placas eritematosas e descamativas, bem delimitadas, por vezes infiltradas, com escamas largas, branco-prateadas, predominando nas superfícies extensoras dos membros, além de tronco e couro cabeludo.¹⁻⁴

Foto 1:



Legenda: Placas eritemato-descamativas, recobertas por escamas largas, branco-prateadas; em superfícies extensoras dos membros superiores.

Foto 2:



Legenda: Placas grandes, eritematosas, bem delimitadas, infiltradas, de distribuição difusa no tronco, além das superfícies extensoras dos membros superiores.

Foto 3:



Legenda: Pápulas coalescendo, formando placas, neste caso predominando o eritema em detrimento da descamação. Forma mais instável, inflamatória, podendo estar no contexto de uma agudização de doença, em nosso meio, tipicamente induzida pelo uso inadvertido de corticoide sem o devido desmame ou mesmo exposição solar intensa, com queimadura.

Foto 4:



Legenda: Placa eritemato-descamativa, com áreas de escoriação, em área típica de acometimento: couro cabeludo.

São descritos outros fenótipos clínicos, dentro do espectro de manifestações da doença psoriásica. Entre eles, psoríase invertida ou flexural, cujo acometimento se dá nas regiões de dobras, onde predomina o eritema, por vezes vermelho vivo, com pouca ou nenhuma descamação; prurido e ardor. Psoríase gutata, com lesões tipo pequenas placas, eritemato-descamativas, em formas de gota, tipicamente em caráter eruptivo, após infecções de orofaringe.

Foto 5:



Legenda: Forma invertida, onde predominam as lesões em regiões flexurais. Nesta topografia, predominam placas eritematosas lisas, em geral não descamativas.

Foto 6:



Legenda: Forma *Guttata*, com pequenas placas ovaladas, em forma de gotas, de curso abrupto, eruptivo, tipicamente após quadro infeccioso, viral ou estreptocócico.

Em paralelo, são descritas as ditas áreas especiais, acometidas pela psoríase: couro cabeludo, face, genitália, palmas e plantas e unhas. São discriminadas desta forma por dois aspectos: pelo importante impacto em relação à qualidade de vida, não proporcional necessariamente à extensão do acometimento, mas sim em relação à localização. Por outro lado, são também assim discriminadas pela dificuldade de tratamento e recalcitrância diante dos tratamentos habituais. Por fim, hoje, as formas pustulosas têm sido compreendidas como uma doença à parte, com outro mecanismo fisiopatológico predominante, e não como um fenótipo da doença psoriásica.^{1-4,66,67}

Foto 7:



Legenda: Placa eritemato-descamativa extensa, avançando à face, além da linha de implantação capilar.

Foto 8:



Legenda: A: Psoríase invertida: Placa eritematosa, brilhante, lisa, não descamativa, em região flexural – axila. B: Psoríase invertida, com acometimento genital – base, corpo do pênis e glândula, apresentando eritema e edema, além de fina descamação no corpo.

Foto 9:



Legenda: Psoríase plantar: Eritema e descamação plantar, predominando em arco plantar e calcâneo, refletindo “koebnerização” relacionada ao ortostatismo.

Foto 10:



Legenda: A: Psoríase ungueal, com predomínio de manifestação de leito ungueal: onicólise distal regular, com faixa de eritema contornando onicólise, além de estilhas hemorrágicas. B: Psoríase ungueal, com manifestação de matriz: *pitting* ungueal, não geométrico.

Aproximadamente um terço dos pacientes portadores de doença psoriásica desenvolverá artrite psoriásica ao longo de sua doença, ainda que haja diferenças conforme a população estudada.⁶⁸ A artrite psoriásica tem história natural imprevisível, porém em geral segue curso crônico, com potencial erosivo e, portanto, incapacitante. É, por definição, soronegativa e se manifesta por diferentes padrões

clínicos de acometimento. Formas poliarticulares de pequenas articulações, em padrão simétrico por vezes muito semelhante à artrite reumatoide. Tradicionalmente favorece à doença psoriásica o acometimento de articulações Interfalangianas distais e, do ponto de vista clínico, chama atenção, além da dor e edema articular, a presença de eritema sobre a articulação acometida. Em paralelo, chama a atenção para artrite psoriásica a não simetria do acometimento, com articulações intensamente acometidas ao lado de articulações rigorosamente normais. Lembramos ainda formas oligoarticulares de grandes articulações, com distribuição assimétrica; entesite, dactilite, doença ungueal, além do acometimento do esqueleto axial^{1,2,68}

Foto 11:



Legenda: Artrite psoriásica. Edema e eritema articular das Interfalangianas distais das mãos, com distribuição não simétrica, irregular, alternando com dedos preservados; associado a pequenas placas eritemato descamativas sobre as articulações, além de psoríase ungueal.

Foto 12:



Legenda: Artrite psoriásica. Placas eritemato descamativas no dorso dos pés e dos dedos, acompanhando quadro de dactilite do hálux esquerdo.

2.6. IMPACTO DA DOENÇA:

A doença psoriásica determina um grande comprometimento psicossocial em seus pacientes devido a um importante prejuízo das capacidades físicas e cognitivas, além é claro da significativa diminuição da qualidade de vida.¹¹ Tal impacto é comparável ao de outras doenças crônicas como câncer, artrite reumatoide, diabetes melito, hipertensão arterial, depressão; e se correlaciona com a gravidade da doença psoriásica.^{11,26,69} Destaca-se ainda o enorme prejuízo econômico gerado pela psoríase, com dados americanos evidenciando custos diretos e indiretos relacionados a psoríase atingindo bilhões de dólares ao ano, somente nos Estados Unidos.⁷⁰ Existe, portanto, um ônus importante relacionado a psoríase, corroborado e sustentado por relatório global a respeito da psoríase publicado pela Organização Mundial de Saúde (OMS).⁵

2.7. COMORBIDADES:

Conforme exposto anteriormente, a doença psoriásica, na condição de doença sistêmica, se associa a diversas comorbidades, quer seja por base etiopatogênica semelhante, estimulada pela inflamação persistente; ou mesmo pelo impacto imposto pela doença e dano acumulado ao longo da vida.²⁶⁻²⁹

O quadro a seguir, adaptado do último Consenso Brasileiro de Psoríase, publicado em 2020, sumariza as principais comorbidades da doença psoriásica e sua prevalência estimada.⁷¹

Quadro 1: Doença Psoriásica e suas principais comorbidades:

Comorbidades:	Prevalência estimada:
Hipertensão Arterial Sistêmica	26.9%
Obesidade	25.6%
Dislipidemia	20.47%
Depressão	16.0%
Enxaqueca	15.5%
Ansiedade	15.4%
Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica	15.3%
Diabetes Mellitus	11.7%
Insuficiência Coronariana	3.4%
Tentativa de suicídio	2.9%
Asma ou DPOC	2.7%
Doença Inflamatória Intestinal	0.9%
Hepatopatia Crônica	0.8%

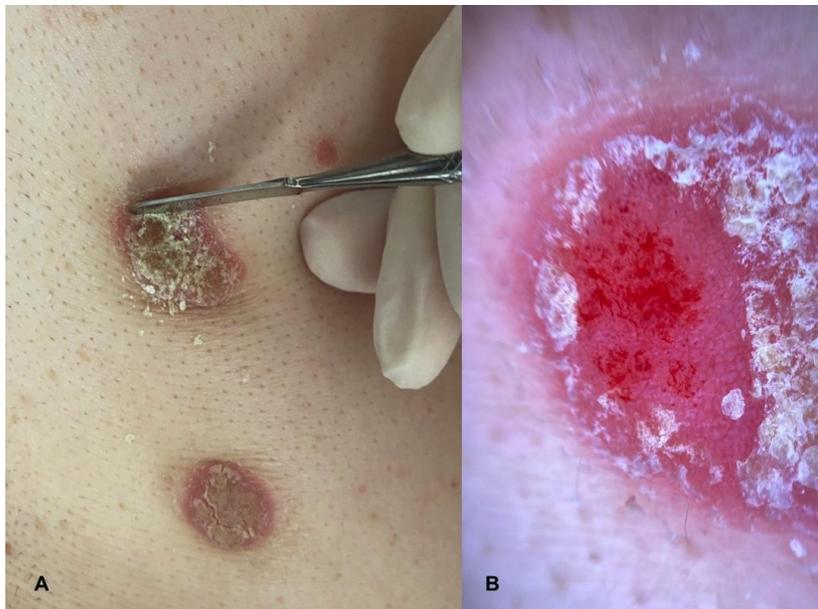
Adaptado: Romiti R, et al. Consenso brasileiro de psoríase 2020: algoritmo de tratamento da Sociedade Brasileira de Dermatologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2020.⁷¹

2.8. DIAGNÓSTICO:

O diagnóstico da psoríase, em especial na sua forma vulgar, é essencialmente clínico, embasado na morfologia (lesões elementares: pápulas e placas eritematosas e descamativas), topografia e distribuição (simétrica, com predileção pelas superfícies extensoras dos membros superiores e inferiores, além de couro cabeludo e região lombossacral), por vezes amparados pelos sinais semiológicos não patognomônicos, porém típicos (por meio da curetagem metódica de Brocq, demonstra-se o Sinal da Vela e Sinal do Orvalho Sangrante) e com precisa correlação histopatológica. Outro aspecto semiológico que pode contribuir para o diagnóstico é o fenômeno isomórfico de Koebner, isto é: “iso”, igual; “morfo”, morfologia. O Fenômeno descrito por Heinrich Koebner, em 1876, relaciona o surgimento de lesões de uma dermatose primária em áreas de trauma. Este não é específico da psoríase, podendo ser apreciado também no vitiligo, líquen plano, entre outras condições. Entretanto, o surgimento de

pápulas e placas eritemato-descamativas, lineares sobre área de trauma corto-contuso, por exemplo, direciona o diagnóstico para psoríase.^{1-4,72}

Foto 13:



Legenda: A. Curetagem metódica de Brocq, com sinal da vela. B. Após curetagem, sinal do orvalho sangrante. Ambos típicos da psoríase em placas.

Foto 14:

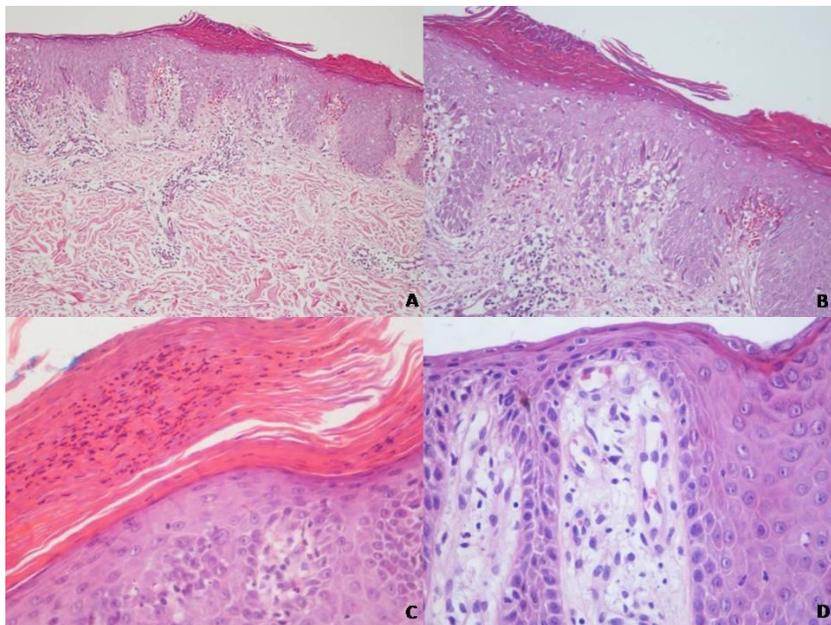


Legenda: Placa eritemato-descamativa linear, sobre cicatriz de abdominoplastia, evidenciando o Fenômeno de Koebner.

O exame histopatológico pode complementar o exame clínico, em especial na dificuldade de diferenciação com outras doenças eritemato descamativas e por vezes liquenóides. A psoríase vulgar, do ponto de vista histopatológico, se apresenta por

meio de hiperqueratose com paraceratose, hipo ou agranulose, acantose regular (dita psoriasiforme), com adelgaçamento da epiderme suprapapilar, proliferação e ectasia dos vasos da derme papilar.^{1,4}

Foto 15:



Legenda: H&E. A. 100x. Acantose regular, psoriasiforme. B. 400x. Hiperqueratose, hipogranulose. C. 400x. Hiperqueratose com paraceratose. D. 400x. Adelgaçamento da epiderme supra papilar, além de alongamento e edema das papilas dérmicas.

2.9. CLASSIFICAÇÃO:

Doenças inflamatórias crônicas dependem, para melhor avaliação e mesmo condução terapêutica, de instrumentos que permitam classificar a gravidade de doença. Neste sentido, a doença psoriásica, com enfoque do acometimento cutâneo, em sua forma vulgar, possui critérios bem definidos: a psoríase vulgar é classificada em leve, quando localizada e com pouco impacto à qualidade de vida do paciente; menos de 10% de área de superfície corpórea acometida (do inglês, *Body Surface Area* - BSA), com escore de gravidade PASI (Índice de gravidade e área acometida em psoríase, ou do inglês, *Psoriasis Area and Severity Index* / Anexo 2) menor que 10, além de escore de impacto da qualidade de vida em doenças dermatológicas (do inglês, *Dermatology Life Quality Index* / Anexo 3) menor que 10. Em contrapartida, a psoríase vulgar grave é assim classificada quando as lesões se apresentam de maneira difusa, com eritema, infiltração e descamação mais intensos, determinando significativo impacto ao paciente. Conforme o Consenso Brasileiro de Psoríase são, portanto, classificados como graves aqueles com superfície corporal acometida maior

que 10% e/ou com PASI maior que 10 e/ou DLQI maior que 10 (dita regra de Finlay ou regra dos 10).^{1-4,73}

2.12. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL:

Tendo em vista sua principal apresentação clínica da psoríase, na dita forma em placas, são diagnósticos diferenciais pertinentes todas aquelas doenças que cursam com lesões eritematosas e descamativas na pele. Podemos organizar o diagnóstico diferencial, didaticamente, em doenças inflamatórias, infecciosas e mesmo neoplásicas.²⁻⁴

Dentre as inflamatórias, talvez a mais relevante por sua prevalência, é a dermatite atópica. Esta, no entanto, costuma acometer mais frequentemente as dobras em relação às superfícies extensoras; o prurido em geral é mais marcante, acompanhado da pele xerótica. Auxiliam a este diagnóstico, outros estigmas de atopia, como rinite e asma, além da história familiar de atopia. Também com lesões eritemato descamativas, talvez mais foliculares; a depender da forma, por vezes até desde a infância; acompanhadas de ceratodermia palmo plantar alaranjada, deve ser lembrada a pitiríase rubra pilar, também como diferencial. A própria pitiríase rósea de Gibert, com lesão eritematosa inicial, tipo medalhão, com “colarete” de descamação interno, se seguindo do surgimento de múltiplas pápulas eritemato descamativas após cerca de 7 a 14 dias, em caráter agudo, quase que eruptivo, podendo no tronco posterior exibir distribuição típica em “árvore de natal”; também é um diferencial pertinente.

Com enfoque nas infecciosas, à tinea, em suas diferentes apresentações, faz diagnóstico diferencial com psoríase. Favorece este diagnóstico quando a lesão apresenta borda ativa, policíclica ou circinada, crescimento centrífugo e clareamento central. Em geral existe verifica-se assimetria na distribuição das lesões e o prurido é marcante. Ainda pensando em moléstias infecto contagiosas, devemos lembrar da sífilis secundária, em especial em sua fase pápulo-eritemato-descamativa. Nesta, não há prurido. A descamação é periférica (colarete de Biet). A linfadenopatia generalizada é também uma importante ferramenta semiológica para o diagnóstico de sífilis.

Por fim, como representante das neoplásicas no diagnóstico diferencial, a micose fungoide, em sua forma clássica de Alibert Bazin, quando com lesões em

patches ou placas, também eritematosas e finamente descamativas. A micose fungoide, entretanto, afeta tipicamente áreas duplamente cobertas (dorso inferior, nádegas e raiz das coxas; varia de eritemato rósea à acobreada e a descamação é fina e destaca-se a atrofia superficial, dita em “papelote de cigarro”, ausente na psoríase. O prurido aqui é variável e em geral não serve para diferenciação.

O diagnóstico diferencial de psoríase vulgar, portanto, pode ser realizado com base nas diferenças encontradas na semiologia dermatológica. Guiados pela suspeita clínica, podem ser úteis, o exame direto, provas sorológicas e mesmo a biópsia cutânea com exame histopatológico.²⁻⁴

2.11. TRATAMENTO:

Em linhas gerais, os pacientes devem ser orientados, como parte importante do tratamento, à reeducação alimentar e a prática regular de atividade física, permitindo, para aqueles em sobrepeso/obesidade, o emagrecimento, com especial importância da redução do percentual corporal de gordura e das medidas abdominais. O estímulo à chamada mudança de estilo de vida como parte fundamental do tratamento permite um melhor controle das comorbidades cardiometabólicas, redução da gordura visceral e tratamento ou redução de risco da doença hepática gordurosa não alcoólica. Em paralelo, tais medidas permitem também a redução do estímulo inflamatório, haja vista a capacidade endócrina e pró inflamatória dos adipócitos, em especial relacionados à obesidade centrípeta. Alinhado a estas metas de modificação de estilo de vida, o estímulo e o apoio a cessação do álcool e tabagismo também impactam positivamente, não só no controle da doença, mas também na tolerabilidade dos eventuais tratamentos sistêmicos posteriormente indicados. Em conjunto com a educação do paciente, medidas terapêuticas que visem controlar o prurido, tais quais orientações de banho, higiene e hidratação da pele, cabelos e unhas, além do uso de ceratolíticos em casos selecionados contribuem para o controle da doença com a redução da "koebnerização" das lesões cutâneas. Por fim, atividades que permitam controle de estresse, higiene do sono, além do referenciamento ao tratamento psicoterápico e psiquiátrico dos pacientes com comorbidades comuns como ansiedade e transtornos do humor.

O tratamento específico da psoríase vulgar deve ser guiado pela classificação de gravidade, conforme exposto anteriormente.^{26,71}

Quadros leves, localizados, com baixo impacto sobre a qualidade de vida do paciente, sem comorbidades estabelecidas, devem ser manejados com tratamento tópico. Tem-se como primeira escolha hoje a associação de análogos da vitamina D com corticoides de alta potência. Como alternativa, os corticoides isolados, os inibidores de calcineurina como alternativa para sítios cutâneos especiais (face, pálpebras, axilas, virilhas, genitália). Por sua ação antiproliferativa epidérmica e suposto efeito antiinflamatório, são alternativas ainda viáveis em casos selecionados o uso dos derivados do coaltar. Como potencializador da terapia tópica, em especial em nosso país de clima tropical em grande parte do seu território, a dita helioterapia (exposição solar) pode ter importante efeito, sendo ainda praticada, em tempos pré determinados. A aplicação de óleo mineral sobre as placas intensamente descamativas antes da exposição solar contribui para melhor ação da radiação ultravioleta.^{26,71}

Nos pacientes com quadros graves ou mesmo classificados como leve, porém não controlados com o tratamento tópico, o Consenso Brasileiro de Dermatologia coloca como primeira opção, quando disponível e, mais do que isso, exequível, a fototerapia, em suas diferentes modalidades (UVB-NB, UVA-1 ou PUVA).⁷¹

Prosseguindo nos algoritmos de tratamento, na impossibilidade de realização de fototerapia ou mesmo no não controle adequado após 20 sessões de fototerapia, estão indicados os tratamentos sistêmicos. A referida terapia sistêmica clássica envolve o metotrexato, acitretina e a ciclosporina. Segundo o Consenso nacional vigente, metotrexato é considerado o tratamento sistêmico clássico de primeira linha, podendo ser utilizada a acitretina em homens e mulheres, fora do período fértil. A ciclosporina é posicionada como tratamento de resgate, utilizado em crises graves, como ponte para outro tratamento de manutenção. Isto se deve por sua alta eficácia e rápido início de ação, porém tendo seu uso limitado pelo risco de nefrotoxicidade e hipertensão.^{26,71}

Novamente, naqueles pacientes insuficientemente controlados, intolerantes ou não elegíveis para o tratamento com os imunossuppressores/imunomoduladores sistêmico clássicos, estão indicados os Imunobiológicos. Imunobiológicos, por definição, são anticorpos monoclonais quiméricos, humanizados ou humanos, alvo específicos, que permitem o bloqueio de uma ou mais citocinas específicas, envolvidas na cascata imunológica envolvida na etiopatogênese da doença psoriásica. Representam uma verdadeira revolução na medicina. O conceito em si do bloqueio de

uma determinada citocina ou receptor, por meio de um anticorpo, foi ganhador de prêmio Nobel de medicina, tamanho sua importância. Presentes hoje em diversas áreas da medicina, a Psoríase foi pioneira dentro da Dermatologia, inicialmente com o bloqueio do TNF-alfa, posteriormente com as ditas anti interleucinas, com bloqueio das interleucinas 12 e 23, 17 e 23 de forma isolada. Os imunobiológicos, em psoríase, foram os grandes responsáveis pelo reposicionamento das metas de tratamento, hoje mais ambiciosas. Nosso Consenso, por exemplo, estabelece como meta mínima o alcance de uma melhora de ao menos 90% em relação ao quadro inicial. E, de fato, com os novos imunobiológicos, conforme os estudos pivotais e posteriormente os estudos de vida real, é possível, em significativa parcela de pacientes, atingir o controle completo ou quase completo das lesões de pele. Em paralelo, tais bloqueios atuam nos diferentes domínios da doença, tendo efeito terapêutico importante também na doença articular. Além de efetivos, são seguros, com as devidas precauções e não apresentam dano cumulativo, tal qual os imunossupressores clássicos. Hoje estão acessíveis ao tratamento. Entretanto, seguem como terceira linha por conta de seu custo. Por outro lado, acumulam-se evidências de sua custo-efetividade quando avaliado o custo por resposta e o custo pelo controle de danos, aumento de produtividade e melhora da qualidade de vida.^{1-4,26,71.}

Neste sentido, abre-se espaço para a hipótese de que o microbioma possa representar um novo alvo terapêutico, com perspectiva de intervenção sob diversos aspectos: maior consumo de fibras, fermentados e prebióticos visando reequilibrar o microbioma, regulando inflamação; suplementação com probióticos, modulando composição, contribuindo para diminuição da imunorreatividade; transplante de microbioma de um doador ~saudável~ para o indivíduo doente. Todas estas hipóteses, a serem testadas adequadamente em estudos prospectivos e controlados.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral:

1. Caracterizar o microbioma intestinal dos pacientes portadores de doença psoriásica grave, acompanhados em um ambulatório de referência estadual, comparando com indivíduos controles, sem doença psoriásica.

3.2. Objetivos específicos:

1. Verificar a prevalência de leitura dos principais filos, famílias e gêneros bacterianos nos pacientes portadores de doença psoriásica grave e indivíduos controles sem doença psoriásica.
2. Comparar o microbioma intestinal dos pacientes portadores de doença psoriásica grave com e sem artrite psoriásica.
3. Confrontar o microbioma intestinal de indivíduos controles, com e sem história familiar de doença psoriásica, em parentes de primeiro grau.

4. MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDO:

Estudo Observacional, tipo caso-controle. O estudo foi desenvolvido primariamente a partir da comparação de dois grupos: pacientes portadores de doença psoriásica grave e indivíduos sem doença psoriásica. De modo a explorar outros cenários e permitir comparações intra-grupo, os grupos foram subdivididos em dois subgrupos: 1. Grupo casos: a) doença psoriásica sem artrite; e b) com artrite; 2. Grupo controles: a) controle saudável sem história familiar de psoríase em pacientes de primeiro grau; e b) com história familiar de psoríase em parentes de primeiro grau.

4.2. LOCAL DE ESTUDO:

A pesquisa foi desenvolvida no ambulatório de psoríase do Serviço de Dermatologia do Hospital Santa Teresa (HST), localizado no município de São Pedro de Alcântara - Santa Catarina. O HST pertence à rede hospitalar da Secretaria Estadual de Saúde de Santa Catarina (SES/SC). O Serviço de Dermatologia é referência estadual.

4.3. POPULAÇÃO DE ESTUDO:

O estudo foi realizado com indivíduos de ambos os sexos, maiores de 18 anos, diagnosticados com doença psoriásica grave e por indivíduos sem doença psoriásica (grupo controle), no período julho de 2020 a julho de 2022. Toda a população foi composta por indivíduos moradores na região metropolitana de Florianópolis, de modo a minimizar diferenças ambientais e de padrão de dieta.⁷⁴

4.3.1. REGIÃO METROPOLITANA DE FLORIANÓPOLIS:

Definida por lei complementar estadual núm. 495 de 2010, é constituída pela Capital de Santa Catarina, Florianópolis, e os municípios em seu entorno: São José, Palhoça, Biguaçu, Santo Amaro da Imperatriz, Governador Celso Ramos, Antônio Carlos, Águas Mornas e São Pedro de Alcântara. Área de 7.470,7 km² e população estimada de 1.189.947 habitantes.^{75,76}

4.4. CRITÉRIOS E INCLUSÃO E EXCLUSÃO:

4.4.1. PACIENTES (CASOS):

4.4.1.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

1. Pacientes com diagnóstico clínico e/ou histopatológico e/ou radiológico de psoríase ou artrite psoriásica.¹⁻⁴ A artrite psoriásica foi diagnosticada por médico reumatologista, além de ter sido definida pelos critérios de CASPAR (do inglês, *Classification for Psoriatic Arthritis (CASPAR) Criteria*) (Anexo 1).⁷⁷

* Todos os pacientes com doença psoriásica foram avaliados em conjunto com um médico reumatologista (Médico especialista em Clínica Médica e Reumatologia, com registro de qualificação de especialista em ambas Especialidades; com 20 anos de atuação na Especialidade; Professor Universitário e Preceptor de Residência Médica, com Mestrado e Doutorado).

2. Parâmetros de gravidade:
 - a. Área de superfície corpórea acometida (do inglês, *Body surface Area - BSA*) > 10%, e/ou;
 - b. Escore de gravidade PASI (Índice de gravidade e área acometida em psoríase, ou do inglês, *Psoriasis Area and Severity Index / Anexo 2*) maior que 10, e/ou;
 - c. Escore de impacto da qualidade de vida em doenças dermatológicas (do inglês, *Dermatology Life Quality Index / Anexo 3*) maior que 10.^{26,71}
 - d. A gravidade da doença foi avaliada pelos seguintes escores: do inglês, *Disease Activity in Psoriatic Arthritis Score* (DAPSA) e *Bath Ankylosing Spondylitis Activity Index* (BASDAI).⁷⁸

4.4.1.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO: foram excluídos os pacientes com pelo menos um dos seguintes critérios:

1. Diarreia no último mês.
2. Comorbidades: doença inflamatória intestinal (doença de Crohn ou retocolite ulcerativa), doenças inflamatórias sistêmicas ou autoimunes (como artrite reumatoide, lúpus sistêmico, esclerose sistêmica, vasculites, miopatias inflamatórias), alergia alimentar, esclerose múltipla, diabetes tipo I, autismo, pancreatite crônica, cirrose (previamente relacionadas à disbiose intestinal).⁵⁹⁻⁶⁵
3. Neoplasia ativa.

4. História de cirurgia com intervenção sobre o trato gastrointestinal.
5. Tratamento sistêmico com csDMARDs (metotrexate, sulfassalazina, leflunomida, acitretina, ciclosporina e inibidores da JAK) ou bDMARDs (inibidores do TNF, IL12, IL17, IL23) nos últimos 3 meses antes da coleta do exame de fezes para avaliação do microbioma intestinal.
6. Uso de antibiótico sistêmico ou probiótico oral nos últimos 3 meses antes da coleta do exame de fezes.

4.4.2. CONTROLES:

4.4.2.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

1. Indivíduos atendidos nos ambulatórios de dermatologia do HST (ambulatório de dermatologia geral), além de familiares de primeiro grau dos pacientes incluídos como casos (portadores de psoríase), sem doença psoriásica (inclusive artrite psoriásica *sine* psoríase).

4.4.2.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

1. Diarréia no último mês.
2. Comorbidades: doença inflamatória intestinal (doença de Crohn ou retocolite ulcerativa), doenças inflamatórias sistêmicas ou autoimunes (como artrite reumatoide, lúpus sistêmico, esclerose sistêmica, vasculites, miopatias inflamatórias), alergia alimentar, esclerose múltipla, diabetes tipo I, autismo, pancreatite crônica, cirrose.⁵⁹⁻⁶⁵
3. Neoplasia ativa.
4. História de cirurgia com intervenção sobre o trato gastrointestinal.
5. Uso de antibiótico sistêmico ou probiótico oral nos últimos 3 meses antes da coleta do exame de fezes.

4.5. TAMANHO DA AMOSTRA:

O cálculo de número amostral foi baseado na metodologia descrita por Zhao *et al.*, em 2018, e implementado no pacote de R RnaSeqSampleSize.⁷⁹ Tais modelos estatísticos são aplicados à análise de dados de microbioma.⁸⁰

Foram utilizadas como premissas:

- Controle da taxa de descobertas falsas (False Discovery Rate, FDR) em 5%;
- Parâmetro de dispersão da distribuição binomial (BN) em torno de 0,5;

- Contagem média por grupo de ao menos 50 *reads*;
- Tamanhos de biblioteca similares entre os grupos;

Com 15 amostras por grupo é possível detectar diferenças médias [mudança de dobra, do inglês, *fold change* (FC) = 4] com poder estatístico acima de 95%.

4.6. PAREAMENTO DE CASOS CONTROLES:

Os controles foram pareados por idade, sexo e IMC, sendo estas covariáveis em estudos de regressão.

4.7. COLETA DE DADOS:

Os dados foram coletados em consulta médica e nos prontuários eletrônicos dos pacientes com doença psoriásica e dos indivíduos controles, de acordo com critérios de inclusão e exclusão, somente após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da SES/SC e a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias (Apêndice 1) pelos participantes do estudo. A consulta médica é realizada de maneira rotineira pelo médico pesquisador (médico dermatologista assistente no serviço de dermatologia do HST), uma vez que ele é responsável pelo ambulatório de psoríase grave. O tempo médio de consulta no ambulatório de especialidade é de 30 a 45 minutos. A consulta médica envolve anamnese (história clínica) e exame clínico.

Para esta coleta foi utilizado um Instrumento de coleta de dados (Apêndice 3), elaborado pelo autor. Este contempla as variáveis propostas para o presente estudo. Está ordenado, de maneira lógica, em 04 domínios: o primeiro domínio, denominado dados demográficos, possui 07 questões; o segundo, quadro clínico/características da doença, possui 34 questões; o terceiro, artrite psoriática, 9 questões; o quarto, exames complementares. Ao final, uma folha tipo tabela para registro de exames laboratoriais.

O médico pesquisador atua também em outros ambulatórios do Serviço de Dermatologia do HST, inclusive no ambulatório de Dermatologia Geral. Pacientes do ambulatório de Dermatologia, não portadores de psoríase, que preencheram critérios de inclusão e respeitem os de exclusão, foram selecionados e após convite para participação na pesquisa, consentimento e assinatura do TCLE, tiveram seus dados coletados em ambiente de consulta médica, também pelo médico pesquisador responsável, em moldes semelhantes aos casos, anteriormente descritos.

A variável dependente foi constituída pela análise do microbioma do trato gastrointestinal de forma qualitativa e quantitativa, levando em conta a biodiversidade e gêneros/espécies bacterianas mais prevalentes e suas frequências de ocorrência entre os pacientes com doença psoriásica e os controles.

Dentre as variáveis independentes destacam-se os aspectos demográficos: gênero (feminino/masculino), idade (em anos), cor (branca/parda/negra), naturalidade (nome da cidade), procedência (nome da cidade), profissão (qualitativa, aberta); aspectos clínicos da doença psoriásica: tempo de evolução da doença (em anos), idade ao diagnóstico (em anos), métricas de gravidades: BSA, PASI (quantitativas contínuas, BSA em percentual e PASI em escala contínua de 0 a 72) e DLQI (quantitativa discreta, em escala contínua de 0 a 30); diagnóstico de artrite psoriática (sim/não) e mensuração de gravidade: DAPSA e BASDAI (quantitativa discreta, em escala contínua); comorbidades diagnosticadas e tratadas (sim/não): obesidade, síndrome metabólica (SM), hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes melito (DM), dislipidemia (DLP), esteatose hepática e cardiopatia; peso (em quilogramas), altura (em centímetros), índice de massa corpórea (em quilogramas por metro quadrado) e circunferência abdominal (em centímetros), além de marcadores séricos de inflamação: velocidade de hemossedimentação (VHS) (1ª hora, em milímetros) e proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR) (em miligramas por decilitro).

4.7.1. MICROBIOMA INTESTINAL:

O teste foi realizado através do sequenciamento de DNA em larga escala, utilizando marcadores da região V3/V4 do gene ribossomal 16S RNA para identificação taxonômica das bactérias, extraído e amplificado das fezes dos pacientes estudados.^{81,82}

Todos os testes foram realizados em um laboratório particular de Florianópolis, chamado BiomeHub Pesquisa e Desenvolvimento (CNPJ: 36.785.502/0001-12). Trata-se de uma *Start up* do setor de tecnologia em saúde, oriunda de programas de pós graduação em engenharia, biologia e biotecnologia da Universidade Federal de Santa Catarina, focada no estudo e desenvolvimento do microbioma, que tem por missão tornar a medicina de precisão mais acessível. A sede da empresa encontra-se na avenida Luiz Boiteux Piazza, número 1302, no bairro da Cachoeira do Bom Jesus. Faz parte de um parque tecnológico instituído pelo Governo de Santa Catarina, chamado Sapiens Parque, onde se situam diversas empresas de

tecnologia e desenvolvimento, públicas e privadas (Florianópolis/SC. Brasil. Código Postal: 88054-700).

A coleta de fezes foi feita pelos próprios pacientes, em suas respectivas casas, utilizando kit próprio de coleta (*Probiome kit – Neoprospecta Brazil*). O kit incluía um saco coletor que cobre o assento do sanitário, um swab estéril (*flocked swab - 520CS01, Copan, USA ou 25-3606-H BT, Puritan, USA*) para coleta da amostra, além de um tubo de ensaio contendo solução estabilizante fecal (*Neosample Z – Neoprospecta Brazil*). O swab tem um ponto de quebra, permitindo que sua extremidade que contém algodão, que foi “mergulhada” na amostra de fezes, fique imersa na solução estabilizante do tubo de ensaio. A amostra devia ser homogeneizada com movimentos de agitação, até que a solução adquira coloração homogênea. A técnica de coleta é bastante simples e sua instrução, além da orientação, foi complementada por vídeo informativo demonstrando de forma pormenorizada (*Probiome: como coletar minha amostra?* Disponível em: <https://www.biome-hub.com/probiome>. Acesso em 23 de novembro de 2021).

As amostras armazenadas no tubo de ensaio contendo a solução estabilizadora podiam ser armazenadas em temperatura ambiente e mantém a viabilidade para análise por um período de até 30 (trinta) dias. A entrega do mesmo foi feita pelo próprio paciente, no ambulatório do HST, ao pesquisador responsável que realizou o transporte até o laboratório responsável pela análise. Quaisquer custos ao paciente para deslocamento e entrega da amostra no ambulatório foram ressarcidos pelo médico pesquisador.

No laboratório, a extração de DNA das amostras de fezes foi realizado utilizando o Kit QIAamp DNA Stool Mini kit (Qiagen Str. 1, 40724, Hilden, Alemanha), conforme metodologia oferecida em protocolo pelo fabricante e previamente publicada.^{81,82} A cada bateria de extração de DNA, um controle negativo foi incluído.

As bibliotecas de sequenciamento e amplificação do gene rRNAs16S (codificador de eubactérias) foram construídas usando os *primers* V3/V4 (341F 122 CCTACGGGRSGCAGCAG e 806R GGACTACHVGGGTWTCTAAT), em um protocolo de reação em cadeia de polimerase (do inglês, *polymerase chain reaction – PCR*) em duas etapas. O primeiro PCR é realizado com os *primers* V3/V4 universais contendo uma parcela de *Illumina adaptor*, baseado no adaptador *TruSeq* (Illumina, USA) que permite um segundo PCR com seqüências indexadas em procedimento

similar ao anteriormente descrito. Aqui, são adicionados índices duplos exclusivos por amostra no segundo PCR. Dois mililitros de amostra de DNA fecal serão utilizados como entrada em cada primeira reação de PCR.

As reações de PCR foram realizadas utilizando *Platinum Taq* (Invitrogen, USA) nas seguintes condições: 95 °C por 5 minutos, 25 ciclos de 95 °C por 45 segundos, 55 °C por 30 segundos e 72 °C por 45 segundos e uma extensão final de 72 °C por 5 minutos para o primeiro PCR. No segundo PCR, 95 °C por 5 minutos, 10 ciclos de 95 °C por 45 segundos, 66 °C por 30 segundos, 72°C por 45 segundos e uma extensão final de 72 °C por 2 minutos. Todas as reações de PCR foram realizadas em triplicata. As reações de PCR finais foram limpas com AMPureXP bead (Beckman Coulter, USA) e as amostras foram selecionadas e inseridas nas bibliotecas de sequenciamento para quantificação. Para cada bateria de PCR, um controle negativo foi incluído.

A concentração de DNA nas bibliotecas foi estimada com auxílio de ensaios *Picogreen dsDNA* (Invitrogen, USA) e, em seguida, as bibliotecas agrupadas foram diluídas para quantificação precisa de qPCR usando a Biblioteca KAPA disponível sob uma licença internacional CC-BY-ND 4.0.

Os *pools* das bibliotecas foram ajustados para uma concentração final de 11,5 pM (para kits V2) ou 18 pM (para kits V3) e sequenciados em um sistema MiSeq (Illumina, EUA), usando os primers Illumina padrão, fornecidos no kit do fabricante. As execuções de 300 ciclos de extremidade única foram realizadas usando kits de sequenciamento V2x300, V2x300 Micro, V2x500 ou V3x600 140 (Illumina, EUA), sempre gerando amplicons de 283 pb adequados para análise. A cobertura de 50.000 leituras foi definida para cada amostra sequenciada.

Os resultados obtidos após o sequenciamento de DNA foram analisados pelo novo *pipeline* de bioinformática Neotools v1. Este *pipeline* contempla dois avanços na análise e classificação dos dados de sequenciamento: 1. Utilização de métodos *denoise*, eliminando sequências oriundas de possíveis erros de sequenciamento, aumentando a confiança no resultado obtido; 2. Classificação taxonômica *de novo*, baseada em similaridade, utilizando um algoritmo denominado LCA (*lowest common ancestor*) para determinação do menor nível taxonômico possível. A similaridade entre os dados sequenciados foi analisada contra um banco de dados de sequências de 16S obtidas de genomas completos de bactérias (Neoref16Srev6). Havendo sequências idênticas à uma única espécie presente no banco de dados, foi atribuída a

taxonomia de espécie. Se duas ou mais sequências apresentaram similaridade de até 98,7% com diferentes espécies do banco de dados, a atribuição taxonômica foi levada ao menor nível de convergência delas (ex. Gênero, família, filo, reino).

4.7.2. MÉTRICAS DE GRAVIDADE DA DOENÇA PSORIÁSICA:

Avaliação de gravidade foi realizada utilizando as métricas mencionadas nos critérios de inclusão: BSA, PASI e DLQI.

O BSA avalia a extensão da doença cutânea, estimando percentual de área acometida. Palma da mão: 1%; cabeça e pescoço: 10%; membros superiores: 20%; tronco: 30%; membros inferiores e região glútea: 40%. O resultado varia de 0 a 100%.⁷¹

O PASI é o escore de gravidade mais utilizado na doença psoriásica.⁸³ A ferramenta foi desenvolvida em 1978 por Fredricksson e Petterson para utilização em um ensaio clínico,⁸⁴ tornando-se após muito utilizado tanto em pesquisa clínica quanto em ambiente de assistência.⁸⁵ O PASI pontua de 0 a 72, aumentando conforme maior gravidade de doença. Considera a extensão de doença em 4 segmentos corpóreos (cabeça/pescoço, tronco, membros superiores e membros inferiores) e o grau de eritema, infiltração e descamação em cada área (0 a 4). O escore é obtido a partir de uma equação matemática ($PASI = 0.1x (E_C + I_C + D_C) + 0.2x (E_{MS} + I_{MS} + D_{MS}) + 0.3x (E_T + I_T + D_T) + 0.4x (E_{MI} + I_{MI} + D_{MI})$). (Anexo 2)

O DLQI foi desenvolvido por Finlay e Khan em 1994⁸⁶ e constitui o primeiro instrumento de avaliação de qualidade de vida relacionada especificamente à dermatologia. É composto de 10 itens que estimam a influência da doença quanto aos sintomas, atividades diárias, lazer, trabalho, escola, relações interpessoais e tratamento. Foi traduzido e validado para língua portuguesa.⁸⁷

Todos estes instrumentos são de uso habitual do ambulatório, consagrados em literatura internacional e nacional, além de estarem validados no Brasil.^{2,26} A interpretação segue as orientações do Consenso Brasileiro de Psoríase, conforme regra de Finlay: BSA > 10 e/ou PASI > 10 e/ou DLQI > 10; configuram doença grave.^{26,71,88}

4.7.3. ARTRITE PSORIÁSICA:

A artrite psoriásica foi definida pelos critérios de CASPAR (Anexo 1).⁶⁸ Tais informações foram extraídas do prontuário eletrônico. Como rotina do ambulatório de

psoríase, tendo em vista a relevância da artrite psoriática no espectro da doença psoriásica, os pacientes são questionados ativamente quanto à presença de dor e edema articular (sim/não), rigidez matinal (sim/não), limitação funcional (sim/não), presença atual ou história prévia de dactilite (sim/não), além de queixa de dor lombar (sim/não). Havendo dor lombar, é analisado período de ocorrência (manhã/noite), se acordava o paciente durante o sono (sim/não) e fator de alívio (repouso/exercício).

Novamente, como parte integrante do atendimento ao paciente com doença psoriática, o exame clínico das articulações, enteses e esqueleto axial, além do exame ativo das unhas em busca de alterações compatíveis com psoríase ungueal (acometimento de matriz ungueal resulta em alterações da placa ungueal, tais como depressões cupuliformes, também chamadas de *pittings*, leuconíquia e manchas avermelhadas na lúnula; acometimento do leito ocasiona onicólise, manchas de óleo ou manchas salmão, discromias, hemorragias em estilhas e hiperqueratose do leito ungueal),^{2,89} é realizado durante a consulta de acompanhamento dos pacientes do ambulatório, registrando os dados no prontuário.

Para todos os 30 pacientes foi aplicado questionário de artrite psoriásica chamado de *Psoriasis Epidemiology Screening Tool* (PEST). Trata-se de um instrumento de rastreamento da artrite psoriásica, desenvolvido pelo Dr. Philip Helliwell, validado em 2009 na língua inglesa, de amplo conhecimento, validado para o português. O PEST é composto por 5 questões de repostas simples (sim ou não), sendo considerado o *screening* positivo quando positivas ao menos 3 das cinco questões.^{90,91}

A gravidade da doença articular foi acessada pelos escores de atividade: DAPSA e BASDAI, quando pertinente.⁷⁸ Todos os pacientes portadores de doença psoriásica foram também avaliados pelo mesmo médico reumatologista previamente citado. De forma complementar ao exame clínico realizado pelo médico reumatologista, foi realizado ultrassonografia de articulações, enteses e aparelhos ungueais, contribuindo para definição ou não de artrite psoriática no momento da inclusão do paciente no estudo. É pertinente destacar que o médico reumatologista tem vasta experiência no campo do ultrassom reumatológico e ele realizou todos os exames de ultrassom. Todos os pacientes foram analisados no mesmo aparelho, somente pelo médico reumatologista previamente citado.

4.7.4. COMORBIDADES:

A obesidade foi definida por IMC acima de 30, conforme classificação vigente da Organização Mundial de Saúde (OMS);⁹² SM (Anexo 5), HAS e DLP seguindo diretrizes publicadas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC);⁹³⁻⁹⁵ esteatose hepática por método de avaliação por imagem (ultrassom, tomografia computadorizada ou ressonância magnética).⁹⁶

Interessam ao estudo e ao portador de psoríase, a cardiopatia isquêmica. Esta foi identificada no paciente levando em conta informações a respeito de história clínica, medicações de uso contínuo, relatório do médico que o acompanha do ponto de vista cardiológico, além de achados de exames complementares, registrados em prontuário.

4.7.5. PROVAS INFLAMATÓRIAS:

A coleta de sangue periférico para dosagem da concentração plasmática das citocinas foi realizada apenas no grupo de casos (análise intra-grupo, com pacientes portadores de doença psoriásica). Não foi coletado exame de sangue dos controles. Foram avaliadas VHS (1ª hora, em milímetros) e PCR (em miligramas por decilitro). Ambas as provas inflamatórias foram analisadas de forma quantitativa contínua. Foi coletado 10 mililitros de sangue periférico venoso enfermaria do Hospital Santa Teresa (ambiente no qual são realizadas as coletas de sangue periférico dos pacientes atendidos em nosso hospital, internados ou em atendimento ambulatorial, em dias de consulta médica de rotina/seguimento a serem agendadas; independentes da participação ao não do indivíduo na pesquisa, o seguimento médico se mantém). O transporte das amostras para o laboratório de análises foi de responsabilidade do médico pesquisador. Todas as amostras foram processadas no mesmo laboratório.

4.8. MÉTODOS DE PROCESSAMENTO DE DADOS:

As variáveis foram organizadas em banco de dados digital utilizando o software Excel 2011 (*Microsoft® Excel® for Mac 2011 / Version: 14.2.0*) e posteriormente analisadas por meio de *software* estatístico SPSS, versão 20.0 (*Statistical Package for the Social Sciences, Version 20.0, [Computer program]*. Chicago: SPSS Inc. 2009). As variáveis qualitativas foram apresentadas em frequências absolutas e relativas e as quantitativas em medidas de tendência central (média ou mediana) e suas respectivas medidas de variabilidade/dispersão (Amplitude [máximo e mínimo] e desvio padrão).

Os pressupostos de normalidade foram verificados através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para as comparações intra-grupo (pacientes portadores de doença psoriásica com e sem artrite psoriásica); e entre casos e controles foi utilizado o teste do Qui-Quadrado ou Exato de Fischer para variáveis categóricas. A medida de associação foi representada pelo *Odds Ratio* (OR) e o Intervalo de Confiança (IC95%). Foram apresentados o valor de p no nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e Intervalo de Confiança (IC95%).

Análises próprias ao estudo do sequenciamento genético das amostras foram realizadas: análises de alfa e beta diversidade. Alfa-diversidade avalia a diversidade e a abundância de microrganismos em determinadas amostra, de forma intra-amostral. Para tanto, alguns índices de diversidade são realizados (Chao1: estima a riqueza da amostra, buscando calcular a quantidade de espécies esperadas para as amostras; Shannon: avalia o quão diferente são as amostras, baseando-se na distribuição homogênea dos microrganismos que compõem as amostras, considerando, portanto, a uniformidade de distribuição dos microrganismos; Simpson: é a medida de diversidade que estima a dominância dos microrganismos presentes na amostra). Já às análises de Beta-diversidade resultam em métricas de distância, informando quão diferente uma amostra é de outra. Assim, é possível avaliar a dissimilaridade das amostras com base em seu perfil microbiológico. São estratégias para o cálculo das matrizes: Bray-Curtis: leva em conta a abundância dos microrganismos encontrados nas amostras e suas proporções para um resultado com inferências quantitativas; Weighted Unifrac: método baseado nas informações filogenéticas que compõe cada amostra, onde as diferenças têm peso conforme a abundância relativa de cada microrganismo, permitindo que se acesse a distribuição juntamente com a composição microbiana daquelas amostras.

As análises foram realizadas no R (v. 4.2.0), utilizando pacotes *tidyverse* (v. 1.3.1) e *phyloseq* (v. 1.40.0). Análises de alfa- e beta-diversidade empregaram índice de Shannon e dissimilaridade de Bray-Curtis, respectivamente. Análise de abundância diferencial empregou os pacotes *MicrobiomeStat* (v. 1.1), *corncob* (v. 0.2.0) e *DESeq2* (v. 1.36.0), focando nos níveis taxonômicos filo, família, gênero, espécie e "lowest" (classificação mais detalhada possível para cada sequência). Valores-P foram ajustados para controle de FDR em 5% usando procedimento de Benjamini-Hochberg. Descrição dos perfis microbianos globais foi realizada por meio de

heatmap com linhas ordenadas, de cima para baixo, de acordo com abundância relativa média (maior abundância no topo, top 20 taxonomias).

Dada a heterogeneidade de métodos para abundância diferencial, três ferramentas foram empregadas (LinDA, corncob e DESeq2) e o consenso foi considerado.

4.9. ASPECTOS ÉTICOS:

Esta pesquisa está consoante a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e envolveu coleta de dados de prontuários eletrônicos de pacientes atendidos e acompanhados no ambulatório, além da realização do sequenciamento de DNA microbiano, a partir de exame de fezes.

O projeto de pesquisa foi submetido à análise do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria de Estado de Saúde de Santa Catarina (CEP-SES/SC), via Plataforma Brasil de Pesquisa, e foi aprovado em 30 de julho de 2021. CAAE: 33498620.6.0000.0115.

A coleta de dados iniciou somente após aprovação do CEP-SES/SC.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1 e 2) foi oferecido ao paciente em ambiente de consultório, estando presentes o médico pesquisador, paciente e acompanhante do paciente, se este fosse o caso. O convite a pesquisa foi realizado após terminada consulta médica. A leitura do TCLE foi feita pelo médico, ao paciente. O paciente levou cópia do TCLE para leitura em domicílio, tendo este um tempo de no mínimo 7 dias para decisão da participação na pesquisa. Pacientes somente estavam aptos a participarem do estudo caso estivessem de acordo e assinassem o termo. A participação dos controles também foi condicionada a sua livre aceitação e assinatura do TCLE.

Em qualquer etapa do estudo os pacientes tiveram acesso ao pesquisador responsável: Gustavo Moreira Amorim através do telefone fixo 48 33783309 ou 33783311, celular: 48 999827097; e email: gustavomoreiraamorim@hotmail.com. Se o paciente tivesse alguma consideração ou dúvida, era possível também entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Secretaria do Estado de Saúde de Santa Catarina, rua Esteves Júnior, 106, Centro, Florianópolis, caixa postal: 88015-130; telefone(s): 48 36647218 / 3663 7242; email: cepses@saude.gov.br.

A pesquisa teve autorização, assinada e datada, do guardião dos prontuários na instituição onde foi realizado o estudo (HST/SES-SC).

O pesquisador teve compromisso com a privacidade e a confidencialidade dos dados coletados, preservando integralmente o anonimato dos pacientes. Os dados obtidos foram utilizados para o projeto ao qual se vinculam e serão posteriormente publicados em periódicos científicos. A devolutiva dos dados dos exames complementares propostos e os resultados da pesquisa será realizada durante as consultas ambulatoriais de seguimento dos pacientes (tanto casos quanto controles). Os dados serão guardados por um período de cinco anos e posteriormente devidamente descartados.

Todos os pesquisadores envolvidos declararam ausência de conflito de interesse no presente estudo.

Os benefícios são indiretos ao portador de psoríase, tendo em vista um potencial melhor cuidado com o melhor entendimento de sua doença. Já os riscos são mínimos e envolvem o anonimato do paciente participante ou algum desconforto com relação à coleta de sangue periférico e à coleta e manipulação de suas próprias fezes durante a amostragem. O compromisso com a privacidade e confiabilidade dos dados já se encontram descritos. Quanto à coleta de sangue, qualquer tipo de complicação seria atendida e tratada pelo médico pesquisador responsável. Não houve qualquer intercorrência.

5. RESULTADOS

De um universo de cerca de 250 pacientes recorrentes no Ambulatório de Psoríase Grave, foram selecionados, a partir dos critérios de inclusão e exclusão previamente citados na metodologia, 30 indivíduos (casos) portadores de psoríase vulgar grave, conforme métrica estabelecida (regra dos 10).⁸⁸ Na sequência, conforme expresso no método, foram selecionados 30 indivíduos sem psoríase, como grupo controle. A Tabela 1 apresenta a amostra quanto seu pareamento e comparabilidade.

Tabela 1: Aspectos clínico-epidemiológicos de Casos x Controles:

	Casos: (n=30)	Controles: (n=30)	p
Gênero:			
- Feminino (frequência absoluta e percentual):	15 (50%)	15 (50%)	
Idade Média (anos) + Desvio Padrão:	48.3 (±12.4)	47.9 (±11.7)	0.172
Intervalo	28 – 76	24 - 79	
Comorbidades:	24 (80%)	22 (73.3%)	0.552
- Sim (frequência absoluta e percentual):			
IMC médio (kg/m²) + Desvio Padrão:	29.93 (±5.65)	27.10 (±4.33)	0.226

IMC = Índice de Massa Corpórea

Fonte: Elaboração dos autores, 2022

Dentre os 30 casos, de forma intencional, a amostra apresentou distribuição igualitária entre os gêneros: 15 do sexo masculino e 15 do sexo feminino. A idade média foi de 48.3 anos (Mediana: 49, Moda 46, Amplitude 48: mínimo 28 e máximo 76 anos; Desvio Padrão: 12.04), com tempo médio de evolução de doença 14.7 anos (Mediana: 12, Moda: 20, Amplitude 49: mínimo 1 e máximo 50 anos; Desvio Padrão: 11.54). Vinte e quatro dos 30 pacientes apresentavam comorbidades. O IMC médio da amostra foi de 29.93 (Mediana: 29.9, Moda: 26, Amplitude 24: mínimo 18.6 e máximo 42.6 anos; Desvio Padrão: 5.65).

Houve equivalência entre os gêneros também no grupo controle. A idade Média foi de 47.9 anos (Mediana: 48.5, Moda 54, Amplitude 55: mínimo 24 e

máximo 79 anos; Desvio Padrão: 14.47) e o IMC médio foi de 27.10 (Mediana: 27.5, Moda 21.6, Amplitude 17.9: mínimo 19.1 e máximo 37.0; Desvio Padrão: 4.33).

Vinte e dois dos 30 indivíduos controle apresentavam comorbidades conhecidas.

5.1. PERFIL CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO DA AMOSTRA (CASOS):

O perfil clínico epidemiológico do grupo de casos é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Perfil clínico epidemiológico laboratorial do grupo casos:

Casos (n= 30)	Casos (n= 30)	Pso (n=15)	APso (n=15)	p
Gênero:				
- Feminino (frequência absoluta e percentual):	15 (50%)	9/15 (60%)	6/15 (40%)	
Idade Média (anos) + Desvio Padrão:	48.3 (±12.4)	47.93 (±13.91)	48.67 (±10.34)	0.871
Tempo médio de evolução da doença (anos):	14.7 (±11.54)	13.60 (±8.29)	15.87 (±14.29)	0.600
BSA médio:	24%	22.9%	24.9%	0.789
- Min and Max:	6 – 76%	6 – 74%	6 – 76%	
PASI médio:	17.08	15.88	18.28	0.387
- Min and Max:	5.4 – 38.8	7.4 - 23	5.4 – 38.8	
DLQI (n=4):*	16 18 20 24	18 24	16 20	
Pso:α				
- Couro Cabeludo	30	15 (100%)	15 (100%)	>0.05
- Ungueal	13	6/15 (40%)	7/15 (46.7%)	
- Invertida (flexural)	19	11/15 (73.3%)	8/15 (53.3%)	
Comorbidades:	24 (80%)	12/15 (80%)	12/15 (80%)	1.0
- Sim (frequência absoluta e percentual):				
IMC médio (kg/m²) + Desvio Padrão:	29.93 (±5.65)	32.85 (±4.76)	27.02 (±5.04)	0.003
Apso (frequência absoluta e percentual):∞			15 (50%)	
- Periférica			7 (46.66%)	
- Entesite/Dactilite			12 (80%)	
- Axial			5 (33.33%)	
DAPSA médio (n=15):			23.11	
- Remissão:			1/15	
- Baixa Atividade:			3/15	
- Atividade Moderada:			6/15	
- Alta Atividade			5/15	

DAPSA médio (n=15):				23.11
- Remissão:				1/15
- Baixa Atividade:				3/15
- Atividade Moderada:				6/15
- Alta Atividade				5/15
Obesidade	15 (50%)	11/15 (73.3%)	4/15 (26.7%)	<0.001
- Grau I	11 (73.33%)			
- Grau II	2 (13.33%)			
- Grau III	2 (13.33%)			
Síndrome Metabólica	14 (46.66%)	7/15 (46.7%)	7/15 (46.7%)	1.0
Hipertensão Arterial	12 (40%)	6/15 (40%)	6/15 (40%)	1.0
Diabetes	4 (13.33%)	2/15 (13.3%)	2/15 (13.3%)	1.0
Dislipidemia	13 (43.44%)	5/15 (33.3%)	8/15 (53.3%)	<0.001
Esteatose Hepática:	15 (50%)	7/15 (46.7%)	8/15 (53.3%)	0.876
- Leve	7 (46.66%)			
- Moderada	8 (53.33%)			
- Grave	0			
Tabagismo:	9 (30%)	3/15 (20%)	6/15 (40%)	<0.001
Sedentarismo	20 (66.66%)	11/15 (73.3%)	9/15 (60%)	0.466
PEST (screening positivo para APso):	14 (46.66%)	3/15 (20%)	11/15 (73.3%)	<0.001
VHS médio (mm 1H):	21.4	20.7	21.87	0.875
PCR médio (mg/dL):	3.72	2.77	4.67	0.476

Pso = Psoríase. APso = Artrite Psoriásica. BSA = Área de superfície corporal acometida, do inglês, *Body Surface Area*. PASI: Índice de gravidade e área acometida em psoríase, do inglês, *Psoriasis Area and Severity Index*. DLQI = Índice de qualidade de vida em dermatologia, do inglês, *Dermatology Life Quality Index*. IMC = Índice de Massa Corpórea. DAPSA = Do inglês, *Disease Activity in Psoriatic Arthritis Score*. BASDAI = Do inglês, *Bath Ankylosing Spondylitis Activity Index*. PEST = Do inglês, *Psoriasis Epidemiology Screening Tool*. VHS = Velocidade de Hemossedimentação. PCR = Proteína C reativa.

* Estes com BSA e PASI < 10 tinham DLQI > 10

α Todos os pacientes apresentavam psoríase em placas, apresentando, em conjunto, acometimento dos ditos sítios especiais, classicamente relacionados ao risco de doença articular: couro cabeludo, ungueal e regiões flexurais

∞ Quanto à artrite, os padrões clínicos se sobrepõem, podendo o mesmo paciente apresentar padrão periférico, além de comprometimento axial, por exemplo.

Fonte: Elaboração dos autores, 2022.

O grupo casos foi composto de pacientes com um tempo médio de evolução de doença de 14.7 anos, não havendo diferença entre os subgrupos com e sem artrite. Em relação aos parâmetros médios de gravidade da psoríase vulgar, verificou-se um BSA médio 24% (intervalo 6% - 76%); PASI médio 17.08 (intervalo 5.4* - 38.8). Todos

estes pacientes com BSA e PASI < 10 puderam ser incluídos na amostra pois tinham grave prejuízo da qualidade de vida, demonstrado objetivamente por um escore DLQI > 10 (16 – 24/30 possíveis no DLQI) Houve uma maior média de BSA e PASI entre pacientes portadores de artrite, entretanto não houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 2). O acometimento dos ditos sítios especiais também não se relacionou com a presença de doença articular.

Entre os 30 pacientes do grupo casos, 15 tinham Artrite Psoriática (confirmada por Critérios de CASPAR,⁵⁶ além de exame clínico reumatológico e exames de imagem, conforme critérios de inclusão). Estes 15, aqueles com doença periférica tiveram DAPSA médio de 23.11 [estratificados: 1 paciente remissão (0 – 4), 3 baixa atividade (5 a 14), 6 atividade moderada (15 – 28) e 5 alta atividade (> 28)]. Já os 5 pacientes com Artrite Psoriática com acometimento axial tiveram BASDAI médio 4.98.

Demonstrou-se diferença entre o IMC médio (32.85 x 27.01; $p = 0,003$), Obesidade (73.3% x 27.6%, $p < 0,001$), Dislipidemia (33.3% x 53.3%; $p < 0,001$) e Tabagismo (20% x 40%; $p < 0,001$), quando comparados pacientes com e sem artrite psoriática. De forma inesperada, IMC aumentado e Obesidade se comportaram como fatores protetores, enquanto dislipidemia e tabagismo como fatores de risco (associados) para Artrite Psoriática. Houve diferença no PEST entre pacientes portadores de artrite quando comparados com pacientes sem acometimento articular (20% x 73.3%; $p < 0,001$). Entre os portadores de Artrite, 11/15 tinham ferramenta de *screening* positiva (PEST maior ou igual à 3). Cabe destacar todos com *screening* clínico negativo tiveram ultrassom evidenciando entesite, mostrando a importância do método para pacientes com doença em estágio inicial. Entre pacientes com Artrite, o VHS médio foi de 21.87 (21.07 sem Artrite) e PCR médio 4.67 (2.77 sem Artrite; diferença média de 1.907, porém com $p 0,504$ e IC95% - 3,03 e + 7,49); nesta amostra, portanto, houve pouca influência diagnóstica das provas inflamatórias séricas (Tabela 2).

Foto 16:



Legenda: Paciente 6. Masculino, 50 anos; 14 anos de evolução da doença. BSA 14%. PASI: 11.8. Sem doença articular associada.

Retornando ao perfil clínico epidemiológico do grupo casos, apenas 6/30 pacientes não tinham nenhuma comorbidade diagnosticada. O IMC médio da amostra foi de 29.93 (Mediana: 29.9, Moda: 26, Amplitude 24: mínimo 18.6 e máximo 42.6 anos; Desvio Padrão: 5.65); estratificados: 6 eutróficos (18.5 – 24.9), 8 em sobrepeso (25.0 – 29.9), 11 em obesidade grau I (30 – 34.9), 2 grau II (35.0 – 39.9) e 2 grau III (≥ 40.0). Portanto, 15/30 estavam obesos, 14/30 com síndrome metabólica, 12/30 hipertensos, 4/30 diabéticos, 13/30 dislipidêmicos, 15/30 com esteatose hepática (7 classificados como esteatose leve e 8 moderada), 1/30 cardiopata, 9/30 tabagistas e 20/30 sedentários. Verificou-se entre os 30 pacientes portadores de doença psoriásica, um VHS médio 21.4 milímetros na primeira hora e PCR médio 3,72 mg/DL (Tabela 1).

Foto 17:



Legenda: Paciente 24. Masculino, 28 anos; 8 anos de evolução. BSA 16%. PASI 13.1. Com artrite psoriásica associada; periférica, manifesta por entesite de calcâneo e dactilite (mãos e pés)

Foto 18:

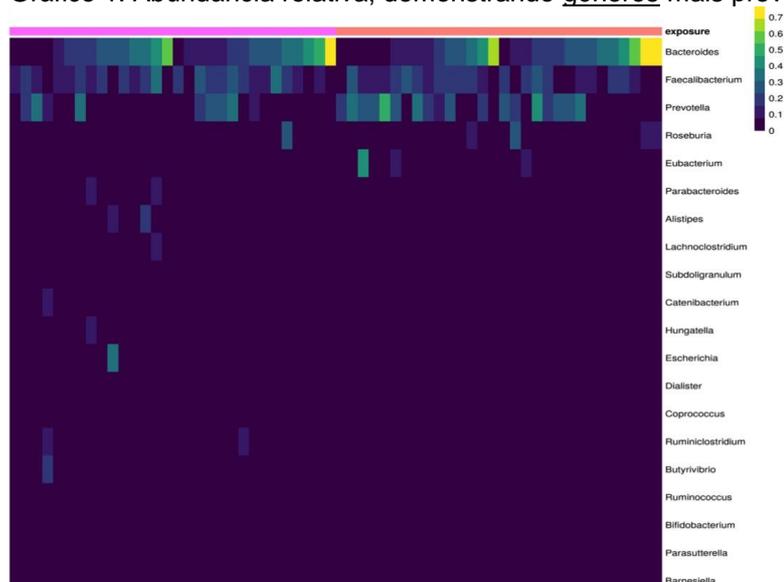


Legenda: Paciente 19. Feminina, 46 anos; 12 anos de evolução. BSA 22%. PASI 18.6. Com artrite psoriásica associada, periférica (entesite e sinovite, dedos das mãos) e axial (sacroileíte).

5.2. RESULTADOS DO MICROBIOMA INTESTINAL:

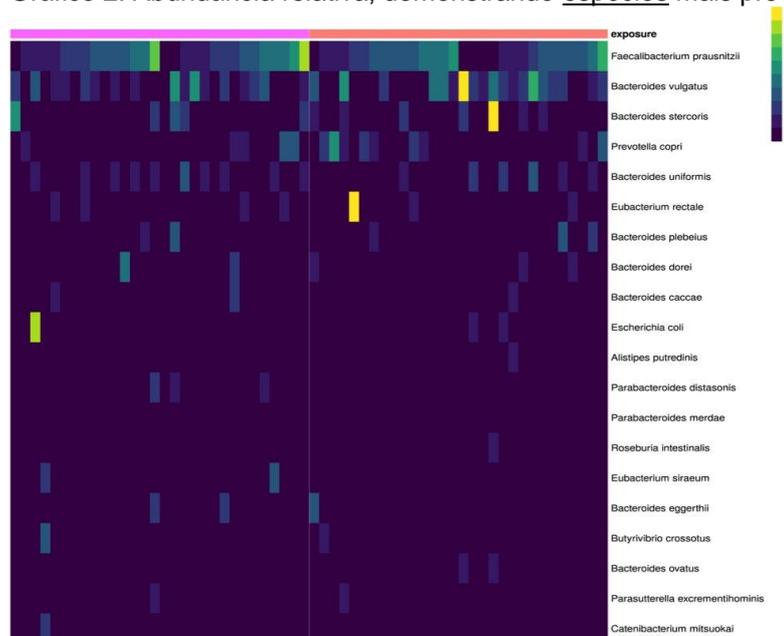
Foi analisado o microbioma intestinal de todos os 60 indivíduos incluídos no estudo.

Em relação à abundância relativa, de acordo com a classificação taxonômica, foram encontrados, em ordem hierárquica decrescente: 1. Nível de filós: foram predominantes os filós *Firmicutes* e *Bacteroidetes* em ambos os grupos; verificou-se uma maior representatividade de *Proteobacterias* e *Fusobacterias* entre os pacientes com doença psoriásica; 2. Famílias: foram predominantes as famílias *Bacteroidaceae*, *Ocillospiraceae*, *Prevotellaceae*, *Lacnospiraceae* em ambos os grupos; nos pacientes portadores de psoríase, houve predomínio também de *Eubacteriaceae* e *Succinivibrionaceae*; em contrapartida, houve uma maior representatividade de *Enterobacteriaceae* em controles sem psoríase; 3. Gêneros: verificou-se um maior número de gêneros diferentes entre os pacientes sem psoríase (grupo controle); há um nítido predomínio, em ambos os grupos (casos e controles) de *Bacterioides*, *Faecalibacterium* e *Prevotella*; no grupo com DP, houve uma presença maior do gênero *Eubacterium*; entre os não doentes, *Alystipes*, *Escherichia* e *Butyviridio* (Gráfico 1); 4. Espécies: verificou-se um predomínio das espécies *Faecalibacterium Prausnitzii*, *Prevotella copri*, *Bacterioides uniformis*, *Bacterioides vulgatus*, *Bacterioides stercoris* e *Eubacterium retale*, sendo as 3 últimas mais prevalentes nos pacientes. A abundância relativa é apresentada em gráficos de padrão *heatmap*, com linhas ordenadas, de cima para baixo, de acordo com a média de *reads*. Optou-se por apresentar em gráficos apenas Gêneros (Gráfico 1) e Espécies (Gráfico 2).

Gráfico 1: Abundância relativa, demonstrando gêneros mais prevalentes:

Sem Psoríase (faixa: rosa) / Psoríase (faixa: vermelha)

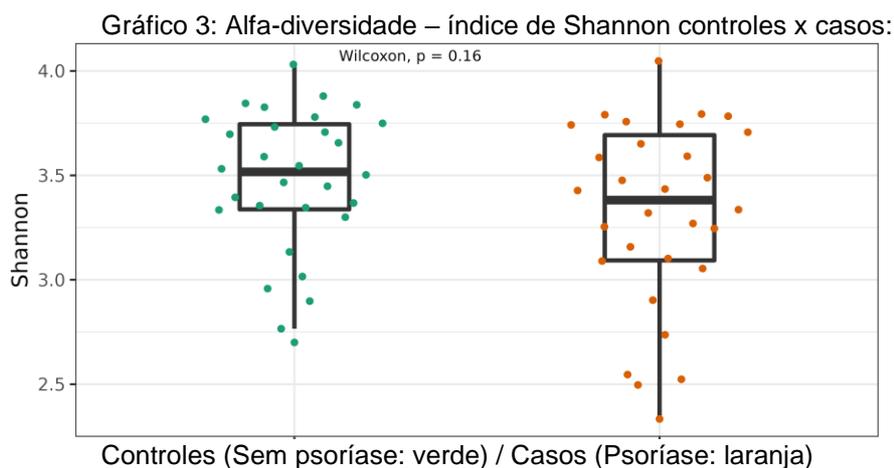
A Barra lateral, referente a gradação de cores se refere à magnitude de leitura (amarelo: máximo / roxo: mínimo).

Gráfico 2: Abundância relativa, demonstrando espécies mais prevalentes:

Sem Psoríase (faixa: rosa) / Psoríase (faixa: vermelha).

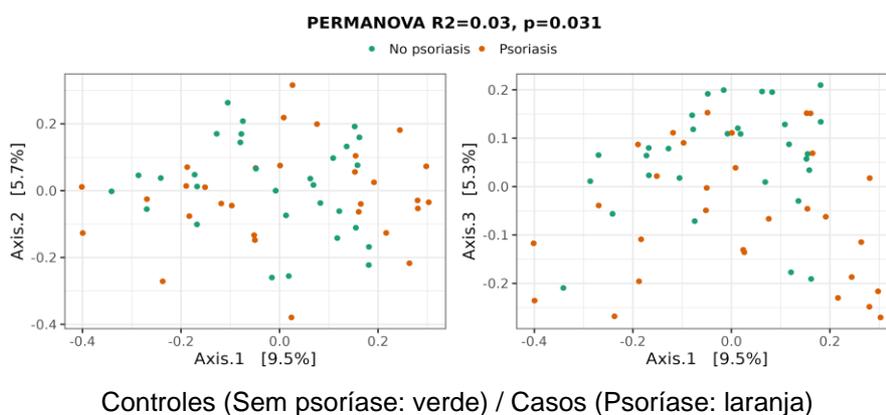
A Barra lateral, referente a gradação de cores se refere a magnitude de leitura (amarelo: máximo / roxo: mínimo).

A diversidade alfa, de forma sumária, representa a quantidade de diferentes espécies em uma determinada amostra. Quanto mais diverso, mais resiliente e saudável seria o microbioma.⁸ Apesar de uma mediana maior no índice de Shannon entre os indivíduos não expostos (3.5 x 3.35), não houve diferença estatisticamente significativa em relação à alfa-diversidade ($p = 0.16$). (Gráfico 3)

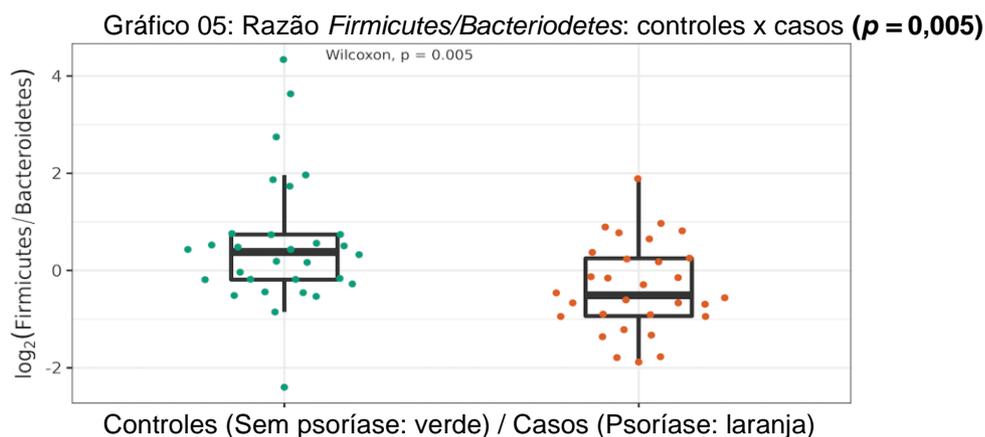


Em relação à diversidade beta, demonstrou-se, por meio do Índice de dissimilaridade de Bray-Curtis, diferença estatisticamente significativa, da composição do microbioma intestinal no grupo psoríase quando comparados aos controles; $p = 0.031$ (Gráfico 4).

Gráfico 4: Beta-diversidade – índice de dissimilaridade de Bray-Curtis; casos x controles:



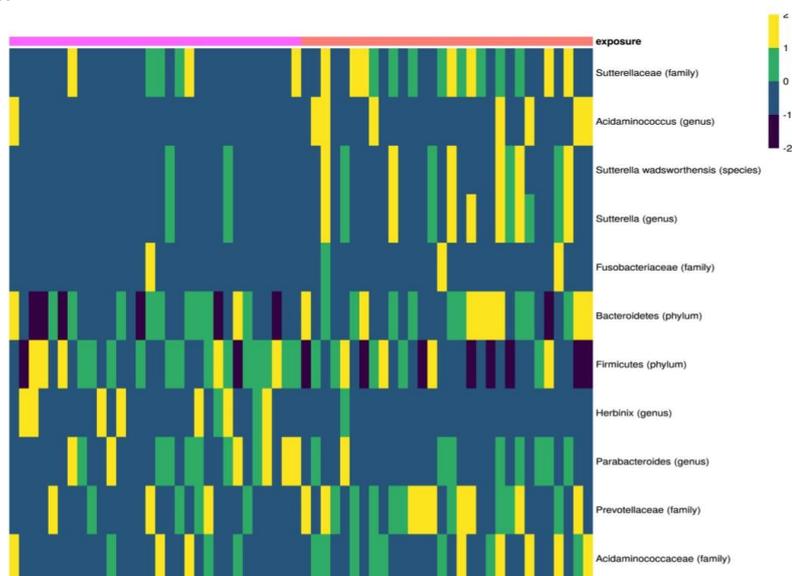
Por fim, analisou-se a abundância diferencial e esta é apresentada segundo níveis hierárquicos taxonômicos, em ordem decrescente; comparando expostos e não expostos. Nesta primeira análise, o ajuste se fez para cada nível taxonômico, mas não necessariamente ao longo de todos os níveis taxonômicos. Houve predomínio do filo *Bacteroidetes* no grupo casos ($p = 0.03$). Em contrapartida, predominou no grupo controle o filo *Firmicutes* ($p = 0.03$). Houve diferença de significância estatística entre a razão *Firmicutes/Bacteroidetes*, com maior razão média entre os controles ($p = 0.005$) (Gráfico 5).



Progredindo para o nível família, foram mais prevalentes entre os pacientes com psoríase as famílias *Acidaminococcaceae*, *Fusobacteriaceae*, *Prevotellaceae* e *Sutterelaceae*, sendo estas diferenças estatisticamente significantes ($p = 0.05$; $= 0.02$; $= 0.04$; e $= 0.001$; respectivamente). Entre os gêneros mais prevalentes nos pacientes com psoríase, destacaram-se *Acidaminococcus* e *Sutterella*, com as diferenças demonstrando p valor significativo. ($p = 0.007$ e $= 0.01$, respectivamente). Em contrapartida, neste nível houve também demonstração de dois gêneros mais prevalentes entre os controles: *Herbninix* ($p = 0.03$) e *Paracateroides* ($p = 0.03$). Por fim, finalizando a análise de abundância diferencial, a nível de espécie, foi detectada, com significância estatística, uma maior prevalência da espécie *Sutterella wadsworthensis* entre os pacientes, quando comparados aos controles ($p = 0.01$)

O Gráfico 6, em modelo *heatmap*, sumariza os achados relacionados a abundância diferencial não ajustada para comparação entre controles e casos (este, agregando filós, famílias, gêneros e espécies).

Gráfico 6: Abundância diferencial não ajustada (ou ajustada para cada nível taxonômico), demonstrando associações de diferença de prevalência entre controles e casos:



Sem Psoríase (faixa: rosa) / Psoríase (faixa: vermelha)

A Barra lateral, referente a gradação de cores se refere a magnitude de leitura (amarelo: máximo / roxo: mínimo).

Realizado o ajuste para múltiplas comparações da abundância diferencial, considerando todas as comparações de todos os níveis, manteve-se como significativa a identificação da maior presença da família *Sutterellaceae* ($p < 0.05$), gênero *Sutterella* ($p < 0.01$), espécie *Sutterella wadsworthensis* ($p < 0.05$) (Gráficos 7, 8 e 9). De forma a aumentar a confiabilidade e relevância do dado, destaca-se que para estes achados houve consenso entre três ferramentas estatísticas empregadas (LinDA, corncob e DESeq2).⁹⁷⁻⁹⁹

Gráfico 07: Abundância diferencial ajustada – família *Sutterellaceae* controles x casos ($p < 0,05$)

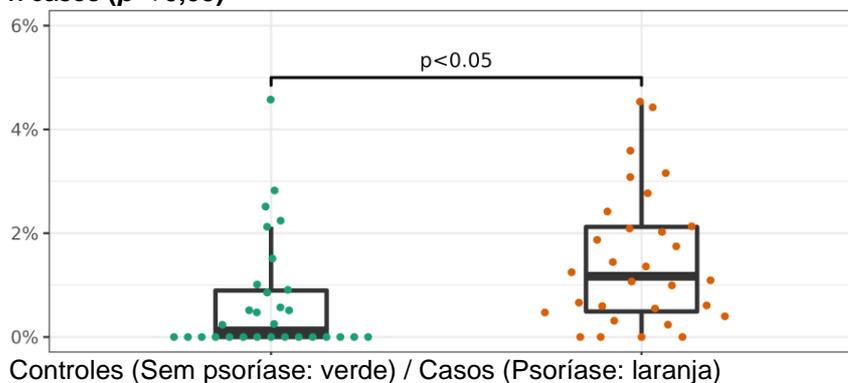


Gráfico 08: Abundância diferencial ajustada – gênero *Sutterella* controles x casos ($p < 0,01$)

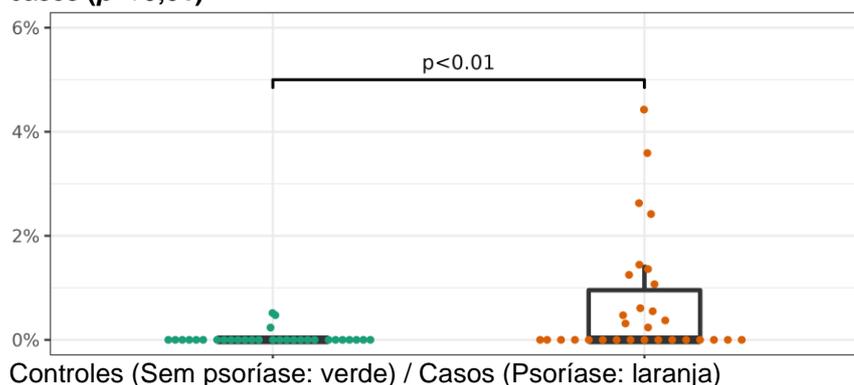
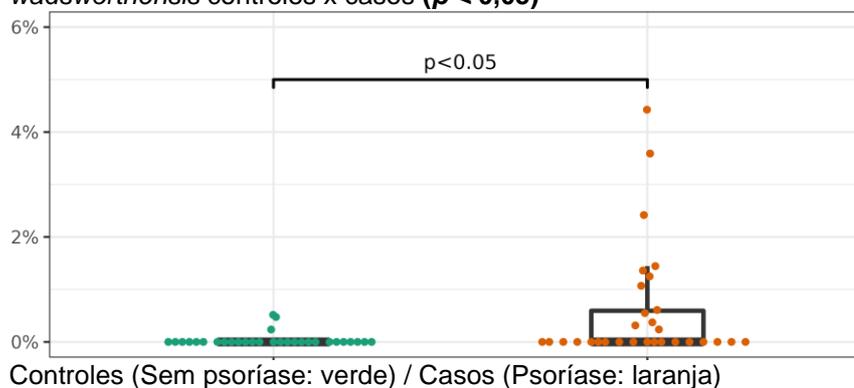


Gráfico 09: Abundância diferencial ajustada – espécie *Sutterella wadsworthensis* controles x casos ($p < 0,05$)

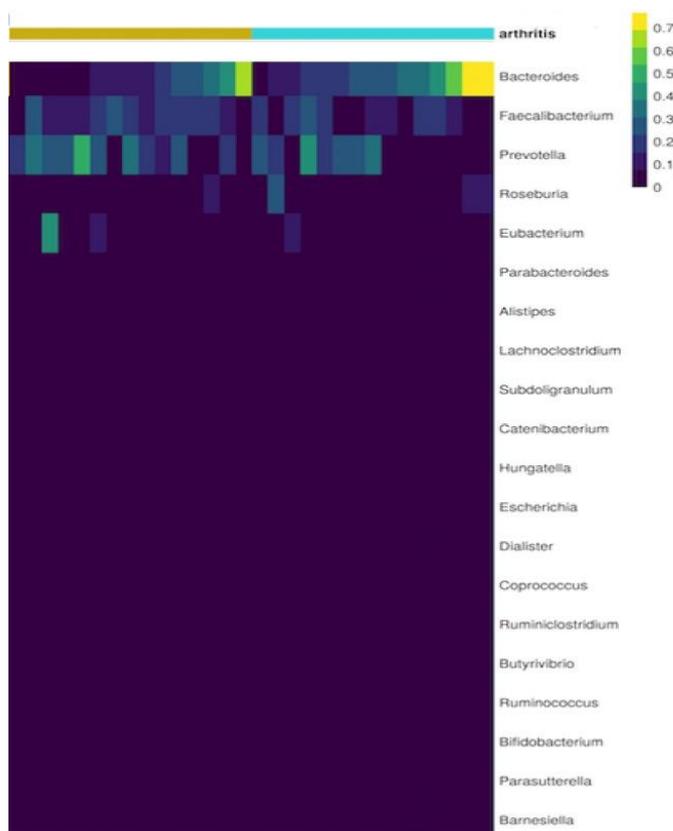


5.3. RESULTADOS DO MICROBIOMA INTESTINAL, COM PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE ARTRITE PSORIÁSICA:

Em relação à abundância relativa, de acordo com a classificação taxonômica, foram encontrados, em ordem hierárquica decrescente: 1. Nível de Filos: foram predominantes os filios *Firmicutes* e *Bacteroidetes* em ambos os grupos; verificou-se discreta maior representatividade de *Bacteroidetes* e *Proteobacterias* entre os pacientes com artrite psoriática; 2. Famílias: foram predominantes as famílias *Bacteroidaceae*, *Ocillospiraceae*, *Prevotellaceae*, em ambos os grupos; nos pacientes portadores de artrite, houve predomínio também de *Lacnospiraceae*; já entre os pacientes sem acometimento articular, houve discreto predomínio de *Eubacteriaceae* e *Bacillaceae*; 3. Gêneros: não houve diferença entre o número de gêneros diferentes mais comumente representados entre pacientes com e sem doença articular; há um predomínio dos gêneros *Bacteroides* e *Roseburia* em pacientes com artrite; já de *Faecalibacterium* e *Prevotella* entre portadores de psoríase, sem doença articular (Gráfico 10); 4. Espécies: verificou-se um predomínio de *Faecalibacterium*

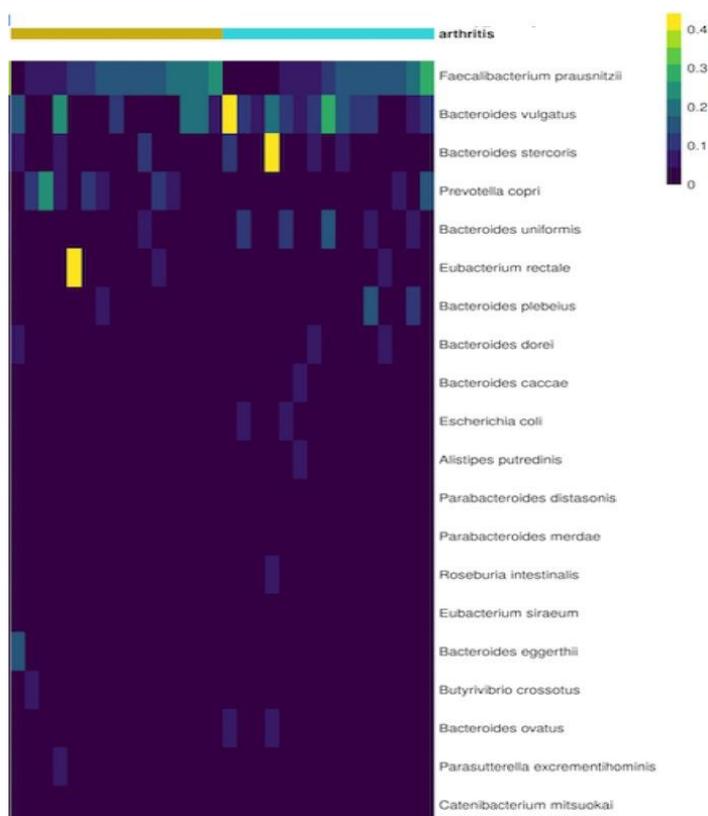
Prausnitzii em ambos os grupos; *Bacteroides vulgatus*, *stercoris*, *uniformis* e *plebeius* predominaram entre os pacientes com doença articular estabelecida; *Prevotella copri*, e *Eubacterium rectale* entre os pacientes com doença cutânea isolada (Gráfico 11). A abundância relativa é apresentada em gráficos de padrão *heatmap*, com linhas ordenadas, de cima para baixo, de acordo com a média de *reads*. Optou-se por apresentar em gráficos apenas Gêneros (Gráfico 10) e Espécies (Gráfico 11).

Gráfico 10: Abundância relativa, demonstrando gêneros mais prevalentes:



Sem artrite (faixa: amarela); Com artrite (faixa: azul)

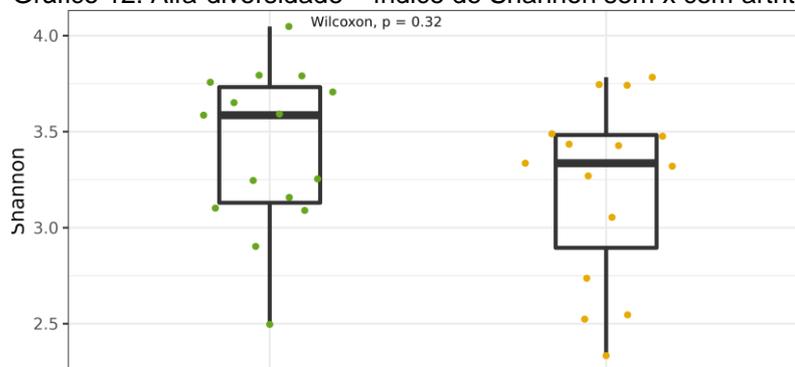
A Barra lateral, referente a gradação de cores se refere à magnitude de leitura (amarelo: máximo / roxo: mínimo).

Gráfico 11: Abundância relativa, demonstrando espécies mais prevalentes:

Sem artrite (faixa: amarela); Com artrite (faixa: azul)
A Barra lateral, referente a gradação de cores se refere à magnitude de leitura (amarelo: máximo / roxo: mínimo).

Apesar de aparentemente haver um microbioma intestinal menos diverso entre pacientes portadores de artrite (Gráfico 12; menor mediana entre expostos: 3.3 x 3.6), não houve diferença estatisticamente significativa (Índice de Shannon; $p = 0.32$).

Gráfico 12: Alfa-diversidade – índice de Shannon sem x com artrite:

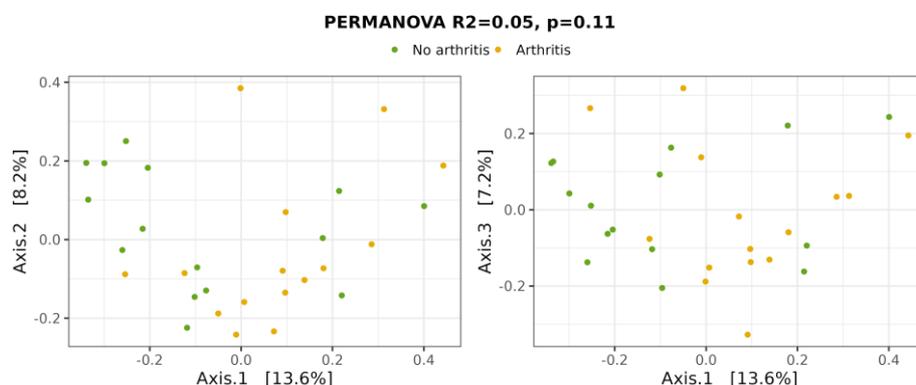


Sem artrite (verde); Com artrite (amarelo)

De forma semelhantes, não se documentou diferentes *clusters* de composição do microbioma intestinal em análise de diversidade beta (Índice de dissimilaridade de

Bray-Curtis) entre portadores e não portadores de artrite psoriásica; $p = 0.11$ (Gráfico 13).

Gráfico 13: Beta-diversidade – índice de dissimilaridade de Bray-Curtis; com x sem artrite:



Sem artrite (verde); Com artrite (amarelo)

Por fim, analisou-se a abundância diferencial e esta é apresentada segundo níveis hierárquicos taxonômicos, em ordem decrescente; comparando expostos e não expostos. O ajuste se fez para cada nível taxonômico, mas não necessariamente ao longo de todos os níveis taxonômicos. Houve predomínio do filo *Bacteroidetes* entre os pacientes portadores de Artrite, motivo pelo qual entre os expostos a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* foi menor neste grupo. Entretanto, esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0.11$) (Gráfico 14). Ainda em nível de filo, verificou-se predomínio do filo *Verrucomicrobia* entre portadores de doença articular ($p = 0.04$) (Gráfico 15).

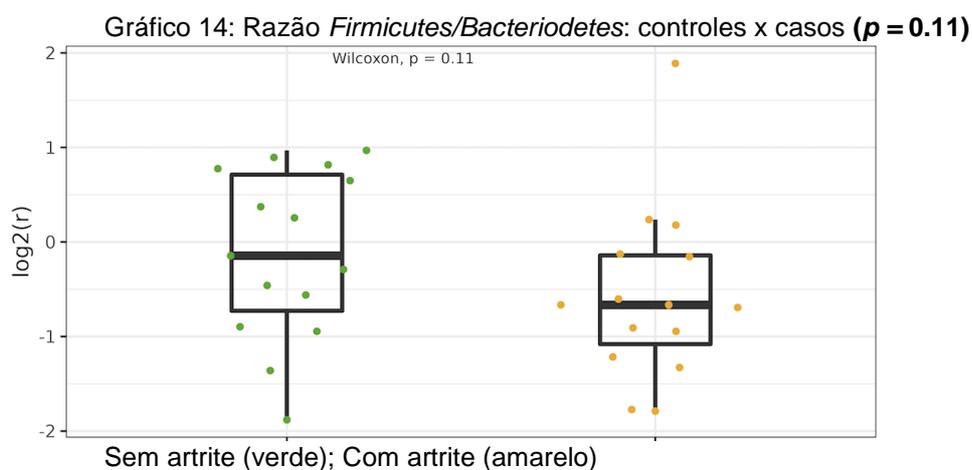
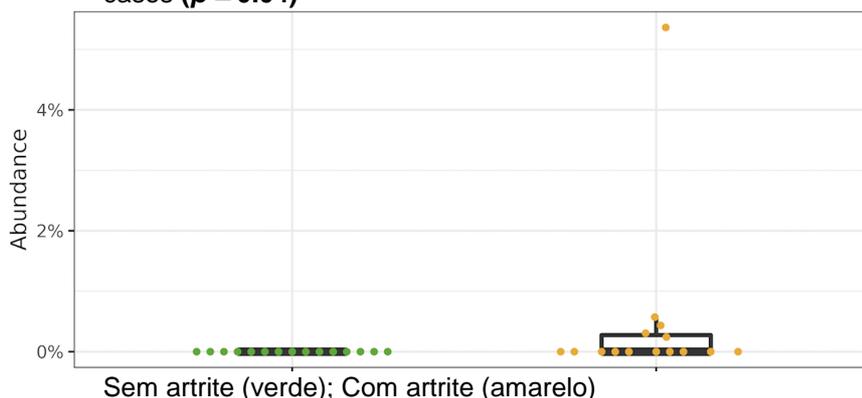


Gráfico 15: Abundância diferencial ajustada – filo *Verrucomicrobia* controles x casos ($p = 0.04$)



Progredindo para os níveis família, gênero e espécie, verificou-se como marca da análise de abundância diferencial ajustada para cada nível, a maior presença da família *Bacteroidacea* ($p = 0.02$), gênero *Bacterioides* ($p = 0.02$), além de espécie *Bacterioides uniformes* ($p = 0.03$) entre os pacientes portadores de artrite psoriática, quando comparados aos pacientes sem doença articular (Gráficos 16, 17 e 18).

Gráfico 16: Abundância diferencial ajustada – família *Bacteroidacea* controles x casos ($p = 0.02$)

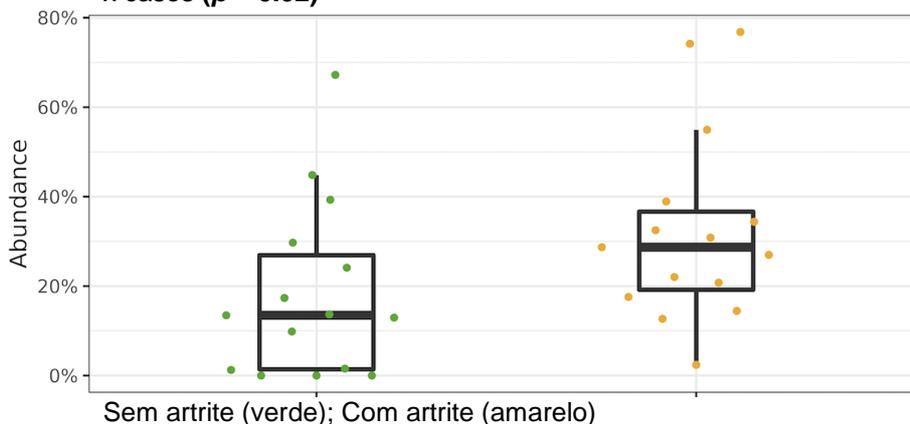


Gráfico 17: Abundância diferencial ajustada – gênero *Bacterioides* controles x casos ($p = 0.02$)

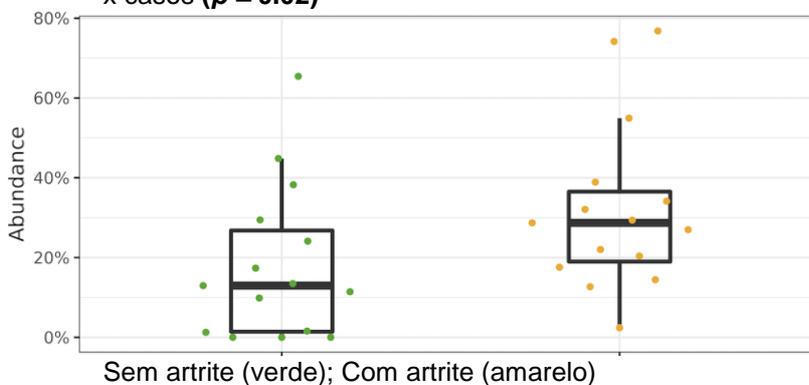
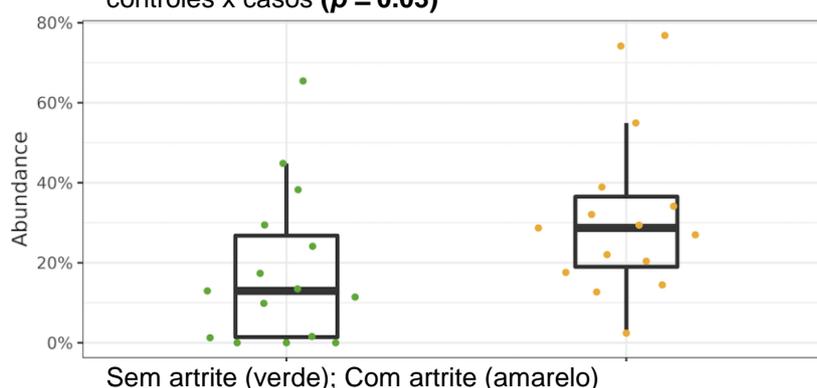
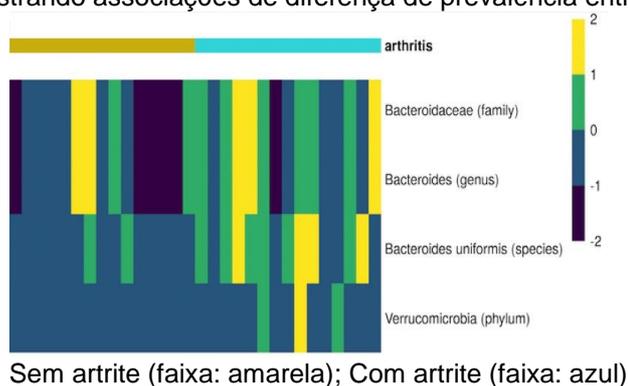


Gráfico 18: Abundância diferencial ajustada – espécie *Bacteroides uniformes* controles x casos ($p = 0.03$)



O Gráfico 19, em modelo *heatmap*, sumariza os achados relacionados a abundância diferencial ajustada por níveis hierárquicos para comparação entre expostos e não-expostos.

Gráfico 19: Abundância diferencial ajustada para cada nível taxonômico, demonstrando associações de diferença de prevalência entre controles e casos:



5.3 RESULTADOS DO MICROBIOMA INTESTINAL COM ENFOQUE NOS INDIVÍDUOS CONTROLE COM HISTÓRIA FAMILIAR DE PSORÍASE EM PARENTES DE PRIMEIRO GRAU:

De forma exploratória, comparamos dentro do grupo controle (30 indivíduos), 15 sem história familiar e 15 com história familiar de doença psoriásica em parentes de primeiro grau. Não houve diferença em alfa ($p = 0.65$) ou beta-diversidade ($p = 0.98$) entre os grupos (Gráficos 20 e 21).

Gráfico 20: Alfa-diversidade – Índice de Shannon sem x com história familiar de psoríase em parentes de 1º grau ($p = 0.65$):

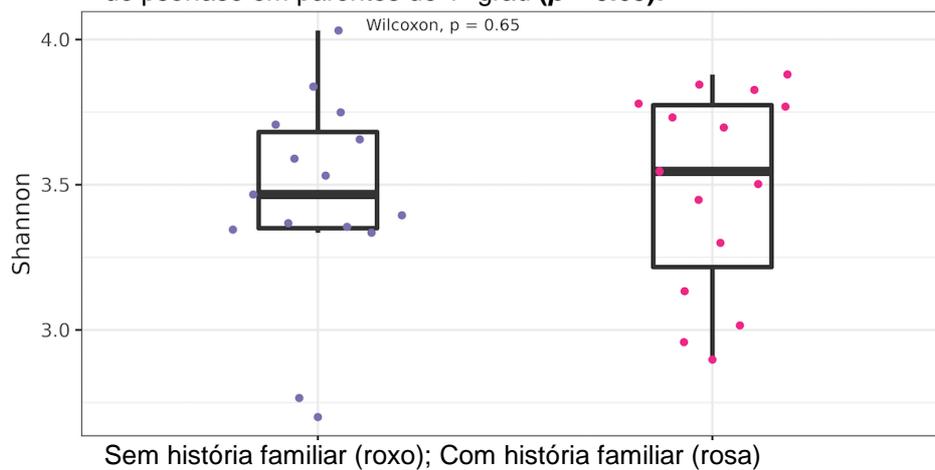
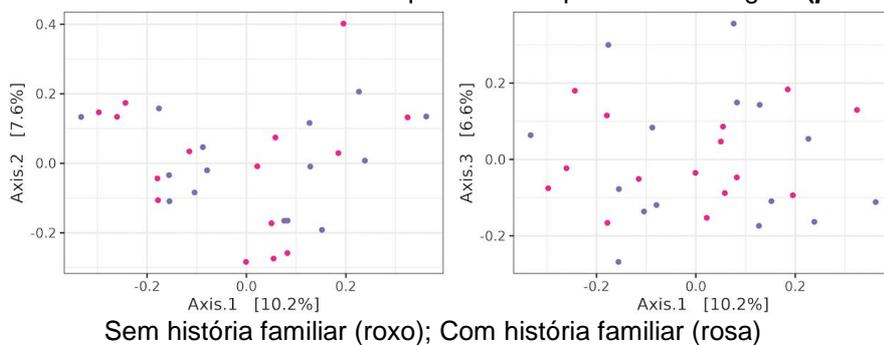


Gráfico 21: Beta-diversidade – Índice de dissimilaridade de Bray-Curtis, sem x com história familiar de psoríase em parentes de 1º grau ($p = 0.65$):



6 DISCUSSÃO:

Realizamos um estudo caso-controle com 60 pacientes (30 portadores de doença psoriásica grave e 30 indivíduos controle), moradores de zona urbana, procedentes da mesma unidade geográfica, buscando avaliar o microbioma intestinal, a partir do sequenciamento de DNA de alto rendimento do gene ribossomal 16S RNA, regiões V3/V4, extraído e amplificado de amostras de fezes.

Não são recentes as hipóteses da participação de microorganismos na etiopatogênese das artrites inflamatórias, em especial na artrite reumatoide, nas artrites reativas e nas espondiloartrites, incluindo a artrite psoriásica,¹⁰⁰ como estímulos antigênicos, seja como gatilho ou fator mantenedor da resposta imunológica. Ratos transgênicos HLA-B27 e beta 2microglobulina humana positivos, criados em ambientes estéreis, não reproduziam o modelo animal de espondiloartrite, com sacroileíte, artrite periférica e lesões psoriasiformes.^{56,57} Em contrapartida, a colonização do trato gastrointestinal destes mesmos animais, por diferentes espécies de Bacteroides, favorecia o desenvolvimento de inflamação articular e cutânea.¹⁰¹ Modelos experimentais subsequentes documentaram o desenvolvimento de espondiloartrite em animais tratados com beta-glucanas (polissacarídeo pré-biótico com conhecido estímulo ao crescimento de à proliferação de bactérias e leveduras), o que foi correlacionado com alteração do microbioma intestinal.^{102,103}

De modo similar, porém com enfoque na lesão cutânea, Zákolstelszá *et al.*, em 2016, demonstraram ausência de lesão ou menor grau de inflamação em modelo experimental validado de psoríase induzida por Imiquimode em camundongos criados em ambiente estéril, quando comparados a camundongos convencionais. A intensidade inflamatória foi controlada em maior grau quando os camundongos receberam antibioticoterapia de amplo espectro previamente à indução da lesão psoriásica. Em paralelo, no mesmo estudo, os autores demonstraram que camundongos com microbioma ausente ou com redução significativa (criados em ambiente estéril e tratados com antibiótico) tinham menor expressão de linfócitos T Helper 17, tipicamente exacerbados na doença psoriásica.^{18,30}

Estima-se que até 6% dos pacientes portadores de espondiloartrites apresentam doença inflamatória intestinal de forma concomitante; entretanto, inflamação intestinal subclínica é muito mais comum, presente em até dois terços dos pacientes.^{14,15,104-106} No início do século XXI, Stebbings *et al.* estudaram a microbiota

fecal por meio de PCR e hibridização *in situ*, de 15 pacientes portadores de espondiloartrite, comparando-os com controles, surgindo assim as primeiras evidências de inflamação do trato gastrointestinal associada à alteração da microbiota intestinal e da permeabilidade da barreira intestinal.¹⁰⁷

A partir do projeto do Microbioma Humano, com o avanço das técnicas de sequenciamento genético de alto rendimento, houve um impulso do estudo dos microbiomas e sua influência na homeostase humana, inflamação e autoimunidade. A partir da década de 2010, surgiram os primeiros trabalhos com a metodologia semelhante ao do presente estudo (Stoll *et al.*, 2014).¹⁰⁰ Em paralelo, a melhora técnica permitiu redução dos custos e maior acessibilidade às metodologias de avaliação, alavancando inúmeras publicações acerca do tema na década.

De maneira pioneira, Scher *et al.*, em 2015, utilizando sequenciamento de alto rendimento do gene ribossomal 16S, demonstraram em 16 pacientes com artrite psoriásica, 15 com psoríase em placas e 17 controles saudáveis, diminuição da diversidade do microbioma entre portadores de artrite psoriásica e psoríase em placas, quando comparados aos controles (Índice de Shannon). Em paralelo, indentificaram diminuição da expressão de dos gêneros *Akkermansia*, *Ruminococcus*, *Pseudobutyrvibrio*, *Parabacteroides*, *Alistipes* e *Coprococcus* nos pacientes portadores de doença psoriásica. O padrão de disbiose encontrado assemelhava-se ao de pacientes com doença inflamatória intestinal.^{58,59}

A Tabela 3 (Apêndice 6, páginas 106 à 112) sumariza os achados dos estudos consultados com enfoque na avaliação do microbioma intestinal e sua relação com psoríase.

Em relação à composição do microbioma, o presente estudo, em termos de abundância relativa, apresentou predomínio no nível de Filos de *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, seguidos de *Actinobactérias*, *Proteobactérias* e *Verrucomicrobia*. Estes são semelhantes àqueles descritos nos estudos pioneiros no campo do microbioma (HMP, MetaHIT).^{39,42} De maneira interessante, em termos de composição geral, foi muito semelhante a um estudo brasileiro envolvendo 50 indivíduos saudáveis, porém com predomínio de Firmicutes: *Firmicutes* (60-65%), *Bacteroidetes* (10-15%), *Actinobacteria* (5-7%), *Proteobacteria* (2-3%) e *Verrucomicrobia* (1- 2%).¹⁰⁸ Entre os doentes do presente estudo, comparativamente, houve maior representatividade dos filios *Proteobacterias* e *Fusobacterias*, achado este conflitante com a literatura

consultada, a qual descreve redução de *Proteobacterias* entre pacientes com psoríase.^{109,110}

Postula-se como aspecto importante para definição de disbiose associada a doenças inflamatórias, inclusive à doença psoriásica, uma redução da diversidade do microbioma intestinal.⁵⁸ No presente estudo, apesar de mediana inferior entre os expostos, a demonstração de alfa-diversidade não resultou em diferença significativa (Gráfico 3. Mediana 3.5 x 3.35. $P = 0.16$). Este achado não é inédito. Pelo contrário, outros estudos de metodologia semelhante (e mesma ferramenta estatística) também não documentaram alteração.¹⁰⁹⁻¹¹⁴ Registra-se o fato de um dos estudos consultados, pelo contrário, ter surpreendido com maior riqueza de variabilidade entre os doentes em relação aos controles.¹¹⁵

Por outro lado, corroborando com os trabalhos anteriores,^{109-110,113,116} a análise de beta-diversidade do presente estudo mostrou diferença no agrupamento e composição do microbioma intestinal entre indivíduos com doença psoriásica, quando comparados aos controles ($p = 0.031$). Especula-se, diante deste achado, que talvez a relação entre microbioma e imunorreatividade não seja meramente uma questão quantitativa, mas sim qualitativa, dependendo de composição e agrupamento.

No que diz respeito à abundância diferencial, alguns achados merecem ser discutidos. Conforme mencionado previamente, houve predomínio do filo *Bacteroidetes* entre os doentes ($p = 0.03$). Em contrapartida, no grupo controle predominou o filo *Firmicutes* ($p = 0.03$), tal qual demonstrado no estudo nacional com indivíduos saudáveis, previamente citado,¹¹⁰ tornando estatisticamente significativa a diferença entre a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B), com maior razão média entre os controles ($p = 0.005$). A literatura aponta, na maioria dos trabalhos, o predomínio de *Firmicutes* entre os doentes, mostrando uma maior razão (F/B) média.^{109,110,112,117} Por vezes, no entanto, não se demonstra diferença nesta associação;¹¹⁴ ou mesmo se observa uma diminuição da razão nos pacientes com psoríase,¹¹³ de forma semelhante ao presente estudo.

Na análise da abundância diferencial, após ajuste para significância em todos os níveis taxonômicos, manteve-se como significativa a identificação da maior presença da família *Sutterellaceae* ($p < 0.05$), gênero *Sutterella* ($p < 0.01$), espécie *Sutterella wadsworthensis* ($p < 0.05$). Entre os estudos consultados, Chen *et al.* identificaram redução da expressão de *Sutterella spp.* entre pacientes portadores de doença psoriásica (amostra não restrita a pacientes graves, com idade média superior

ao presente estudo, além de incluir pacientes com tratamento sistêmico com potencial de modificação do microbioma).¹¹² Até o momento, a associação entre gênero ou espécie e doença psoriásica, ou mesmo com o espectro das espondiloartrites não foi demonstrada. Entretanto, estudos recentes associaram a presença de *Sutterella spp.* à atividade de retocolite ulcerativa e dificuldade em indução de remissão da doença a despeito de tratamento efetivo.¹¹⁸⁻¹²⁰ Neste contexto, importa destacar que a *Sutterella spp.* tem como propriedade a adesão às células do epitélio intestinal, além de degradar imunoglobulina IgA; que desempenha papel crítico na manutenção da homeostase, proteção e imunorreatividade intestinal.¹²¹

A redução proporcional de *Akkermansia spp.*, tida como marca da disbiose relacionada à doença psoriásica por diversos autores,^{58,111,112,116} não foi demonstrada no presente estudo. Tal fato pode decorrer da baixa leitura também no grupo controle, não sendo possível identificar diferença relevante. Outros autores, entretanto, também não puderam demonstrar tal associação.¹⁰⁹ Da mesma forma, o achado de aumento de *Faecalibacterium* entre os doentes também não foi confirmado, uma vez que se encontrava aumentado em ambos os grupos.^{114,115}

Faz-se necessário destacar os dois trabalhos nacionais, ambos com a mesma metodologia de sequenciamento genético de alto rendimento, gene ribossomal16s RNA, publicados durante esta tese. O primeiro, publicado por Shade L e colaboradores, em 2022, estudaram 21 pacientes com psoríase, dos quais, 18 com psoríase vulgar. Apesar de um tempo consolidado de evolução da doença (média de 13 anos de evolução), a amostra foi constituída, em sua maioria, por pacientes portadores de psoríase leve (PASI médio de 2.3). Os autores demonstraram em seu estudo que o microbioma dos pacientes com psoríase foi menos diverso e se agrupou de forma diferente dos controles saudáveis, pareados por idade, gênero e IMC.¹¹⁶ De forma interessante, um aumento da expressão de *Prevotella Copri* e redução da expressão de *Akkermansia muciniphila*, sendo a última, apontada por estudos anteriores, como uma marca da disbiose psoriásica.^{111,116}

O segundo e mais recente artigo, por Polo T e colaboradores, publicado em 2023, faz uma abordagem nutricional interessante, diferenciando na amostra, onívoros e vegetarianos. Além disso, investigaram a relação o microbioma com a dosagem sérica de proteína ligadora de lipopolissacarídeos (LPB). Esta liga-se a Lipopolissacarídeos que compõem a parede celular de bactérias gram negativas, promovendo ativação do sistema imune. Portanto, mais um elo na relação do

microbioma e autoimunidade. O trabalho selecionou 42 indivíduos, todos do sexo masculino, sendo 21 com psoríase e 21 controles sem psoríase. Todos os portadores de psoríase eram onívoros. Já, entre os controles, 14 onívoros e 7 vegetarianos. Destacamos que os 21 pacientes com psoríase tinham mediana de PASI de 4. Entre eles, 8 tinham artrite psoriásica e 15 estavam em vigência de tratamento sistêmico, inclusive imunobiológicos (Secuquinumabe). Não houve diferenças em termos de alfa ou beta diversidade. As principais diferenças se mostraram quando comparado grupo de doentes exclusivamente com os controles vegetarianos: maior representação de *Firmicutes* entre os doentes e maior razão F/B entre os portadores de Psoríase. O padrão de disbiose nos pacientes com psoríase se correlacionou com maiores níveis séricos de LPB e menor consumo de fibras na dieta.¹²²

6.1 ARTRITE PSORIÁSICA:

De forma exploratória, focando desta vez apenas no grupo de doentes (30 pacientes portadores de doença psoriásica grave), foram estudados dois grupos: 15 pacientes com diagnóstico de artrite psoriásica e 15 pacientes sem artrite. Buscou-se avaliar o microbioma intestinal, também a partir do sequenciamento de DNA de alto rendimento do gene 16S rRNA, regiões V3/V4, extraído e amplificado de amostras de fezes, em metodologia idêntica: caso-controle.

Conforme previamente mencionado, os primeiros estudos relacionando disbiose intestinal e doença psoriásica tiveram grande enfoque na doença articular.^{58,100}

Em cerca de 70% dos casos, a doença cutânea precede o acometimento articular e estima-se que aproximadamente um terço dos pacientes portadores de doença psoriásica desenvolverá artrite psoriásica ao longo de sua doença.⁶⁸ Sendo a artrite psoriática uma doença inflamatória articular com capacidade de estabelecer curso progressivo e erosivo, portanto podendo determinar dano permanente ao paciente, é fundamental o diagnóstico precoce. Um pequeno atraso de 6 meses no adequado diagnóstico implica em pior desfecho em termos de resposta terapêutica no futuro.¹²³ Neste sentido, busca-se com frequência o estabelecimento de boas ferramentas de *screening* ou mesmo biomarcadores que possam auxiliar o dermatologista clínico nesta avaliação, melhorando a janela de oportunidade de atuação.^{1,2,68,124}

Alguns resultados, com este enfoque de diferenciação da presença ou ausência de doença articular entre os portadores de psoríase, merecem ser destacados. Não houve diferença estatisticamente significativa em termos de idade média e tempo médio de evolução de doença. São fatores de risco classicamente relacionados à doença articular nos pacientes com psoríase vulgar: início da doença ainda na infância/adolescência; doença cutânea grave/extensa, acometimento de unhas e couro cabeludo, além de fenda interglútea; história familiar de artrite psoriásica em parente de primeiro grau; positividade para o HLA-B27; obesidade; uveíte; estresse biomecânico e trauma.^{125,126} Apesar do grupo com doença articular apresentar BSA e PASI médios superiores, esta diferença não foi estatisticamente significativa. Não houve diferença na presença ou não de psoríase ungueal, acometimento de couro cabeludo ou sulco interglúteo ($p > 0.05$). Na presente amostra, comportaram-se como fatores de risco para doença articular o tabagismo e a presença de dislipidemia (ambos com $p < 0.001$). Um achado anômalo, porém, não inédito, foi a identificação de um maior IMC médio entre os pacientes sem doença articular ($p = 0.003$) e, por consequência, um maior número de obesos também entre os pacientes sem doença articular ($p < 0.001$). Talvez represente um viés de seleção, onde houve uma significativa maior prevalência de obesos entre os não portadores de artrite.

Vale destacar que, do ponto de vista de *screening*, a ferramenta PEST foi efetiva em diferenciar os pacientes portadores de doença articular (20% de *screening* positivo entre não doentes x 73.3% entre doentes; $p < 0.001$). O presente estudo, portanto, encontrou uma sensibilidade de 78.5% e especificidade de 75%, além de valor preditivo positivo de 73.3% e negativo de 80%. Estudos que validaram a ferramenta demonstraram alta sensibilidade (97%), com razoável especificidade (79%), que é rigorosamente o que se espera de uma ferramenta de *screening*. Além disso, valor preditivo negativo de 99%, o que é uma informação muito útil na prática: diante de um PEST negativo, se tem uma razoável certeza de não estar diante um paciente com artrite psoriática.^{90,127} Ao menos, do ponto de vista de acometimento periférico, entesite e dactilite. A grande ressalva da aplicabilidade de PEST na prática clínica é a não consideração do comprometimento de esqueleto axial. Deste modo, recomenda-se acrescentar ao PEST questionamentos quanto a presença de dor lombar ou de quadril, se esta dor é pior pela manhã ou se já acordou o paciente durante a noite, e ainda se vem acrescida de certa rigidez e se alivia com mobilização e alongamento.

As provas inflamatórias também não foram capazes de diferenciar pacientes com o sem doença articular. Houve uma tendência de uma maior média de proteína C reativa (PCR), quantitativa ultrasensível (4.67 x 2.77), porém, tal qual a velocidade de hemossedimentação em 1 hora (VHS), a diferença não obteve significância estatística ($p = 0.476$). De fato, a literatura mostra que a PCR aumentada pode auxiliar na interpretação de um paciente com psoríase em placas e artralgia/artrite, entretanto, quando negativo, não deve afastar o diagnóstico nem mesmo ser indicativo de doença articular controlada ou em remissão.¹²⁸

Retomando os dados de investigação, observamos que 4 dos 15 pacientes com artrite psoriásica tiveram PEST negativo. Ainda assim, a avaliação clínica, correlacionada com os achados de ultrassom, permitiram o diagnóstico do acometimento articular. Deste modo, registra-se a importância do ultrassom como ferramenta para o diagnóstico precoce. O ultrassom é um exame rápido, acessível e não invasivo, além de não envolver radiação ou uso de contraste. Por outro lado, é operador dependente, exigindo um treinamento rigoroso de modo a aumentar sua acurácia. Outro aspecto relevante a ser destacado foi a evolução dos aparelhos, com maior frequência, permitindo estudar pele e aparelho ungueal, complementando a avaliação do paciente portador de doença psoriásica.^{129,130} A *European League Against Rheumatism* (EULAR) recomenda que o ultrassom seja incluído na avaliação de todo paciente com artrite crônica com o objetivo de aumentar a acurácia diagnóstica.^{131,132} Estudo recente de Chen e cols. avaliou 490 pacientes com psoríase em placas, moderada à grave. Entre eles, 384 assintomáticos do ponto de vista articular e 106 com artralgia e fadiga, enquadrados naquilo que se entende como fase prodrômica da artrite psoriásica. Foram ainda incluídos 80 controles saudáveis, sem psoríase. Quando comparados aos controles, os pacientes portadores de psoríase sem queixas articulares, houve uma diferença importante quanto a presença de sinovio-entese (1.3% x 16.1%, $p < 0.001$), sendo o sítio mais comum os joelhos. Os achados motivaram os pesquisadores a recomendar screening com ultrassom em todo paciente com psoríase, independente da presença de sintomas, especialmente em membros inferiores.¹³³ Por fim, o ultrassom permite não somente a identificação de dano estrutural estabelecido, mas também alterações mínimas de fluxo sanguíneo em tecidos moles, superficiais, por meio da ferramenta do doppler. Estas alterações de fluxo se correlacionam com inflamação ativa, recente. Deste modo, permite além do diagnóstico precoce o seguimento de atividade de doença.¹³⁴

Scher e colaboradores, em 2019, estabeleceram uma hipótese de evolução progressiva da artrite psoriásica, a partir da doença cutânea, em que indivíduos expostos a fatores genéticos e ambientais atravessariam uma fase pré-clínica, na sequência subclínica (exames de imagem com alterações precoces), podendo evoluir para uma fase de transição – prodrômica, culminando com artrite psoriásica estabelecida. E, nesta fase de transição entre doença subclínica e prodrômica, os autores formularam a hipótese de que, tal qual trauma, determinadas comorbidades (obesidade) e estresse biomecânico, poderiam, em conjunto com alterações do microbioma, estar implicados nesta evolução etiopatogênica da doença.¹²⁶

Retomando o estudo pioneiro de Scher e colaboradores, publicado em 2015, previamente citado, onde foi estudada uma população de 31 pacientes com psoríase, sendo que destes, 16 tinham artrite psoriásica; onde foi identificado microbioma menos diverso entre os doentes em relação aos controles. Em paralelo, indetificaram diminuição da expressão de dos gêneros *Akkermansia*, *Ruminococcus*, *Pseudobutyrvibrio*, *Parabacteroides*, *Alistipes* e *Coprococcus* nos pacientes portadores de doença psoriásica. Quando comparados pacientes com e sem artrite, notou-se, ao nível de filo, redução de *Firmicutes*, *Clostridiales* e *Verrucomicrobiales*, além do aumento de *Bacteroidetes* em pacientes com doença articular estabelecida.⁵⁸

No presente estudo, houve um predomínio os gêneros *Bacteroides* e *Roseburia* em pacientes com artrite e de *Faecalibacterium* e *Prevotella* entre portadores de psoríase, sem doença articular. Já em nível de espécies, verificou-se que *Bacteroides vulgatus*, *stercoris*, *uniformis* e *plebeius* predominaram entre os pacientes com doença articular estabelecida. Por outro lado, *Prevotella copri*, e *Eubacterium retale* entre os pacientes com doença cutânea isolada. Avançando além de abundância relativa, apesar de não demonstrar alteração de alfa ou beta diversidade quando comparados pacientes com e sem doença articular, nosso estudo também documentou predomínio da família *Bacteroidacea* ($p = 0.02$), gênero *Bacterioides* ($p = 0.02$), além de espécie *Bacterioides uniformes* ($p = 0.03$) entre os pacientes com doença articular. Estes, em abundância diferencial ajustada.

De forma similar, outros estudos prévios relacionaram diferentes espécies do gênero *Bacteroides* com doença inflamatória intestinal, relacionando a capacidade de produção de proteases, em especial por parte da espécie *Bacteroides vulgatus*, se relacionando à retocolite ulcerativa, inclusive com sua expressão sendo proporcional à atividade inflamatória de doença.¹³⁵

De maneira interessante, este achado se correlaciona quando retomamos a pesquisa experimental, onde, em modelo animal, também se demonstrou que a colonização do trato gastrointestinal por diferentes espécies de *Bacteroides*, favorecia o desenvolvimento inflamação articular.¹⁰¹ No estudo de Ling et al, publicado em 2022, estudando a diferença de microbioma intestinal em pacientes com artrite psoriásica (9) de pacientes com artrite indiferenciada (10), verificou-se diferentes agrupamentos de composição em beta-diversidade entre os grupos. Portanto, a composição geral do microbioma foi diferente entre os grupos. Além disso, também houve maior expressão do filo *Bacteroidetes* entre portadores de artrite psoriásica, junto com *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*. Foi também identificada maior expressão da espécie *Megasphaera elsdenii*.¹³⁶ Não houve, em nosso estudo, maior expressão de *Megasphaera*.

Entretanto, Manasso e colaboradores, em 2020, estudando 15 pacientes com artrite psoriásica identificaram aumento das ordens *Clostridiales* e *Erysuoelotrichales*, porém com redução de *Bacteroidales* quando comparados com controles saudáveis. Por outro lado, estes mesmos autores seguiram este grupo, após tratamento com imunobiológico anti-TNF-alfa, sabidamente eficaz para tratamento de artrite psoriásica e a melhora foi acompanhada de uma queda da expressão de *Bacteroidales*, de certa forma apoiando a hipótese que se formula no presente estudo relacionando a importância deste filo, ordem, família e gênero na doença articular psoriásica.¹³⁷

Por fim, Xiao e colaboradores, neste ano de 2024, publicaram os achados de um estudo robusto, com 95 indivíduos, sendo 44 com artrite psoriática, 26 com psoríase, além de 25 controles saudáveis. Não houve diferença em termos de alfa diversidade. Porém com significativas diferenças de agrupamento em beta-diversidade (índice de Bray-Curtis) em diferentes cenários: agrupados os doentes portadores de doença psoriásica *versus* controles, além de psoríase *versus* controles e artrite psoriásica *versus* controles. Além disso, os autores encontraram como melhor parâmetro de diferenciação do microbioma de doença psoriásica quando comparado aos indivíduos controles a redução expressiva de *Eubacterium retale*. Entretanto, não foi identificada diferença de expressão suficiente para diferenciar pacientes com ou sem doença articular. De maneira antagônica, o presente estudo identificou maior expressão de *Eubacterium retale* entre os doentes e, quando comparados somente os

doentes com e sem doença articular, aqueles com doença exclusivamente cutânea tinham maior expressão desta espécie em termos de abundância relativa.¹³⁸

6.2 INDIVÍDUOS CONTROLE, COM E SEM HISTÓRIA FAMILIAL EM PARENTES DE PRIMEIRO GRAU:

Por fim, explorou-se de forma indireta a importância da hereditariedade, por meio da história familiar, considerando-se a possibilidade de o perfil genético modular o microbioma intestinal. Neste sentido, tomou-se por base a hipótese de Rosenbaum *et al.*,¹⁰⁴ de que os perfis de expressão dos antígenos de histocompatibilidade moldem o nosso microbioma. Não foram, no entanto, encontradas diferenças no microbioma intestinal entre os 30 indivíduos controles, quando comparados 15 indivíduos com história familiar de doença psoriásica em parentes de primeiro grau e 15 indivíduos sem história familiar. Talvez o número reduzido de pacientes incluídos nesta análise tenha impactado a possibilidade de encontrarmos diferenças significativas.

De fato, publicações anteriores, explorando o potencial da influência genética na formação e manutenção do microbioma, evidenciaram que esta parece ser minimizada ou alterada de forma importante pelo comportamento, hábitos dietéticos e território de moradia dos indivíduos. Estudo que explorou o microbioma intestinal e populações de himalaios, oriundos de uma mesma tribo, porém com evolução para diferentes grupos (coletores versus agricultores) demonstrou que estes desenvolveram diferenças significativas no microbioma intestinal.¹³⁹ Especula-se, assim, que o microbioma origine-se de um núcleo de genes bacterianos, presentes ao nascimento e neste, talvez, haja um maior impacto em relação à hereditariedade. Por outro lado, todo o entorno seria modelado por múltiplas camadas de outros genes microbianos, influenciados de forma mais direta por fatores ambientais.¹⁴⁰

Reconhecemos algumas limitações do presente estudo. O primeiro ponto é o tamanho da amostra. Apesar de termos realizado cálculo amostral com metodologia validada, previamente publicada e reconhecida neste campo de pesquisa, atingindo o número de indivíduos proposto, entendemos como limitação a capacidade de extrapolar nossos resultados partindo apenas de 60 pacientes. O segundo ponto que gostaríamos de destacar é dificuldade de comparação dos nossos dados com aqueles previamente publicados na literatura, dada a heterogeneidade na seleção dos doentes

estudados. Em se tratando de doença psoriásica, pôde-se perceber a inclusão de pacientes com diferentes tempos de evolução de doença, não restrição quanto a tratamento sistêmico no momento da coleta, além da inclusão de diferentes gravidades e subtipos clínicos de doença.

7. CONCLUSÕES

Concluimos, baseado nos achados deste estudo, que o microbioma intestinal da amostra estudada de pacientes portadores de doença psoriásica é, de fato, diferente do grupo controle. Do ponto de vista de abundância relativa, houve uma maior expressão de *Bacteroidetes*, *Proteobactérias* e *Fusobactérias* entre os doentes à nível de filo, um menor número de gêneros diferentes entre os doentes. Demonstrou uma composição significativamente diferente quando comparadas amostras entre os grupos de doentes e não-doentes. Houve uma maior expressão do gênero *Sutarella spp.* Entre os doentes, como marca do microbioma intestinal dos pacientes portadores de doença psoriásica grave.

Do ponto de vista de composição média do microbioma, predominaram entre doentes e não doentes os filós *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, havendo predomínio de *Proteobactérias* e *Fusobactérias* entre os doentes. À nível de família, predominaram *Bacteroidaceae*, *Ocillospiraceae*, *Prevotellaceae*, *Lacnospiraceae* em ambos os grupos, com maior representatividade de *Eubacteriaceae* e *Succinivibrionaceae* entre os portadores de psoríase. Por fim, foram mais prevalentes os gêneros *Bacteroides*, *Faecalibacterium* e *Prevotella* em ambos os grupos. Tais achados permitirem delinear a composição média do microbiome intestinal em ambos os grupos.

Em relação a diferenciação do microbioma intestinal em pacientes portadores de doença psoriásica com e sem artrite, o estudo permitiu a identificação da maior expressão dos filós *Bacteroidetes* e *Proteobacterias* entre os pacientes com artrite psoriática, do gênero *Bacteroides* e *Roseburia* e das espécies *Bacteroides vulgatus*, *stercoris*, *uniformis* e *plebeius*. Em termos de abundância diferencial, de forma significativa, verificou-se como marca da doença articular a maior expressão do gênero *Bacteroides spp.*

Não houve, no presente estudo, diferença em termos de microbioma intestinal entre pacientes sem psoríase com história familiar de psoríase em parentes de primeiro grau, quando comparados a indivíduos sem história familiar da doença.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo mostrou diferenças significativas na composição do microbioma intestinal no grupo de pacientes com doença psoriásica grave, quando comparado ao grupo controle. Entre estes achados, destaca-se a demonstração de uma maior expressão, de forma estatisticamente significativa, de *Sutterella wadsworthensis* entre o grupo de doentes, podendo esta ser uma assinatura do microbioma intestinal desta população. O gênero *Sutterella spp.* foi anteriormente relacionado à doença inflamatória intestinal e parece desempenhar um papel importante na IgA e na integridade epitelial intestinal, acompanhando evidências anteriores de alteração da permeabilidade da barreira intestinal e da imunorreatividade, como gatilho para autoimunidade.

Este tema, ainda que relevante e de destaque na literatura internacional, é pouco explorado no Brasil. Este é o terceiro artigo nacional, estudando uma população brasileira e foi capaz de trazer novas informações sobre microbioma e psoríase. Ainda assim, continua difícil compreender a magnitude da influência do microbioma intestinal na doença. Nesse aspecto, destacamos a dificuldade de comparar nossos resultados com os estudos publicados devido à heterogeneidade na seleção dos doentes.

Entretanto, o microbioma merece a nossa atenção, especialmente porque traz diferentes oportunidades de intervenção através, por exemplo, da dieta, do uso de prebióticos e probióticos; da análise pré-tratamento, prognóstico e até mesmo transplante do microbioma intestinal. Embora ainda existam alguns pontos-chave a serem confirmados com estudos prospectivos, nós, como grupo, concentraremos nossa energia agora na compreensão do impacto que os DMARDs têm no microbioma intestinal, tentando também estabelecer se os pacientes que atingem atividade mínima da doença apresentam alterações significativas do microbioma intestinal. Isto é, será que o controle completo da doença termina por alterar o microbioma intestinal, sem que atue diretamente sobre ele? É um campo de estudos atual, com diferentes desdobramentos em epigenética e metabolômica e certamente impulsionará avanços, não só na doença psoriásica, mas na medicina de forma geral.

9. REFERÊNCIAS

1. Carneiro, Sueli Coelho da Silva. Psoríase: mecanismos de doença e implicações terapêuticas / Sueli Coelho da Silva Carneiro. – São Paulo, 2007. Tese (livre-docência) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Dermatologia.
2. Carneiro S, Ramos-e-Silva M. Carneiro S, Ramos-e-Silva M. Introdução; Loureiro MCAC, Carneiro S. Epidemiologia; Accioly-Filho JW. Fatores etiológicos, de risco, desencadantes e agravantes da Psoríase. In: Fundamentos em Psoríase. Rio de Janeiro: Atheneu; 2018.
3. Nestle FO, Kaplan DH, Baker J. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009; 361(5):469-509.
4. Boehncke WH, Schön MP. Psoriasis. *Lancet*. 2015; 386(9997):983-94.
5. World Health Organization [homepage na internet]. Relatório Global sobre Psoríase – OMS. [acesso em 28 jan 2020]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204417/9789241565189.por.pdf;jsessionid=65235E678F018E79DE5AEC5CB31E8F81?sequence=17>
6. Romiti R, Magalhães RF, Duarte GV. Cumulative life course impairment in patients with dermatological diseases, with a focus on psoriasis. *An Bras Dermatol*. 2024; 99(2):269-76.
7. Christophers E. Psoriasis: epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol* 2001; 26(4):314-20.
8. Rachakonda TD, Schupp CW, Armstrong AW. Psoriasis prevalence among adults in the United States. *J Am Acad Dermatol*. 2014; 70(3):512-6.
9. Michalek IM, Loring B, John SM. A systematic review of worldwide epidemiology of psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017; 31(2):205-12.
10. Romiti R, Arnone M, Menter A, Miot HA. Prevalence of psoriasis in Brazil – a geographical survey. *Int J Dermatol*. 2017; 56(8):e167-8.
11. Rapp SR, Feldman SR, Exum ML, Fleischer AB Jr., Reboussin DM. Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. *J Am Acad Dermatol*. 1999; 41(3 Pt 1):401-7
12. Hawkes JE, Chan TC, Krueger JG. Psoriasis pathogenesis and the development of novel target immune therapies. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 140(3):645-53.

13. Eppinga H, Konstantinov SR, Peppelenbosch MP, Thio HB. The microbiome and psoriatic arthritis. *Curre Rheumatol Rep.* 2014; 16(3):407.
14. Van Praet L, Van den Bosch F, Mielants H, Elewaut D. Mucosal inflammation in spondylarthritides: past, present, and future. *Curr Rheumatol Rep.* 2011;13(5):409-15.
15. Sherlock JP, Joyce-Shaikh B, Turner SP, Chao CC, Sathe M, Grein J, et al. IL-23 induces spondyloarthropathy by acting on ROR-gammat+ CD3+CD4-CD8-enthesal resident T cells. *Nat Med.* 2012; 18(7):1069-76.
16. Van Praet L, Van den Bosch FE, Jacques P, Carron P, Jans L, Colman R, et al. Microscopic gut inflammation in axial spondyloarthritis: a multiparametric predictive model. *Ann Rheum Dis.* 2013; 72(3):414-7.
17. Tlaskalova-Hogenova H, Stepankova R, Kozakova H, Hudcovic T, Vannucci L, Tuckova L, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol.* 2011; 8(2):110-20.
18. Zákostelská Z, Málková J, Klimesová K, Rossmann P, Hornová M, Novosádová I, et al. Intestinal microbiota promotes psoriasis-like skin inflammation by enhancing TH17 response. *PLoS One.* 2016; 11(7):e0159539.
19. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med.* 2016; 8(1):51.
20. Halioua B. A history of psoriasis. *An Dermatol Venereol.* 2019;146(2):160-5.
21. Romiti R, Maragno L, Arnone M, Takahashi MDF. Psoríase na infância e na adolescência. *An Bras Dermatol.* 2009;84(1):09-20.
22. Danielsen K, Olsen AO, Wilsgaard T, Furberg AS. Is the prevalence of psoriasis increasing? A 30-year follow-up of a population-based cohort. *Br J Dermatol.* 2013;168:1303-10.
23. Farber E, Nall M. Epidemiology: natural history of 5600 patients *Dermatologica.* 1974, 148(1):1-18.
24. Parisi R, Iskandar IYK, Kontopantelis E, Augustin M, Griffiths CEM, Ashcroft DM. Global Psoriasis Atlas. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modeling study. *BMJ.* 2020; 369:m1590
25. Langley RGB, Krueger GG, Griffiths CEM. Psoriasis: epidemiology, clinical features, and quality of life. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(Suppl 2):ii18-23.

26. Arnone M, Takahashi MDF, Carvalho AVE, Bernardo WM, Bressan AL, Ramos AMC, et al. Plaque psoriasis diagnostic and treatment guidelines. *An Bras Dermatol*. 2019; 94(2):S76-107.
27. Takeshita J, Grewal S, Langan SM, Mehta NN, Ogdie A, Van Voorhees AS, et al. Psoriasis and comorbid diseases: epidemiology. *J Am Acad Dermatol*. 2017; 76(3):377-90.
28. Gelfand JM, Troxel AB, Lewis JD, Kurd SK, Shin DB, Wang X, et al. The risk of mortality in patients with psoriasis: results from a population-based study. *Arch Dermatol*. 2017; 143(12): 1493-9.
29. Takeshita J, Grewal S, Langan SM, Mehta NN, Ogdie A, Van Voorhees AS, et al. Psoriasis and comorbid diseases: implications for management. *J Am Acad Dermatol*. 2017; 76(3):393-403.
30. Hugh JM, Weinberg JM. Update on the pathophysiology of psoriasis. *Cutis*. 2018; 102(5S):6-12.
31. Mahil SK, Capon F, Barker JN. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy. *Semin Immunopathol*. 2016; 38(1):11-27.
32. Tsankov N, Kazandjieva J, Drenovska K. Drugs in exacerbation and provocation of psoriasis. *Clin Dermatol*. 1998; 16(3):333-51.
33. Green D, Watson JD, Collins FS. Twenty-five years of big biology. *Nature*. 2015; 526(7571):29-31.
34. National Human Genome Research Institute [homepage na internet]. The Human Genome Project. [acesso em 19 out 2022]. Disponível em: <https://genome.gov/human-genome-project>.
35. Lander ES, Linton LM, Nusbaum C, Zodi MC, Baldwin J, Devon K, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001; 409(6822):860-921
36. Gibbs RA. The Human Genome Project changed everything. *Nat Rev Genet*. 2020; 21(10):575-76.
37. 1000 Genomes Project Consortium; Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*. 2010; 467(7319):1061-73.
38. Davies J. In a map for human life, count the microbes, too. *Science*. 2001; 291(5512):2316.

39. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009; 19(12):2317-23.
40. Tlaskalova-Hogenova H, Stepankova R, Kozakova H, Hudcovic T, Vannucci L, Tuckova L, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol.* 2011; 8(2):110-20.
41. Zákostelská Z, Málková J, Klimesová K, Rossmann P, Hornová M, Novosádová I, et al. Intestinal microbiota promotes psoriasis-like skin inflammation by enhancing TH17 response. *PLoS One.* 2016; 11(7):e0159539.
42. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010; 46(7285):59-65.
43. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012; 486(7402):207-14.
44. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med.* 2016; 8(1):51.
45. Shanahan F. The colonic microbiota in health and disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2013; 29(1):49-54.
46. Chang JT. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. *New Eng J Med.* 2020; 383(27):2652-64.
47. Christovich A, Luo XM. Gut microbiota, leaky gut, and autoimmune diseases. *Front Immunol.* 2022; 27:13:946248.
48. Cuevas-Sierra A, Ramos-Lopez O, Riezu-Boj J, Milagro FI, Martinez JA. Diet, gut microbiota, and obesity: links with host genetics and epigenetics and potential applications. *Adv Nutr.* 2019; 10(Suppl 1):S17-30.
49. Murdaca G, Greco M, Negrini S, Marco Casciaro, Gangemi S. The role of skin and gut microbiome and epigenetic modifications in skin-autoimmune disorders. *Curr Mol Med.* 2021; 21(4):283-90.
50. Roszkiewickz M, Dopytalska K, Szymanska E, Jakimiuk A, Walecka I. Environmental risk factors and epigenetic alternations in psoriasis. *Ann Agric Environ Med.* 2020; 27(3):335-42.
51. Round JL, Palm NW. Causal effects of the microbiota on immune-mediated diseases. *Sci Immunol.* 2018; 3(20):eaao1603.

52. Schirmer M, Garner A, Vlamakis H, Xavier RJ. Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17(8):497-511.
53. Frank DN, St. Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(34):13780–5.
54. Britton GJ, Contijoch EJ, Mogno I, Vennaro OH, Llewellyn SR, Ruby Ng, et al. Microbiotas from humans with inflammatory bowel disease alter the balance of gut Th17 and ROR γ t+ regulatory T cells and exacerbate colitis in mice. *Immunity.* 2019; 50(1): 212-24.e4.
55. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2008; 134(2):577-94.
56. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. *Cell.* 1990; 63:1099-112.
57. Taurog JD, Richardson JA, Croft, et al. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *The Journal of Experimental Medicine.* 1994; 180:2359-64.
58. Scher JU, Ubeda C, Artacho A, Attur M, Isaac M, Reddy SM, et al. Decreased bacterial diversity characterizes the altered gut microbiota in patients with psoriatic arthritis, resembling dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(1):128-39.
59. Eppinga H, Sperna Weiland CJ, Thio HB, van der Woude CJ, Nijsten TE, Peppelenbosch MP, et al. Similar depletion of protective faecalibacterium *prausnitzii* in psoriasis and inflammatory bowel disease, but no in hidradenitis suppurativa. *J Crohns Colitis.* 2016;10(9):1067-75.
60. Yeoh N, Burton JP, Suppiah P, Ried G, Stebbings S. The role of the microbiome in rheumatic diseases. *Curr Rheumatol Rep.* 2013; 15(3):314.
61. Chen CC, Chen KJ, Kong MS, Chang HJ, Huang JL. Alterations in the gut microbiotas of children with food sensitization in early life. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 27(3):254-6.

62. Chen J, Chia N, Kalari KR, Yao JZ, Novothna M, Soldan MM, et al. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep* 2016; 6:28484.
63. De groot PF, Belzer C, Aydin O, Levin E, Levels JH, Aalvink S, et al. Distinct fecal and oral microbiota composition in human type I diabetes, an observational study. *PLoS One*. 2017; 12(12):e0188475.
64. Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F, Fagioli S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J Gastroenterol*. 2016; 22(1):361-8.
65. Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature*. 2014; 513(7516):59-64.
66. Uppala R, Tsoi LC, Harms PW, Wang B, Billi AC, Maverakis E, et al. “Autoinflammatory psoriasis”- genetics and biology of pustular psoriasis. *Cell Mol Immunol*. 2021; 18(2):307-17.
67. Navarini AA, Burden AD, Capon F, Mrowietz U, Puig L, Koks S, et al. European consensus statement on phenotypes of pustular psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017; 31(11):1792-99.
68. Gladmann DD. Clinical features and diagnostic considerations in psoriatic arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2015; 41(4):469-79
69. Mattei PL, Corey KC, Kimball AB. Psoriasis Area Severity Index (PASI) and the Dermatology Life Quality Index (DLQI): the correlation between disease severity and psychological burden in patients treated with biological therapies. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014; 28(3):333-7.
70. Brezinski EA, Dhillon JS, Armstrong AW. Economic burden of psoriasis in the United States: a systematic review. *JAMA Dermatol*. 2015; 15(6):651-8.
71. Romiti R, Carvalho AVE, Duarte GC. Consenso brasileiro de psoríase 2020: algoritmo de tratamento da Sociedade Brasileira de Dermatologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2020.
72. Segi L, Trau H. The Koebner phenomenon. *Clin Dermatol*. 2011; 29(2):231-6.
73. Farber E, Nall M. Epidemiology: natural history of 5600 patients. *Dermatologica*. 1974, 148(1):1-18.
74. SANTA CATARINA. Decreto nº 6132 de 03 de dezembro de 2010. Lei complementar estadual de Santa Catarina número 495 de 2010. Disponível em <https://leis.alesc.sc.gov.br>. Acesso em 12.05.2020.

75. IBGE. Área territorial oficial. IBGE Cidades (2017). Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/panorama>. Acesso em 12.05.2020.
76. IBGE. Estimativa Populacional. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9103-estimativas-de-populacao.html?=&t=o-que-e>. Acesso em 12.05.2020.
77. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum.* 2006; 54(8):2665-73.
78. Mease PJ. Measures of psoriatic arthritis: Tender and Swollen Joint Assessment, Psoriasis Area and Severity Index (PASI), Nail Psoriasis Severity Index (NAPSI), Modified Nail Psoriasis Severity Index (mNAPSI), Mander/Newcastle Enthesitis Index (MEI), Leeds Enthesitis Index (LEI), Spondyloarthritis Research Consortium of Canada (SPARCC), Maastricht Ankylosing Spondylitis Enthesis Score (MASES), Leeds Dactylitis Index (LDI), Patient Global for Psoriatic Arthritis, Dermatology Life Quality Index (DLQI), Psoriatic Arthritis Quality of Life (PsAQOL), Functional Assessment of Chronic Illness Therapy-Fatigue (FACIT-F), Psoriatic Arthritis Response Criteria (PsARC), Psoriatic Arthritis Joint Activity Index (PsAJAI), Disease Activity in Psoriatic Arthritis (DAPSA), and Composite Psoriatic Disease Activity Index (CPDAI). *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011; 63 Suppl 11:S64-85.
79. Zhao S, Li CI, Guo Y, Sheng Q, Shyr Y. RnaSeqSampleSize: real data based sample size estimation for RNA sequencing. *BMC Bioinformatics.* 2018; 19(1):191.
80. McMurdie PJ, Holmes S. Waste not, want not: why rarefying microbiome data is inadmissible. *PLoS Comput Biol.* 2014; 10(4):e1003531.
81. QIAGEN [homepage na internet]. QIAamp DNA Stool Mini Kit. [acesso em 30 out 2019]. Disponível em: <https://www.qiagen.com/dk/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-dna-stool-mini-kit/>.
82. Zoetendal EG, Heilig HG, Klaassens ES, Booijink CC, Kleerebezem M, Smidt H, et al. Isolation of DNA from bacterial samples of the human gastrointestinal tract. *Nat Protoc.* 2006; 1(2):870–3.

83. Naldi L, Svensson A, Diepgen T, Elsner P, Grob JJ, Coenraads PJ, et al. Randomized clinical trials for psoriasis 1977-2000: the EDEN survey. *J Invest Dermatol* 2003; 120(5):738-41.
84. Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis – oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 1978; 157(4):238-44.
85. Langley RG, Ellis CN. Evaluating psoriasis with Psoriasis Area and Severity Index, Psoriasis Global Assessment, and Lattice System Physician's Global Assessment. *J Am Acad Dermatol*. 2004; 51(4):563-9.
86. Finlay AY, Khan GK. Dermatology Life Quality Index (DLQI) – a simple practical measure for routine clinical use. *Clin Exp Dermatol* 1994; 19(3):210-6.
87. Zogbi H, Muller MC, Protas JS, Kieling CM, Driemeir FM. Adaptação e validação DLQI (Dermatology Life Quality Index) para uma amostra brasileira: avaliando qualidade de vida em dermatologia. *PsiquWeb* [periódico on-line]. [acesso em 23 abril 2020]. Disponível em: <http://www.virtualpsy.org>.
88. Finlay AY. Current severe psoriasis and the rule of tens. *Br J Dermatol*. 2005; 152(5):861-7.
89. Schons KRR, Knob CF, Murussi N, Beber AAC, Neumaier W, Monticielo OA. Psoríase ungueal: uma revisão da literatura. *An Bras Dermatol*. 2014; 89(2):317-22.
90. Ibrahim GH, Buch MH, Lawson C, Waxman R, Helliwell PS. Evaluation of an existing screening tool for psoriatic arthritis in people with psoriasis and the development of a new instrument: the Psoriasis Epidemiology Screening Tool (PEST) questionnaire. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(3):469-74.
91. Mazzotti NG, Palominos PE, Bredemeier M, Kohem CL, Cestari TF. Cross-cultural validation and psychometric properties of the Brazilian Portuguese version of the Psoriasis Epidemiology Screening Tool (PEST-bp). *Arch Dermatol Res*. 2020; 312(3):197-206.
92. World Health Organization [homepage na internet]. Obesity. [acesso em 06 nov 2019]. Disponível em: <https://www.who.int/topics/obesity/en/>.
93. 1ª Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento de Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol* 2005; 84(1Supl.1):1-28.
94. Malachias MVB, Souza WKSB, Plavnik FL, Rodrigues CIS, Brandão AA, Neves MFT, et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol* 2016; 107(3Supl.3):1-83.

95. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. *Arq Bras Cardiol* 2017; 109(2Supl.1):1-76
96. Sociedade Brasileira de Hepatologia [homepage na internet]. Doença hepática gordurosa não alcoólica. [acesso em 06 nov 2019]. Disponível em: http://www.sbhepatologia.org.br/pdf/Consenso_DHGNA_da_SBH-2015.pdf.
97. Zhou H, He K, Chen J, Zhang X. LinDA: linear models for diferencial abundance analysis of microbiome compositional data. *Genome Biol.* 2022;23(1):95.
98. Martin BD, Witten D, Willis AD. Modeling microbial abundances and dysbiosis with beta-binomial regression. *Ann Appl Stat.* 2020;14(1):94-115.
99. Love M, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genom Biol.* 2014;15(12):550.
100. Stoll ML. Gut microbes, immunity, and spondyloarthritis. *Clin Immunol.* 2015; 159(2):134-42.
101. Rath HC, Herfarth HH, Ikeda JS, et al. Normal luminal bactéria, especially *Bacteroides* species, mediate chronic colitis, gastrites, and arthritis in HLA-B27/human beta2 microglobulin transgenic rats. *J Clin Invest.* 1996; 98:945-53.
102. Ruutu M, Thomas G, Steck R, et al. Beta-glucan triggers spondyloarthritis and Crohn's disease-like ileitis in SKG mice. *Arthritis and Rheumatism.* 2012; 64:2211-22.
103. Rehaume LM, Mondot S, Aguirre de Carcer D, et al. ZAP-70 genotype disrupts the relationship between microbiota and host, leading to spondyloarthritis and ileitis in SKG mice. *Athritis & Rheumatology.* 2014; 66:2780-92.
104. Rosenbaum JT, Davey MP. Time for a gut check: Evidence for the hypothesis tha HLA-B27 predisposes to ankylosing spondylitis by altering the microbiome. *Arthritis Rheum.* 2011;63(11):3195-8.
105. Bengtsson K, d'Elia HF, Deminger A, Klingberg E, Dehlin M, Exarchou S, et al. Incidence of extra-articular manifestations in ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis and undifferentiated spondyloarthritis: results from a national register-based cohort study. *Rheumatology (Oxford).* 2021;60(6):2725-34.

106. Scarpa R, Manguso F, D'Arienzo A, D'Armiento FP, Astarita C, Mazzacca G, et al. Microscopic inflammatory changes in colon of patients with both active psoriasis and psoriatic arthritis without bowel symptoms. *J Rheumatol.* 2000;27:1241–6.
107. Stebbings S, Munro K, Simon MA, Tannock G, Harmsen H, Welling G, et al. Comparison of the faecal microflora of patients with ankylosing spondylitis and controls using molecular methods of analysis. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(12):1395-401.
108. Rodrigues, RAT. Mapeamento do microbioma intestinal de brasileiros saudáveis pela técnica de sequenciamento genético Shallow Shotgun. [dissertação de mestrado na internet]. Belo Horizonte (Brasil): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina; 2023. [citada 2024 Jan 9]. 83 p. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/58940>.
109. Hidalgo-Cantabrana C, Gómez J, Delgado S, Requena-López S, Queiro-Silva R, Margolles A, et al. Gut microbiota dysbiosis in a cohort of patients with psoriasis. *Br J Dermatol.* 2019;181(6):1287-95.
110. Shapiro J, Cohen NA, Shalev V, Uzan A, Koren O, Maharshak N. Psoriatic patients have a distinct structural and functional fecal microbiota compared with controls. *J Dermatol.* 2019;46(7):595-603.
111. Tan L, Zhao S, Zhu W, WU L, Li J, Shen M, et al. The akkermansia muciniphilia is a gut microbiota signature in psoriasis. *Exp Dermatol.* 2018;27(2):144-9.
112. Chen YJ, Ho HJ, Tseng CH, Lai ZL, Shieh JJ, Wu CY. Intestinal microbiota profiling and predicted metabolic dysregulation in psoriasis patients. *Exp Dermatol.* 2018;27(12):1336-43.
113. Huang L, Gao R, Yu N, Zhu Y, Ding Y, Qin H. Dysbiosis of gut microbiota was closely associated with psoriasis. *Sci China Life Sci.* 2019;62(6):807-15.
114. Yegorov S, Babenko D, Kozhakhmetov S, Akhmaltdinova L, Kadyrova I, Nurgozhina A, et al. Psoriasis is associated with elevated gut IL-1alpha and intestinal microbiome alterations. *Front Immunol.* 2020;11:571319.
115. Codoñer FM, Ramírez-Bosca A, Climent E, Carrión-Gutiérrez M, Guerrero M, Pérez-Orquín JM, et al. Gut Microbial composition in patients with psoriasis. *Sci Rep.* 2018;8(1):3812.

116. Shade L, Mesa D, Faria AR, Santamaria JR, Xavier CA, Ribeiro D, et al. The gut microbiota profile in psoriasis: a Brazilian case-control study. *Lett Appli Microbiol.* 2022;74(4):498-504.
117. Massalat D, Moemen D, State AF. Gut bacterial microbiota in psoriasis: A case controlle study. *Afr J Microbiol Res.* 2016;10(33):1337-43.
118. Wexler HM, Sutterella wadsworthensis gen. nov., sp. nov., bile-resistant microaerophilic *Campylobacter gracilis*-like clinical isolates. In *J Syst Bacteriol.* 1996;46(1):252-8.
119. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, Walsh AJ, Bogaerde J, et al. Multidonor intensive fecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet.* 2019;389(10075):1218-28.
120. Paramsothy S, Nielsen S, Kamm MA, Deshpande NP, Faith JJ, Clomente JC, et al. Specific bacteria and metabolites associated with response to fecal microbiota transplantation in patients with ulcerative colitis. *Gastroentereol.* 2019;156(5):1440-54
121. Kaakoush NO. Sutterella Species, IgA-degrading Bacteria in Ulcerative Colitis. *Trends Microbiol.* 2020;28(7):519-22.
122. Polo TCF, Lai MRR, Miot LDB, Bento GFC, Silva MG, Marques SA, Miot HA. Intestinal microbiome characterization of adult Brazilian men with psoriasis compared to omnivore and vegetarian controls. *An Bras Dermatol.* 2023; 98(5):635-43.
123. Haroon M, Gallagher P, FitzGerald O. Diagnostic delay of more than 6 months contributes to poor radiographic and funcional outcome in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2015; 74(6): 1045-50.
124. Christophers E, Barker JNWN, Griffiths CEM, Daudén E, Milligan G, Molta C, et al. The risk of psoriatic arthritis remains constant following initial diagnosis of psoriasis among patients seen in European dematology clinics. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010; 24(5): 548-54.
125. Gottlieb AB, Merola JF. Psoriatic arthritis for dermatologists. *J Dermatol Treat.* 2020; 31(7): 662-79.
126. Scher JU, Ogdie A, Merola JF, Ritchiling C. Preventing psoriatic arthritis: focusing on patients with psoriasis at increased risk of transition. *Nat Rev Rheumatol.* 2019; 15(3): 153-66.

127. Helliwell PS. Psoriasis Epidemiology Screening Toll (PEST): a report from GRAPPA 2009 annual meeting. *J Rheumatol.* 2018;38(3): 551–552;
128. Gialouri CG, Evangelatos G, Pappa M, Karamanakis A, Iliopoulos A, Tektonidou MG, et al. Normal-C-reactive protein in active psoriatic arthritis: results from real-world clinical practice. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2022 14:1759720X221122417.
129. D'Angelo S, Palazzi C, Gilio M, Leccese P, Padula A, Olivieri I. Improvements in diagnostic tools for early detection of psoriatic arthritis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2016; 12(11):1209-15.
130. Gutierrez M, Draghessi A, Bertolazzi C, Erre GL, Saldarriaga-Rivera LM, López-Reyes A, et al. Ultrasound in psoriatic arthritis. Can it facilitate a best routine practice in the diagnosis and management of psoriatic arthritis? *Clin Rheumatol* 2015; 34(11):1847-55.
131. Colebatch AN, Edwards CJ, Ostergaard M, van der Heijde D, Balint PV, et al. EULAR recommendations for the use of imaging of the joints in the clinical management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2013; 72(6): 804-14.
132. Mandl P, Navarro-Compán V, Terslev L, Aegerter P, van der Heijde D, D'Agostino MA, et al. EULAR recommendations for the use of imaging in the diagnosis and management of spondyloarthritis in clinical practice. *Ann Rheum Dis* 2015; 74(7):1327-39.
133. Chen ZT, Chen RF, Li XL, Wang Q, Ren WW, Shan DD, et al. The role of ultrasound in screening subclinical psoriatic arthritis in patients with moderate to severe psoriasis. *Eur Radiol.* 2023; 33(6):3943-53.
134. Gutierrez M, Kaeley GS, Bertolazzi C, Pineda C. State of the art of ultrasound in the assessment of psoriasis and psoriatic arthritis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017; 13(5):439-47.
135. Mills RH, Dulai PS, Vázquez-Baeza Y, Saucedo C, Daniel N, Gerner RR, et al. Multi-omics analyses of the ulcerative colitis gut microbiome link *Bacteroides vulgatus* proteases with disease severity. *Nat Microbiol.* 2022; 7(2):262-76.
136. Ling CY, Hsu CY, He HR, Chiang WY, Lin SH, Huang YL, et al. Gut microbiota differences between psoriatic arthritis and other undifferentiated arthritis: A pilot study. (Baltimore). 2022; 101(28):e29870.

137. Manasson J, Wallach DS, Guggino G, Stapylton M, Badri MH, Solomon G, et al. Interleukin-17 Inhibition in Spondyloarthritis Is Associated With Subclinical Gut Microbiome Perturbations and a Distinctive Interleukin-25-Driven Intestinal Inflammation. *Arthritis Rheumatol.* 2020;72(4):645-57.
138. Xiao Y, Wang Y, Tong B, Gu Y, Zhou X, Zhu N, et al. *Eubacterium rectale* is a potential marker of altered gut microbiota in psoriasis and psoriatic arthritis. *Microbiol Spectr.* 2024; 12:e01154-23
139. Jha AR, Davenport ER, Gautam Y, Bhandari D, Tandukar S, KM Ng, et al. Gut microbiome transition across a lifestyle gradient in Himalaya. *PLoS Biol.* 2018;16(11):e2005396.
140. Turnbaugh P, Ley R, Hamady M, Fraser-Ligget CM, Knight R, Fordon JI. The human microbiome project. *Nature.* 2007;449(7164):804-10.

10. APENDICES

10.1. APENDICE 1:

TCLE

AVALIAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE PSORÍASE

Você possui uma doença conhecida como psoríase. Você está sendo convidado para participar de uma pesquisa envolvendo pacientes com psoríase em acompanhamento no ambulatório de dermatologia do Hospital de Dermatologia Sanitária Santa Tereza - SES/SC. Este termo será lido em conjunto com o médico pesquisador, após sua consulta médica. Você terá no mínimo 7 dias para pensar a respeito da sua participação. Somente após pensar adequadamente a respeito e esclarecer suas dúvidas, este termo deve ser assinado.

OBJETIVO: O objetivo do estudo é avaliar a composição das bactérias naturalmente presentes no intestino de pacientes com psoríase e sem psoríase.

PROCEDIMENTOS: Você passará por consulta médica de rotina habitual, envolvendo a entrevista médica (anamnese) e o exame clínico-dermatológico, com duração de cerca de 40 a 45 minutos. A entrevista médica habitual será complementada por questionários a respeito de sua doença. Estes questionários serão preenchidos em conjunto e sob orientação do médico pesquisador. O preenchimento do questionário pode demorar 10 minutos. Até este ponto, trata-se de uma avaliação normal no tratamento de qualquer paciente nesta mesma situação, ou seja, seria realizado independente da participação ou não do estudo.

Você será informado sobre o estudo e, após tirar todas as suas dúvidas, caso concorde, você será solicitada a assinar este termo de consentimento. Seus dados, junto com este termo, serão arquivados em fichas próprias e serão confidenciais.

A avaliação das bactérias intestinais, objetivo do estudo, é realizada por meio de exame de fezes. A coleta das fezes será realizada pelo próprio paciente, em casa, sendo entregue ao médico pesquisador conforme orientação. O transporte das

amostras ao laboratório de processamento será realizado/custeado pelo médico pesquisador.

DESCONFORTOS E RISCOS: Você poderá desistir do exame de fezes caso sinta-se constrangido, desconfortável ou incomodado. A coleta do exame de fezes pode gerar algum desconforto. Não há risco qualquer de contaminação. O estudo avaliará bactérias presentes no intestino de qualquer ser humano. Você não receberá nenhum medicamento oral ou injetável.

POSSÍVEIS BENEFÍCIOS: Você não terá benefícios diretos participando desse estudo. Caso participe, você estará ajudando os pesquisadores a entenderem melhor a psoríase e sua possível relação com as bactérias que habitam o intestino. Assim, acreditamos que seus dados poderão ajudar no estudo e no entendimento da sua doença e de outros pacientes com o mesmo problema. Não há remuneração para a sua participação. Os cuidados médicos que você receberá serão os mesmos, caso você participe ou não.

DESISTÊNCIA: A participação nesse estudo é totalmente voluntária. Se você desejar se retirar a qualquer momento, favor entrar em contato com o pesquisador principal. Isso não irá interferir nos seus cuidados médicos atuais e futuros no hospital. É importante que fique claro que, mesmo que você opte por não participar, por quaisquer que sejam os motivos, sem atendimento/tratamento/seguimento médico ambulatorial será mantido, enquanto for necessário.

GARANTIA DE ACESSO: Você não será obrigado a participar deste estudo. Você pode deixá-lo a qualquer momento, sem ter que fornecer as razões para tanto. Sua decisão não afetará seu direito à assistência médica. Caso você tenha interesse em participar da pesquisa, você se comprometerá em realizar a avaliação, o exame clínico, exame de sangue e fezes. Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial. Os resultados dos seus exames serão armazenados para análise estatística. Em qualquer etapa do estudo você terá acesso ao pesquisador responsável Gustavo Moreira Amorim através dos telefones fixos (48) 33783309 e (48) 33783311 e celular (48) 999827097 ou e-mail

gustavomoreiraamorim@hotmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Secretaria do Estado de Saúde de Santa Catarina. Rua Esteves Júnior, 106, Centro, Florianópolis – SC, 88015-130. Telefone do CEP-SES/SC: (48) 3664-7218 / (48) 3663-7242. Horário de atendimento: das 13h00min às 18h30min. E-mail: cepses@saude.sc.gov.br.

PRIVACIDADE E CONFIDENCIALIDADE: Seu nome jamais será utilizado em trabalhos científicos ou apresentações, ficando assegurado o anonimato de sua identidade. O pesquisador se comprometerá a utilizar os dados e o material coletado somente para a pesquisa. Os dados colhidos dos prontuários serão somente os referentes às variáveis previstas na pesquisa e apenas poderão ser utilizados para o projeto ao qual se vinculam.

Os resultados dos exames e a avaliação dos prontuários serão de competência e responsabilidades dos pesquisadores envolvidos no projeto e não será permitido o acesso a terceiros (empregadores, superiores hierárquicos), garantido a proteção contra qualquer tipo de discriminação e ou estigmatização. Você terá o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores. Os dados coletados serão utilizados somente para esta pesquisa e não serão compartilhados com outros pesquisadores nem em outras pesquisas. Da mesma forma, a utilização do material biológico será apenas para esta pesquisa, não sendo utilizado em nenhum outro estudo.

DESPESAS E COMPENSAÇÕES: Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, o pesquisador responsável se responsabilizará por oferecer assistência integral.

CONHECIMENTO DOS RESULTADOS DA PESQUISA: Os resultados dos exames propostos, em conjunto com o resultado geral da pesquisa, serão informados a você pelo médico pesquisador, caso deseje, em consultas médicas de seguimento. Esta informação preservará a sua identidade e a dos demais pacientes que livremente decidirem participar.

CONSENTIMENTO: Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim. Eu discuti com o médico pesquisador Gustavo Moreira Amorim sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma via desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na última folha.

Florianópolis, ____ de _____ de 20__

Nome do Paciente e Assinatura do Paciente

Testemunha

Dr. Gustavo Moreira Amorim

Médico Pesquisador Responsável

10.2. APÊNDICE 2

TCLE**AVALIAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL EM PACIENTES
SAUDÁVEIS**

Você está sendo convidado para participar de uma pesquisa envolvendo pacientes com psoríase e pacientes saudáveis (sem psoríase) em acompanhamento no ambulatório do Hospital de Dermatologia Sanitária Santa Tereza - SES/SC. Você terá no mínimo 7 dias para pensar a respeito da sua participação. Somente após pensar adequadamente a respeito e esclarecer suas dúvidas, este termo deve ser assinado.

OBJETIVO: O objetivo do estudo é avaliar a composição das bactérias naturalmente presentes no intestino de pacientes com psoríase e sem psoríase.

PROCEDIMENTOS: Você passará por consulta médica de rotina habitual, envolvendo a entrevista médica (anamnese) e o exame clínico-dermatológico, com duração de cerca de 40 a 45 minutos. Até este ponto, trata-se de uma avaliação dermatológica normal, ou seja, seria realizado independente da participação ou não do estudo.

Você será informado sobre o estudo e, após tirar todas as suas dúvidas, caso concorde, você será solicitada a assinar este termo de consentimento. Seus dados, junto com este termo, serão arquivados em fichas próprias e serão confidenciais.

A avaliação das bactérias intestinais, objetivo do estudo, é realizada por meio de exame de fezes. A coleta das fezes será realizada pelo próprio paciente, em casa, sendo entregue ao médico pesquisador conforme orientação. O transporte das amostras ao laboratório de processamento será realizado/custeado pelo médico pesquisador.

DESCONFORTOS E RISCOS: Você poderá desistir do exame de sangue ou fezes caso sinta-se constrangido, desconfortável ou incomodado. A coleta do exame de fezes pode gerar algum desconforto. Não há risco qualquer de contaminação. O

estudo avaliará bactérias presentes no intestino de qualquer ser humano. Você não receberá nenhum medicamento oral ou injetável.

POSSÍVEIS BENEFÍCIOS: Você não terá benefícios diretos participando desse estudo. Caso participe, você estará ajudando os pesquisadores a entenderem melhor a relação entre as bactérias que habitam o intestino e sua possível relação com sistema imunológico. Assim, acreditamos que seus dados poderão ajudar no estudo, no entendimento da doença psoríase e mesmo do conhecimento da influência destas bactérias em indivíduos sem a doença. Não há remuneração para a sua participação. Os cuidados médicos em nossa instituição que você receberá serão os mesmos, caso você participe ou não.

DESISTÊNCIA: A participação nesse estudo é totalmente voluntária. Se você desejar se retirar a qualquer momento, favor entrar em contato com o pesquisador principal. Isso não irá interferir nos seus cuidados médicos atuais e futuros no hospital. É importante que fique claro que, mesmo que você opte por não participar, por quaisquer que sejam os motivos, sem atendimento/tratamento/seguimento médico ambulatorial será mantido, enquanto for necessário.

GARANTIA DE ACESSO: Você não será obrigado a participar deste estudo. Você pode deixá-lo a qualquer momento, sem ter que fornecer as razões para tanto. Sua decisão não afetará seu direito à assistência médica. Caso você tenha interesse em participar da pesquisa, se comprometerá em realizar a avaliação, o exame clínico e o exame de fezes. Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial. Os resultados dos seus exames serão armazenados para análise estatística. Em qualquer etapa do estudo você terá acesso ao pesquisador responsável Gustavo Moreira Amorim através dos telefones fixos (48) 33783309 e (48) 33783311 e celular (48) 999827097 ou e-mail gustavomoreiraamorim@hotmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Secretaria do Estado de Saúde de Santa Catarina. Rua Esteves Júnior, 106, Centro, Florianópolis – SC, 88015-130. Telefone do CEP-SES/SC: (48) 3664-7218 / (48) 3663-7242. Horário de atendimento: das 13h00min às 18h30min. E-mail: cepses@saude.sc.gov.br.

PRIVACIDADE E CONFIDENCIALIDADE: Seu nome jamais será utilizado em trabalhos científicos ou apresentações, ficando assegurado o anonimato de sua identidade. O pesquisador se comprometerá a utilizar os dados e o material coletado somente para a pesquisa. Os dados colhidos dos prontuários serão somente os referentes às variáveis previstas na pesquisa e apenas poderão ser utilizados para o projeto ao qual se vinculam.

Os resultados dos exames e a avaliação dos prontuários serão de competência e responsabilidades dos pesquisadores envolvidos no projeto e não será permitido o acesso a terceiros (empregadores, superiores hierárquicos), garantido a proteção contra qualquer tipo de discriminação e ou estigmatização. Você terá o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores. Os dados coletados serão utilizados somente para esta pesquisa e não serão compartilhados com outros pesquisadores nem em outras pesquisas. Da mesma forma, a utilização do material biológico será apenas para esta pesquisa, não sendo utilizado em nenhum outro estudo.

DESPESAS E COMPENSAÇÕES: Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, o pesquisador responsável se responsabilizará por oferecer assistência integral.

CONHECIMENTO DOS RESULTADOS DA PESQUISA: Os resultados dos exames propostos, em conjunto com o resultado geral da pesquisa, serão informados a você pelo médico pesquisador, caso deseje, em consultas médicas de seguimento. Esta informação preservará a sua identidade e a dos demais pacientes que livremente decidirem participar.

CONSENTIMENTO: Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim. Eu discuti com o médico pesquisador Gustavo Moreira Amorim sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento

hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma via desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na última folha.

São Pedro de Alcântara, ____ de _____ de 20__

Nome do Paciente e Assinatura do Paciente

Testemunha

Dr. Gustavo Moreira Amorim

Médico Pesquisador Responsável

10.3. APÊNDICE 3

CRONOGRAMA

Quadro 2 – Cronograma de elaboração da pesquisa.

Etapa:	Data de início:	Data de saída:
Revisão Bibliográfica	20/03/2020	20/03/2024
Elaboração do Projeto de Pesquisa	20/03/2020	01/04/2020
Submissão ao CEP	08/07/2020	30/07/2020
Retorno/Correções pós parecer CEP	30/07/2020	28/08/2020
Coleta de dados (Após aprovação do CEP)	01/10/2020	30/06/2022
Análise e Tabulação dos Dados	03/01/2022	30/06/2023
Análise Estatística	01/07/2022	30/06/2023
Redação do Texto do Trabalho de Pesquisa	01/08/2022	29/09/2023
Preparação do Manuscrito para Publicação	02/10/2023	31/10/2023
Qualificação para Defesa de Tese	01/02/2024	28/02/2024
Defesa de Tese	01/03/2024	31/03/2024

10.4. APÊNDICE 4:

ORÇAMENTO:

Quadro 3 – Orçamento de elaboração da pesquisa.

Material	Quantidade	Valor Unitário	Total
Folhas A4	5000	R\$ 0,10	R\$ 500,00
Fotocópias:			
1) Artigos	2000	R\$ 0,20	R\$ 400,00
2) Projeto + Instrumento de Coleta de dados	5000	R\$ 0,20	R\$ 1000,00
3) Tese	1000	R\$ 0,20	R\$ 200,00
Encadernação:			
1) Projeto	10	R\$ 30,00	R\$ 300,00
2) Tese	10	R\$ 60,00	R\$ 600,00
VHS e PCR	30	R\$ 0,0*	R\$ 0,0
USG	30	R\$ 0,0**	R\$ 0,0
Exames de Sequenciamento de DNA (Biologia Molecular)	60	R\$ 300,00	R\$ 18.000,00
Total			21.000,00

* Parceria com laboratório central do estado que atende ao hospital a qual pertence o ambulatório de psoríase.

** Realização em consultório médico privado, sem custo, pelo médico reumatologista parceiro na realização deste projeto.

Os insumos utilizados foram de responsabilidade dos pesquisadores envolvidos nesta tese.

10.5. APÊNDICE 5

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS:

Quadro 4 – Instrumento de coleta de dados.

1) Dados demográficos:

Número de Prontuário:	
Gênero:	Masculino () Feminino ()
Idade (Anos):	
Data de Nascimento:	____ / ____ / ____
Cor (autodeclarada):	Branco () Pardo () Negro ()
Naturalidade:	
Profissão:	

2) Quadro Clínico/Características da doença:

Data do 1º Atendimento:	____ / ____ / ____
Tempo de Evolução da doença (Anos):	
Idade (Anos) ao Diagnóstico:	
Exame Dermatológico:	
<ul style="list-style-type: none"> - Topografia: <ul style="list-style-type: none"> 1. Superfícies extensoras: SIM () NÃO () 2. Flexuras: SIM () NÃO () 3. Palmas e plantas: SIM () NÃO () 4. Sulco interglúteo: SIM () NÃO () 5. Região genital: SIM () NÃO () 6. Couro cabeludo: SIM () NÃO () 7. Psoríase ungueal: SIM () NÃO () - Padrão Clínico: <ul style="list-style-type: none"> 1. Vulgar clássica: SIM () NÃO () - Classificação de Gravidade: <ul style="list-style-type: none"> 1. BSA: _____ 2. PASI: _____ 	

3. DLQI:	_____
História Mórbida Progressiva (Diagnosticadas, em tratamento):	
- Obesidade:	SIM () NÃO ()
- SM	SIM () NÃO ()
- HAS:	SIM () NÃO ()
- DM:	SIM () NÃO ()
- DLP:	SIM () NÃO ()
- Esteatose Hepática:	SIM () NÃO ()
- Cardiopatia:	SIM () NÃO ()
Hábitos de vida:	
- Tabagismo:	SIM () NÃO ()
- Sedentarismo:	SIM () NÃO ()
Exame Clínico:	
- Peso(kg): _____ - Altura(cm): _____ - IMC: _____ - C.A.(cm): _____	
- PA(mmHg): ____/____	

3) Artrite Psoriática:

Sintomas:	
1. Dor Articular:	SIM () NÃO ()
2. Edema Articular:	SIM () NÃO ()
3. Rigidez Matinal:	SIM () NÃO ()
4. Alteração Funcional:	SIM () NÃO ()
5. História de Dactilite:	SIM () NÃO ()
6. Dor lombar	SIM () NÃO () / Pior pela manhã? Acorda a noite c/dor? Melhora com movimento?
Uso de AINEs:	SIM () NÃO () Qual? Dose: _____ Tempo: _____
Uso de CEs:	SIM () NÃO () Qual? Dose: _____ Tempo: _____
Diagnóstico definitivo:	SIM () NÃO ()
- Padrão de Acometimento:	Oligoartrite de grandes articulações ()

<ul style="list-style-type: none"> - DAPSA - BASDAI 	Poliartrite de peq. articulações () Interfalangianas distais () Entesite () Espondiloartrite () <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>
---	---

4) Exames complementares:

Exames laboratoriais: <ul style="list-style-type: none"> - VHS: - PCR: 	<hr/> <hr/>
Exames radiológicos (AP): <ul style="list-style-type: none"> - Descrição sumária dos achados radiológicos 	<hr/>
Exame do microbioma intestinal (PCR):	SIM () NÃO () <hr/> <hr/>

10.6. APÊNDICE 6:

Quadro 5: Compilado dos principais achados dos artigos consultados

Autor e ano	N:	Técnica de extração e amplificação de DNA:	Principais achados:	Conclusões:
Scher, et al. 2015 ⁵⁸	N = 48 (16 APso*, 15 Pso, 17 Controles) *Artrite Psoriática de início recente, nunca tratados com DMARDs ou Corticoides; Duração média de doença 0.8 meses; PASI médio de 6.3 (EUA)	Gene 16S rRNA, regiões V1/V2, extraído e amplificado de amostras de fezes	Diversidade reduzida (Índice de Shannon) em APso e Pso vs. Controles; níveis reduzidos em análise de abundância relativa de: <i>Akkermansia</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Pseudobutyrvibrio</i> , <i>Parabacteroides</i> , <i>Alistipes</i> e <i>Coprococcus</i> (APso + Pso x Controles); redução de <i>Firmicutes</i> , <i>Clostridiales</i> e <i>Verrucomicrobiales</i> entre pacientes com APso vs. Pso, além de aumento de <i>Bacteroidetes</i> entre os pacientes com APso	APso e Pso tem diversidade reduzida às custas da redução da expressão de vários componentes do microbioma, em diferentes níveis taxonômicos. <i>Akkermansia</i> e <i>Ruminococcus</i> estão reduzidos de forma significativa em APso, lembrando padrão de disbiose previamente descrito em doença inflamatória intestinal
Massalat, et al. 2016 ¹¹⁷	N = 90 (45 Pso / 45 controles pareados por idade, gênero e	PCR para o gene 16S rRNA em amostras de	<i>Firmicutes</i> foi o filo predominante em pacientes com psoríase (83%), enquanto <i>Bacteroidetes</i> e <i>Actinobacterial</i> responderam por 9.2 e 2.8%,	Diferente composição dos 3 filios predominantes nos pacientes com Pso, quando comparados aos controles. Razão Firmicutes/Bacteroidetes estava

	IMC); PASI médio de 11 (Egito)	fezes; com <i>primers</i> para 3 filos dominantes: <i>Bacteroidetes</i> , <i>Firmicutes</i> , e <i>Actinobacterial</i>	respectivamente	aumentada em Psoríase e se correlacionou positivamente com a gravidade da doença (PASI)
Codoñer, et al. 2018 ¹¹⁵	N = 53 Pso (Psoríase em placas); PASI ≥ 6 (PASI médio de 13.3); sem tratamento sistêmico nos últimos 3 meses; comparados com 300 amostras do banco do Projeto Microbioma Humano (Espanha)	Gene 16S rRNA, regiões V3/V4, extraído e amplificado de amostras de fezes, além de amplificação de fragmentos de DNA bacteriano em amostras de sangue periférico venoso	Maior variabilidade/diversidade entre pacientes com Pso (Índice de Shannon); Redução do gênero <i>Bacteroides</i> entre pacientes e aumento de <i>Faecalibacterium</i> , <i>Akkermansia</i> spp. e <i>Ruminococcus</i> entre os pacientes.	Aumento de <i>Faecalibacterium</i> , <i>Akkermansia</i> spp. em Pso.
Tan, et	N = 28 (14 Pso e	Gene 16S	Não houve diferença de alfa-diversidade	<i>Akkermansia muciniphila</i> estava muito reduzida

<p>al. 2018¹¹¹</p>	<p>14 Controles); Não foram expostas características clínicas epidemiológicas da amostra; não se tem ideia, por exemplo, da gravidade da doença psoriásica (China)</p>	<p>rRNA, região V4, extraído e amplificado de amostras de fezes</p>	<p>(índices de Chaos e Shannon). Entretanto, houve diferença entre os grupos quando analisada beta-diversidade. O gênero <i>Akkermansia</i> foi menos abundante, enquanto <i>Enterococcus</i> e <i>Bacteroides</i> mostraram-se aumentados nos pacientes com Pso. Entre as espécies, demonstrada menor expressão de <i>Akkermansia muciniphila</i> e aumento da expressão de <i>Clostridium citroniae</i> entre os doentes</p>	<p>entre os pacientes, caracterizando, na opinião dos autores, o microbioma intestinal dos pacientes com Pso</p>
<p>Chen, et al. 2018¹¹²</p>	<p>N = 96 (32 Pso em placa / 64 controles pareados por idade e gênero); 41% com PASI ≥ 10 (21.8% PASI ≥ 20); não restringindo o uso de tratamento sistêmico (62.5% em uso de</p>	<p>Gene 16S rRNA, regiões V3 e V4, extraído e amplificado de amostras de fezes</p>	<p>Não se demonstrou diferença em Alfa-diversidade (índice de Shannon) entre os grupos; diminuição de <i>Bacteroidetes</i> e aumento de <i>Firmicutes</i> em Pso; diminuição de <i>Bacteroidaceae</i>, <i>Prevotellaceae</i> e aumento de <i>Ruminococcaceae</i> e <i>Lachnospiraceae</i> families foram documentados em Pso; diminuição também de <i>Akkermansia</i>; Entre os gêneros, diminuição de <i>Prevotellae</i>, <i>Paraprevotella</i> e <i>Sutterella spp.</i> e Pso</p>	<p>Aumento da razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> (F/B) em Pso. Correlação positiva da disbiose encontrada com obesidade e uso de DMARDs</p>

	DMARDs (Taiwan)			
Huang, et al. 2019 ¹¹³	N = 62 (35 Pso / 27 Controles) Entre os pacientes, 7 Pso em placas, 8 Pso Pustulosa, 7 APso e 4 com Pso Eritrodérmica; 12/35 tinham Pso grave (China)	Gene 16S rRNA, regiões V4 e V5, extraído e amplificado de amostras de fezes	Suposta menor diversidade entre os pacientes, porém não estatisticamente significativa (Índices de Shannon e Simpson). Entretanto, houve diferenças de agrupamentos do microbioma – beta-diversidade (Índice de dissimilaridade de Bray-Curtis). <i>Firmicutes</i> foi o filo predominante em ambos os grupos, com aumento de <i>Bacteroidetes</i> em Pso ($p < 0,0001$). Aumento do gênero <i>Bacterioides</i> em Pso	Maior abundância relativa de <i>Bacteroidetes</i> em Pso, enquanto <i>Firmicutes</i> predominou entre os controles; portanto com menor razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> entre os pacientes. Na impressão dos autores, <i>Bacteroidetes</i> estariam intimamente ligados à doença psoriásica, inclusive podendo servir de antígenos relacionados à doença
Hidalgo-Cantabrana, et al. 2019 ¹⁰⁹	N = 39 (19 Pso / 20 controles pareados por idade e gênero, provenientes da mesma área geográfica. Tempo médio de duração da Pso: 25 anos, com PASI	Gene 16S rRNA, regiões V4 e V5, extraído e amplificado de amostras de fezes	Diversidade diminuída em Pso (Índices de Chaos e Shannon); e diferenças significativas quando ao agrupamento quando comparados os grupos (Permanova). Os filós <i>Actinobacteria</i> e <i>Firmicutes</i> estavam aumentados em Pso; entretanto <i>Bacteroidetes</i> e <i>Proteobacteria</i> diminuídos; Nas famílias, predominaram em Pso <i>Blautia</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Collinsella</i> e <i>Slackia</i> . Novamente, em contrapartida, <i>Bacteroides</i> ,	Aumento da razão Firmicutes/Bacteroidetes em pacientes com Pso; <i>Faecalibacterium</i> de fato diminuído em Pso, enquanto <i>Akkermansia</i> não mostrou diferença entre os grupos;

	médio de 12.19 (Espanha)		<i>Parabacteroides</i> , <i>Barnesiella</i> , <i>Alistipes</i> e <i>Paraprevotella</i> estavam diminuídos. Por fim, a nível de gênero, <i>Ruminococcus</i> e <i>Subdoligranulum</i> aumentados e <i>Faecalibacterium</i> diminuído.	
Shapiro, et al. 2019 ¹¹⁰	N = 46 (24 Pso / 22 controles pareados por idade). Gravidade da psoríase não foi avaliada, porém apenas 2/22 estavam recebendo tratamento sistêmico (Israel)	Gene 16S rRNA, região V4, extraído e amplificado de amostras de fezes	Só houve alteração estatisticamente significativa das comunidades de genes bacterianos em termos de beta-diversidade (análise UniFrac). Houve uma maior abundância de <i>Firmicutes</i> e <i>Actinobacteria</i> em Pso, com diminuição relativa de <i>Bacteroidetes</i> e <i>Proteobacteria</i> ; houve diferença estatisticamente significativa em 11 gêneros, quando comparados os grupos; em termos de espécies, houve um aumento significativo de <i>Ruminococcus gnavus</i> , <i>Dorea formicigenerans</i> e <i>Collinsella aerofaciens</i> no grupo de doentes, enquanto que foi identificada aumento de <i>Prevotella copri</i> entre os controles.	Aumento significativo da razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> ; além de uma composição significativamente diferente em gênero e espécie entre os pacientes expostos (Pso) e não expostos (Controles)
Yegorov, et al. 2020 ¹¹⁴	N = 40 (20 Pso / 20 Controles pareados por idade, gênero e IMC). Entre os pacientes com Pso,	Gene 16S rRNA, regiões V1 e V3, extraído e amplificado de	Não houve diferença estatisticamente significativa em termos de alfa-, beta-diversidade e da razão Firmicutes/Bacteroidetes. A análise LefSe identificou 18 unidades taxonômicas operacionais, do inglês <i>operational taxonomic</i>	Pso foi associada, em análise univariada, com alterações do filo <i>Firmicutes</i> , com aumento de <i>Faecalibacterium</i> e diminuição de <i>Oscillibacter</i> e <i>Roseburia</i> .

	17/20 tinham a doença há pelo menos 5 anos; 15/20 tinham a forma em placas e o PASI médio foi de 11.4 (Casaquistão)	amostras de fezes; entretanto apenas 14/20 com Pso e 7/20 Controles coletaram as amostras de fezes	<i>units</i> (OTUs); capazes de discriminar os grupos: doentes e não doentes; todas estas 18 estavam relacionadas ao filo <i>Firmicutes</i> (aumento de <i>Faecalibacterium</i> e diminuição de <i>Oscillibacter</i> and <i>Roseburia</i>). Mas, após análise multivariada, nenhuma permaneceu como estatisticamente significativa	
Manasson, et al. 2020. ¹³⁷	N = 29 (15 APso/Spa tratados com Anti-TNF alfa x 14 APso/Spa tratados com Anti-IL-17 x controles saudáveis); uma pequena parcela da amostra tinha psoríase vulgar, em geral leve (EUA)	Gene 16S rRNA, região V4, extraído e amplificado de amostras de fezes	Não foram identificadas diferenças com significância estatística em termos de alfa diversidade (Índice de Shannon) e beta diversidade (Índice de dissimilaridade de Bray-Curtis). Aumento, pré tratamento, de <i>Clostridiales</i> e <i>Erysuoelotrichales</i> (ordem), além de redução de <i>Bacteroidales</i> (ordem) quando comparados aos controles saudáveis	Aumento da expressão de <i>Clostridiales</i> e <i>Erysuoelotrichal</i> e redução de <i>Bacteroidales</i> nos pacientes com APso/Spa. Redução de <i>Bacteroidales</i> e aumento de <i>Clostridiales</i> entre os pacientes tratados com Anti-TNF alfa após 6 meses. Aumento de <i>Candida albicans</i> e redução de <i>Clostridiales</i> após tratamento com Anti-IL71A
Schade,	N = 45 (21 Pso / 24	Gene 16S	Microbioma menos diverso entre pacientes com	Pacientes com psoríase possuem microbioma

<p>et al. 2022¹¹⁶</p>	<p>Controles pareados por idade, gênero e IMC); 18/21 pacientes tinham Psoríase em placas; o tempo médio de duração de doença foi de 13 anos e o PASI médio de 2.3</p> <p>(Brazil)</p>	<p>rRNA, regiões V3 e V4, extraído e amplificado de amostras de fezes</p>	<p>Pso (alfa-diversidade, Teste de Wilcoxon), com agrupamentos diferentes entre os expostos em relação aos não expostos (beta diversidade, análise PCA plot). Os gêneros <i>Dialister</i>, <i>Catenilbacterium</i> e a espécie <i>Prevotella copri</i> se mostraram aumentados entre pacientes com Pso; já os gêneros <i>Ruminococcus</i>, <i>Lachnospira</i> e <i>Blautia</i> genera, assim como a espécie <i>Akkermansia muciniphila</i> se mostraram diminuídas</p>	<p>menos diversos, com composição significativamente diferente em relação aos controles saudáveis.</p>
<p>Ling, et al. 2022¹³⁶</p>	<p>N = 19 (9 APso / 10 artrite indiferenciada, não psoriásica; pareados por idade e gênero)</p> <p>(Taiwan)</p>	<p>Gene 16S rRNA, extraído e amplificado de amostras de fezes</p>	<p>Maior alfa diversidade entre os portadores de APso (Chao index; $p = 0.014$); diferença significativa em termos de beta diversidade (<i>Partial Least Square Discriminated Analysis</i>), reforçando um agrupamento diferente entre portadores de APso. Pouca diferença de expressão dos filos, com predomínio em APso de <i>Bacteroidetes</i> e <i>Firmicutes</i>; <i>Actinobacteria</i> foi mais comum entre os portadores de APso; Abundância relativa de <i>Megasphaera elsdenii</i> foi significativamente mais alta entre portadores de</p>	<p>Maior alfa diversidade; maior expressão dos filos <i>Bacteroidetes</i>, <i>Firmicutes</i>, <i>Proteobacteria</i> e <i>Actinobacteria</i>, além da espécie <i>Megasphaera elsdenii</i> em APso</p>

			APso.	
Polo, et al. 2023 ¹²²	N = 42 homens (21 Pso, onívoros; 21 controles, sendo 14 onívoros e 7 vegetarianos. Entre os 21 com Pso, 8 tinham APso, 6 apenas tratamento tópico, os demais em tratamento sistêmico com MTX, Acitretina e Secuquinumabe. Mediana de PASI 4 (Brazil)	Gene 16S rRNA, extraído e amplificado de amostras de fezes. Estudaram níveis séricos de proteína ligadora de lipopolissacarídeo (LPB) e PCR	Não houve diferença quanto a alfa-diversidade ($p > 0,05$) ou beta-diversidade. Em termos de abundância, detectou-se menores leituras de Firmicutes entre os paciente com Pso, assim como maior razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> no grupo exposto, porém somente quando comparados com vegetarianos. Os gêneros <i>Prevotella</i> , <i>Mogibacterium</i> , <i>Dorea</i> , <i>Difidobacterium</i> e <i>Corpococcus</i> diferiram quando comparados Pso e Vegetarianos. Já os gêneros <i>Mogibacterium</i> , <i>Collinsella</i> e <i>Desulfovibrio</i> diferiram dos Onívoros sem Pso. A disbiose intestinal relacionada à Pso se associou a maiores níveis de LPB e menor ingestão de fibras	Houve diferenças do microbioma, estatisticamente significativas, quando comparados homens com Pso e homens vegetarianos. Maior razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> foi demonstrada entre portadores de Pso
Xiao, et al. 2024 ¹³⁸	N = 95 (44 Pso, 26 APso, 25 Controles). Idade média 33 anos (Pso) e 43.2	Análise do DNA total (<i>Whole Genome Shotgun</i>) de amostras de	Redução percentual da diversidade da ordem de 12.3% entre os pacientes portadores de doença psoriásica, porém sem alteração significativa em alfa diversidade (índice de Shannon); porém com diferenças de agrupamento em beta	Redução marcante de <i>Eubacterium rectale</i> tanto em Pso quanto em APso, inclusive com teste estatístico mostrando que a depleção de <i>E. rectale</i> pode ser um marcador para diferenciar o microbioma dos controles saudáveis, sem

	(APso); PASI médio 5.8 (Pso) e 10.4 (APso); sem tratamento sistêmico (China)	fezes	diversidade (Bray-Curtis) significativas: Pso+APso x controles (p < 0.001), Pso x controles (p < 0.001) e APso x controles (p < 0.001); porém sem diferença entre Pso x APso. Não houve alteração do microbioma por estratificação do PASI	psoríase. Apesar de menor expressão entre APso, diferença não é suficiente para distinguir APso de Pso. Em paralelo, redução de duas espécies de <i>Alistipes</i> (<i>A. finegoldii</i> e <i>A. shahii</i>), em doença psoriásica
--	--	-------	--	---

APso: Atrite Psoriática; Pso: Psoríase; DMARD: Droga antirreumática modificadora de doença; PASI: escore de severidade da psoríase; EUA: Estados Unidos da América; rRNA: RNA ribossomal; PCR: reação em cadeia de polimerase; IMC: Índice de Massa Corporal; LPB: Proteína Ligadora de Lipopolissacarídeos.

Fonte: elaboração dos autores, 2023.

11. ANEXOS

11.1. ANEXO 1:

Quadro 6 – Critérios classificatórios de artrite psoriática. Grupo CASPAR, 2006.⁶⁸

Doença articular inflamatória estabelecida	
e	
Pelo menos 3 pontos nos seguintes critérios:	
Psoríase cutânea atual	2 pontos
História de psoríase	1 ponto
História familiar de psoríase	1 ponto
Dactilite	1 ponto
Neoformação óssea justa-articular	1 ponto
Fator reumatoide negativo	1 ponto
Distrofia ungueal	1 ponto

Adaptado: Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum.* 2006; 54(8): 2665073.

11.2. ANEXO 2:

Quadro 7 – Índice de gravidade e área acometida em psoríase, ou do inglês, *Psoriasis Area and Severity Index (PASI)*.⁸⁵

Gravidade dos sinais/sintomas cutâneos:	Valor:
Sem sinais/sintomas cutâneos	0
Leve	1
Moderado	2
Grave	3
Muito grave	4
Percentual de área acometida	Valor:
< 10%	1
10 – 29%	2
30 – 49%	3
50 – 69%	4
70 – 89%	5
90 – 100%	6

* Extensão de doença em 4 segmentos corpóreos (cabeça/pescoço (C), tronco (T), membros superiores (MS) e membros inferiores (MI)) e o grau de eritema (E), infiltração (I) e descamação (D).

** Levando em consideração que a cabeça/pescoço, membros superiores, tronco e membros inferiores correspondem a aproximadamente 10%, 20%, 30% e 40% da superfície corpórea, respectivamente, o PASI pode ser calculado pela fórmula: $PASI = 0.1x (E_C + I_C + D_C) + 0.2x (E_{MS} + I_{MS} + D_{MS}) + 0.3x (E_T + I_T + D_T) + 0.4x (E_{MI} + I_{MI} + D_{MI})$.

Adaptado: Langley RG, Ellis CN. Evaluating psoriasis with Psoriasis Area and Severity Index, Psoriasis Global Assessment, and Lattice System Physician's Global Assessment. *J Am Acad Dermatol*. 2004; 51(4): 563-9.

11.3. ANEXO 3:

Quadro 8 - Escore de impacto da qualidade de vida em doenças dermatológicas (do inglês, DLQI).⁸⁷

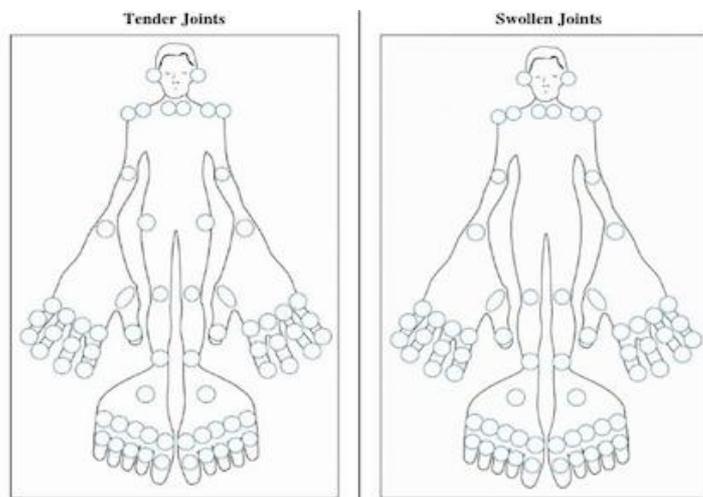
Este questionário visa a medir o quanto o problema de pele que você tem afetou sua vida durante a semana que passou. Escolha apenas uma resposta para cada pergunta e marque X sobre a alternativa correspondente

1. O quanto sua pele foi afetada durante a semana que passou por causa de coceira, inflamação, dor ou queimação?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
2. Quanto constrangimento ou outro tipo de limitação foi causado por sua pele durante a semana que passou?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
3. O quanto a sua pele interferiu nas suas atividades de compras ou passeios, em casa ou locais públicos, durante a semana que passou?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
4. Até que ponto sua pele interferiu na semana que passou com relação às roupas que você normalmente usa?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
5. O quanto a sua pele afetou qualquer uma das suas atividades sociais ou de lazer na semana que passou?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
6. Quão difícil foi para você praticar esportes durante a semana que passou?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
7. Sua pele impediu que você fosse trabalhar ou estudar durante a semana que passou?			
3 Sim	0 Não	0 Sem relevância	
Em caso negativo, sua pele já foi problema para você no trabalho ou na vida escolar?			
2. Bastante	1. Um pouco	0 Nada	
8. Quão problemática se tornou sua relação com o(a) parceiro(a), amigos próximos ou parentes, por causa de sua pele?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
9. Até que ponto sua pele criou dificuldades na sua vida sexual na semana que passou?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada
10. Até que ponto seu tratamento dermatológico criou problemas para você na semana que passou?			
3. Realmente muito	2. Bastante	1. Um pouco	0. Nada

Adaptado: Zogbi H, Muller MC, Protas JS, Kieling CM, Driemeir FM. Adaptação e validação DLQI (Dermatology Life Quality Index) para uma amostra brasileira: avaliando qualidade de vida em dermatologia. PsiquWeb [periódico on-line]. [acesso em 23 abril 2020]. Disponível em: <http://www.virtualpsy.org>.

11.4. ANEXO 4:

Quadro 9 – Escore de Atividade de Doença em Artrite Psoriática, do inglês *Disease Activity in PSoriatic Arthritis Score DAPSA, 2010*.⁷⁸



1. Contagem de articulações Dolorosas – *Tender Joints count* (0 – 68):
2. Contagem de articulações Edemaciadas – *Swollen Joints count* (0 – 66):
3. Nível de Proteína C Reativa (mg/dL):
4. Percepção do paciente com relação à atividade da doença e dor:
 - a. Como você descreveria a atividade da sua doença na última semana?
(Sem atividade 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 – 10 Muito ativa)
 - b. Como você descreveria o grau total de dor na última semana?
(Não tive 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 – 10 Muito severa)

Cálculo: $DAPSA = TJ + SJ + PCR + \text{Atividade} + \text{Dor}$

Interpretação:

Níveis de atividade de doença:	Pontos de corte:
Remissão:	0 a 5
Baixa:	5 a 14
Moderada:	15 a 28
Alta:	> 28

Adaptado: Mease PJ et al. *Arthritis Care Res* (Hoboken). 2011; 63 Suppl 11: S64-85.

11.5. ANEXO 5:

Quadro 10 – Índice de Atividade da Doença Espondilite Anquilosante, do inglês *The Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index BASDAI*, 1994.⁷⁸

Índice BASDAI em escala numérica:

Coloque uma marca na escala numérica abaixo, indicando sua resposta para cada questão relacionada à semana passada:

1. Como você descreveria o grau de fadiga ou cansaço que você tem tido?
Nenhum 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 -10 Intenso
2. Como você descreveria o grau total de dor no pescoço, nas costas e no quadril relacionado à sua doença?
Nenhum 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 -10 Intenso
3. Como você descreveria o grau total de dor e edema (inchaço) nas outras articulações, sem contar pescoço, costas e quadril?
Nenhum 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 -10 Intenso
4. Como você descreveria o grau total de desconforto que você teve ao toque ou a compressão em regiões do corpo doloridas?
Nenhum 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 -10 Intenso
5. Como você descreveria a intensidade da rigidez matinal que você tem tido a partir da hora que você acorda?
Nenhum 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 -10 Intenso
6. Quanto tempo dura sua rigidez matinal a partir do momento em que você acorda?
Zero horas 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 – 8 – 9 -10 Duas horas

BASDAI: Soma dos valores das questões 1,2,3,4 e a média dos valores da 5 e 6, dividindo este total por 5.

Adaptado: Mease PJ et al. *Arthritis Care Res* (Hoboken). 2011; 63 Suppl 11: S64-85.

11.6. ANEXO 6:

Quadro 11 – Componentes da síndrome metabólica segundo NCEP-ATP III.⁹³

Componentes:	Níveis:
Circunferência abdominal:	
- Homens:	> 102 cm
- Mulheres:	> 88 cm
Triglicérides:	> ou = 150
HDL colesterol:	
- Homens:	< 40 mg/dL
- Mulheres:	< 50 mg/dL
Pressão arterial:	PAS* \geq 130 mmHg ou PAD** \geq 85 mmHg
Glicemia de jejum:	\geq 110mg/dL

* Pressão arterial sistólica (PAS)

** Pressão arterial diastólica (PAD)

¶ A presença de Diabetes Melito não afasta o diagnóstico de SM

Adaptado: 1ª Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento de Síndrome Metabólica. Arq Bras Cardiol 2005; 84(1Supl.1):1-28.

11.7. ANEXO 7:

Quadro 12 – Componentes da ferramenta de screening de artrite psoriásica chamada PEST, do inglês, *Psoriasis Epidemiology Screening Tool*⁹⁰

Perguntas:	Sim:	Não:
Você já teve inchaço em alguma articulação (ou articulações / juntas)?		
Algum médico já lhe disse que você tem artrite?		
As suas unhas dos pés ou das mãos tem furos ou pontos?		
Você já teve dor na região do calcanhar?		
Alguma vez você já teve um dedo do pé ou da mão inchado e dolorido sem alguma razão aparente?		

¶ O screening é considerado positivo com 3 ou mais questões positivas (resposta sim)

Adaptado: Ibrahim GH, et al. Clin Exp Rheumatol. 2009;27(3):469-74.

12. PRODUÇÃO CIENTÍFICA

12.1. POSTERS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS:

1. **“*Sutterella wadsworthensis* como marca do microbioma intestinal de pacientes portadores de doença psoriásica grave: estudo Brasileiro, tipo caso-control**”, SUBMETIDO E APROVADO PARA APRESENTAÇÃO ORAL na categoria DISSERTAÇÃO E TESE do 76º CONGRESSO BRASILEIRO DE DERMATOLOGIA, realizado em Florianópolis – SC, entre 07 e 09 de setembro de 2023.
2. **“Study of the intestinal microbiome in patients with psoriatic arthritis”**, SUBMETIDO E APROVADO PARA APRESENTAÇÃO EM POSTER, na categoria DOENÇAS IMUNOMEDIADAS, no XL CONGRESSO BRASILEIRO DE REUMATOLOGIA, realizado em Goiânia – GO, entre 4 e 7 de outubro de 2023.
3. **“*Suterella wadsworthensis* as a hallmark of gut microbiome in severe psoriatic disease patient’s: a Brazilian case-control study”**, SUBMETIDO E APROVADO PARA APRESENTAÇÃO EM POSTER, na categoria DOENÇAS IMUNOMEDIADAS, no XL CONGRESSO BRASILEIRO DE REUMATOLOGIA, realizado em Goiânia – GO, entre 4 e 7 de outubro de 2023.

12.2. ARTIGOS PUBLICADOS NA ÍNTEGRA:

1. **“Gut microbiome and psoriasis – a possible link to be explored”**, publicado no JOJ Dermatology & Cosmetics, em janeiro de 2024.
Amorim GM, Castro GRW, Carneiro S. Gut Microbiome and Psoriasis – A Possible Link to be Explored. JOJ Dermatol & Cosmet. 2024; 5(5):555673. DOI: 10.19080/JOJDC.2024.05.555673.

12.3. ARTIGOS ACEITOS, AGUARDANDO PUBLICAÇÃO:

1. “Study of the gut microbiome in patients with psoriatic arthritis”, submetido ao European Journal of Rheumatology em 15 de setembro de 2023. APROVADO em 25 de março de 2024.

Abstract:

Background: Gut dysbiosis may play a role in immune-mediated diseases, such as psoriasis. There is a growing interest in understanding microbiome influence, with speculations around importance of altered gut microbiome linked to progression to psoriatic arthritis in psoriasis.

Objectives: To study the gut microbiome in patients with severe psoriatic disease, with or without psoriatic arthritis.

Methods: V3/V4 16S rRNA gene sequencing and bioinformatics analyses were performed with the total DNA extracted from the stool samples of 30 patients with psoriatic disease, 15 of whom had documented psoriatic arthritis.

Results: We found differences in gut microbiome composition in psoriatic arthritis patients when looking for relative and especially differential abundances. *Bacteroidaceae* family ($p = 0.02$), *Bacterioides* genus ($p = 0.02$) and *Bacterioides uniformes* ($p = 0.03$) were more abundant in psoriatic arthritis patients on differential abundance, adjusted for each taxonomic level. However, the present study did not show significant differences in alpha or beta diversity.

Conclusions: This study shows different patterns of gut microbiome composition in patients with psoriatic arthritis, with significant overexpression of the *Bacterioides* genus. This reinforces the microbiome as a field of interest in psoriasis. Nevertheless, it should be noted that some previously described findings related to lower diversity and different clustering between groups could not be demonstrated, probably due to the small number of patients. Additionally, it remains difficult to understand the magnitude of the gut microbiome influence. Is dysbiosis a cause or consequence of the disease? However, the microbiome deserves our attention, especially since it brings different opportunities for intervention through diet, pre and probiotics, pretreatment analysis, prognosis and even microbiome modulation and transplantation.

Key words: psoriasis; psoriatic arthritis; microbiome; gut microbiome; *Bacterioides*.

12.4 ARTIGOS SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO, AINDA EM APRECIACÃO:

2. “*Suterella wadsworthensis* as a marker of the intestinal microbiome of patients with severe psoriatic disease: a Brazilian case-control study”,

submetido ao Journal of American Academy of Dermatology International em 6 de novembro de 2023.

Abstract:

Background: Gut dysbiosis may play a role in immune-mediated diseases, like psoriasis. There is a growing interest in understanding microbiome influence not only in psoriasis etiopathogenesis but also implications on therapeutic strategies and potential new target therapies.

Objectives: To study the gut microbiome in patients with severe plaque psoriasis compared with individuals without psoriasis.

Methods: V3/V4 16S rRNA gene sequencing and bioinformatic analyses were performed with the total DNA extracted from the stool samples of 30 patients with severe plaque psoriasis and 30 age and gender-matched controls from the same geographic location.

Results: Gut microbiome beta-diversity analysis showed different clustering in severe psoriasis and controls ($p = 0,031$). Firmicutes/Bacteroidetes ratio was higher psoriasis ($p = 0,05$). Adjusted differential abundance showed an increased expression of *Sutterella* gender ($p < 0,01$) and *Sutterella wadsworthensis* species ($p < 0,05$) in psoriasis group.

Conclusions: This study shows different gut microbiome compositions in patients with severe psoriatic disease, including the significant over-expression of *Sutterella wadsworthensis* among the disease group. *Sutterella* was previously related to inflammatory bowel disease and seems to play an important role in IgA and intestinal epithelial integrity, in agreement with previous evidence of altered intestinal barrier permeability and immunoreactivity. This Brazilian study brings insights into microbiome and psoriasis. It is still difficult to understand the magnitude of the gut microbiome's influence on the disease. In this aspect, we highlight the difficulty of comparing our results with previous authors on the subject due to disease selection heterogeneity (disease duration, previous or ongoing treatment, and different phenotypes of disease and different stages of severity). Microbiome deserves attention, especially since it brings different opportunities for intervention through diet, prebiotics and probiotics, pre-treatment analysis, prognosis, and even microbiome modulation and transplantation although there are still some key points to be confirmed with prospective studies.

KEYWORDS: psoriasis; psoriatic arthritis; microbiome; gut microbiome; *Sutterella wadsworthensis*.



76º CONGRESSO
DA SOCIEDADE BRASILEIRA
DE DERMATOLOGIA

Floripa 2023

REALIZAÇÃO



APOIO



CERTIFICADO

Certificamos que os autores GUSTAVO MOREIRA AMORIM; LARA JONHSSON; GLAUCIO RICARDO WERNER CASTRO; MARCIA RAMOS-E-SILVA; SUELI COELHO DA SILVA CARNEIRO participaram do **76º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA**, realizado no período de 07 a 09 de setembro de 2023 no Centro de Convenções Centro Sul em Florianópolis - SC, na qualidade de **autores** do TRABALHO **DISSERTAÇÃO E TESE - SUTTERELLA WADSWORTHENSIS COMO MARCA DO MICROBIOMA INTESTINAL DE PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA PSORIÁSICA GRAVE: ESTUDO BRASILEIRO TIPO CASO-CONTROLE..**

Florianópolis, 09 de setembro 2023.

Para validar este certificado, acesse: <https://icongresso.sbd.itarget.com.br//certificado/auth/validar>
Código de validação: eLVsilbH6z

Silvia Maria Schmidt
Presidente do 76º Congresso da SBD

Heitor de Sá Gonçalves
Presidente da SBD

Jesus Rodriguez Santamaria
Presidente da Comissão Científica do 76º Congresso da SBD

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

Study of the intestinal microbiome in patients with psoriatic arthritis

Dos autores **Gustavo Moreira Amorim, Gláucio Ricardo Werner Castro e SUELI CARNEIRO**, foi apresentado em formato de pôster durante o **XL Congresso Brasileiro de Reumatologia – SBR2023**, realizado de 04 a 07 de outubro de 2023, no Centro de Convenções de Goiânia, na cidade de Goiânia/GO.

Goiânia, 07 de outubro de 2023.




Marco Antônio Araújo da Rocha Loures
Presidente da Sociedade Brasileira
de Reumatologia


Ivânio Alves Pereira
Diretor Científico da Sociedade
Brasileira de Reumatologia


Rafael Navarrete Fernandez
Presidente do
SBR2023


Jozelia Rêgo
Diretora Científica
do SBR2023





CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

Sutterella wadsworthensis as a hallmark of gut microbiome in severe psoriatic disease patient's: a Brazilian case-control study

Dos autores **Gustavo Moreira Amorim, Gláucio Ricardo Werner Castro, Marcia Ramos e Silva e Sueli Carneiro**, foi apresentado em formato de pôster durante o **XL Congresso Brasileiro de Reumatologia – SBR2023**, realizado de 04 a 07 de outubro de 2023, no Centro de Convenções de Goiânia, na cidade de Goiânia/GO.

Goiânia, 07 de outubro de 2023.




Marco Antônio Araújo da Rocha Loures
Presidente da Sociedade Brasileira
de Reumatologia


Ivânio Alves Pereira
Diretor Científico da Sociedade
Brasileira de Reumatologia


Rafael Navarrete Fernandez
Presidente do
SBR2023


Jozelia Rêgo
Diretora Científica
do SBR2023





Gut Microbiome and Psoriasis - A Possible Link to be explored

Gustavo Moreira Amorim^{1*}, Gláucio Ricardo Werner Castro² and Sueli Carneiro³

¹Department of Dermatology and Pathology, University Hospital and School of Medicine, Federal University and University of the South of Santa Catarina (UNISUL) State of Santa Catarina, Brazil

²Department of Rheumatology and Medicine, University of the South of Santa Catarina, State of Santa Catarina, Brazil

³Department of Rheumatology and Dermatology, Rheumatologist, University Hospital of the School of Medical Sciences, University of the State of Rio de Janeiro (UERJ), Brazil

Submission: December 14, 2023; **Published:** January 12, 2024

***Corresponding author:** Gustavo Moreira Amorim, Department of Dermatology and Pathology, University Hospital and School of Medicine, Federal University and University of the South of Santa Catarina (UNISUL) State of Santa Catarina, Brazil, Email: gustavomoreiraamorim@hotmail.com

Letter to Editor

Dear editor. Just over 30 years ago, the US National Center for Human Genome Research, today known as the National Human Genome Research Institute, was established in the United States, with the ambitious goal of sequencing all 3 billion nitrogenous bases in the human genome. In simple terms, it represented the determination of the exact order of DNA bases, determining the segments of human genetic material from blood samples from healthy individuals [1]. More than 2000 researchers from many countries participated in the project in a global joint effort (Universities and Research Centers, mostly from the USA, United Kingdom, France, Germany, Japan, and China, which represented the International Human Genome Sequencing Consortium). After just over 3 years from the date of the first publication of the Human Genome Project, ahead of the initial schedule, in October 2003 its final version was published, allowing the mapping of more than 20 thousand genes, representing more than 90% of human genetic material (technological ceiling at the time) [1-3]. The Human Genome project is one of the greatest scientific achievements in history and allowed the study of human DNA and its various implications. Furthermore, it boosted science and technology in different aspects, contributing to the evolution of knowledge in large areas [1,2,4] However, following its publication, some important aspects were highlighted. 99% of human genetic material is identical between people. Would only the remaining 1% be responsible for all the diversity and individuality of human beings? [5].

In parallel, we human beings share our body (organism) with trillions of microorganisms. For every human cell in our body, there are at least 10x more bacteria that cohabit with us, sharing

space and contributing to our balance and functioning. With these microorganisms, we evolve, creating a complex, adaptive, dynamic ecosystem in constant physiological interaction [6]. Perhaps the totality of human genes mapped did not represent the complexity of our organism and its functioning. As noted above, humans are a holobiont, whose definition would be a grouping of a host and many other species that live in it and together they form a distinct ecological unit. We have 100 to 150 times more bacterial genes than human genes and it is estimated that around 99% of all genetic material transcribed in our organism comes from bacteria. Julian Davies, in 2001, suggested that, despite the sequencing of the human genome being a memorable advance, it would be essential to identify and understand the synergism between humans and microorganisms living together. In this way, a complete Understanding would require the most complete inventory possible of the genome of the microorganisms we harbor. As a result, the Human Microbiome project began in 2007, aiming to access information from our hologenome (human genome plus the genome of microorganisms) [7-9]. The microbiome can be defined as a commensal, symbiotic, and pathogenic ecological community of microorganisms that share space with their human hosts (Lederberg and McCray 2001) [7].

In 2010, the Metagenomes of Human Intestinal Tract (MetaHIT) published its findings about the intestinal microbiome of 124 healthy European individuals. Two years later, the Human Microbiome Project (HMP) added findings from 242 healthy American adults. Together, these were the studies that sequenced the "healthy" human microbiome and still constitute important databases and controls today, currently with samples from

around 2000 individuals from different continents [10-12]. There are three main sites: intestine, oral cavity, and skin; The human gastrointestinal tract accounts for around 95% of the entire microbiome, therefore being the most representative site [7]. There is a continuous interaction between the intestinal microbiome and the immune system. The term intestinal dysbiosis is dynamic and its understanding has evolved with a better understanding of the microbiome, however, simply, it can be defined as a change in the “architecture” of the complex network of microorganisms that inhabit the gastrointestinal tract. This change determines an “imbalance”, with a reduction in so-called tolerogenic strains and an expansion of pro-inflammatory bacteria and yeasts. It is therefore postulated that intestinal dysbiosis may determine an alteration in immunological reactivity, contributing to the establishment of inflammatory diseases [8,9].

Certain patterns of intestinal dysbiosis determine a decrease in the mucus layer, dysregulation of tight junctions, qualitative and quantitative defects in Paneth cells, and increased permeability of the intestinal mucosa, promoting greater exposure of the host by exposing it to a series of antigens, especially bacterial (predominantly liposaccharides, components of the outer membrane of Gram-negative bacteria – LPS). There is a decrease in the population of regulatory T lymphocytes and an increase in the differentiation and expansion of T Helper 1 (TH1) and TH17 lymphocytes through the synthesis and secretion of interleukin-17 (IL17) and IL 23, in addition to a decrease in the production of immunoglobulin A (IgA) secretory and short-chain fatty acids. In parallel, this increase in intestinal permeability allows greater bacterial translocation, with the dissemination of this hypothetical antigenic trigger, inducing inflammation in different sites, including the skin and joints, the reason for the study [13].

Psoriasis is a chronic, inflammatory, immune-mediated, systemic disease that primarily affects the skin and joints [14-17]. It is relatively common, occurring in around 2 to 3% of the world's population, and may vary according to ethnicity and geographic location. In Brazil, a prevalence of 1.3% in the general population is estimated. Psoriatic disease, on the skin, manifests itself as erythematous and scaly lesions, which can affect the joints, in a heterogeneous way, but with erosive potential, including pain and permanent damage [17-21] The etiology of psoriasis is complex and not completely understood to this day. It appears to be determined primarily by an aberrant immune response, influenced by genetic factors involved with a pre-disposition for the development of the disease phenotype, associated with various environmental stimuli described as possible triggering and/or aggravating mechanisms of the disease [22] This immunological hyperactivation determines a persistent inflammatory state, not restricted to the skin. On the contrary, it is responsible for a growing number of comorbidities associated with psoriatic diseases, such as metabolic syndrome (obesity, hypertension, dyslipidemia, and diabetes), hepatic steatosis, and non-alcoholic steatohepatitis; cardio and cerebrovascular disease; inflammatory bowel disease, mood disorders, and cancer [23-25].

Thereby, the innate and adaptive immune systems are activated in a disorderly and persistent manner in psoriasis [14-17] Different stimuli determine the activation of antigen-presenting dendritic cells present in the epidermis and/or in the tissue and synovial space. These activated cells migrate through the lymphatic system to the regional lymph node, presenting the antigen to the naïve T lymphocyte. Once this antigen is recognized, the lymphocyte can be activated, triggering a sequence of reactions that allow the release of several cytokines, especially interleukins (IL) 12 and 23, already secreted by the presenting cells. Such interleukins are decisive for the differentiation of naïve T lymphocytes into T Helper (TH) 1 and TH 17 lymphocytes, which become the effector lymphocyte lineages after migrating to the target tissues (skin and joints). In the target tissue, TH1 mainly produces tumor necrosis factor-alpha, from English tumor necrosis factor (TNF) alpha and TH17 IL-17. Both determine dermal and synovial inflammation; epidermal differentiation and proliferation, polymorphonuclear chemotaxis, induction of apoptosis, neo angiogenesis, cartilage destruction, and bone erosion. The presence of TNF-alpha and IL-17, produced not only by cells of the adaptive immune system but also innate (naive T lymphocytes, mast cells, neutrophils) also contributes to the synthesis and exaggerated secretion of other pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL12, IL-23, interferon-gamma, transforming growth factor alpha and beta, macrophage and granulocyte colony-stimulating factor contribute, in addition to inflammation, to perpetuating the inflammatory process, justifying the chronic course of the disease [14,17,22,26]. The fact is that despite the elucidation of the inflammatory immunological pathways that determine the disease, it has not yet been possible to accurately determine the initiating factor of this immunological hyperactivation. What is the trigger for the activation of antigen-presenting dendritic cells? What determines antigen recognition? What plays the role of antigen? Which environmental antigen? If it is a self-antigen, at what point does it start to be recognized and activated with a non-selfie or non-self-antigen, triggering activation?

In brief research in different scientific databases and even in the so-called “lay media” (widely circulated), it is clear that there is a growing interest in the microbiome, its different sites, and its influence on inflammatory, immune-mediated, and autoimmune diseases [27-30] Recent studies relate, in the context of dysbiosis, greater production of microbial metabolites, such as short-chain fatty acids, which are capable of inducing epigenetic modifications through changes in DNA methylation, histone variations, and the expression of micro-RNAs., with potential implications regarding immunological homeostasis and greater susceptibility to autoimmune or immune-mediated phenomena, including psoriatic disease [31-33]. This data adds to the concept that autoimmunity is linked to increased gut permeability. Proof-of-concept studies, involving experimental models of spondyloarthritis, with arthritis, enthesitis, dactylitis, and psoriasiform skin lesions, showed that rats raised in a sterile environment did not develop the disease. Likewise, the use of broad-spectrum antibiotics

showed a protective effect. On the other hand, the use of prebiotics and probiotics contributed to the immunological inflammatory process, worsening the disease phenotype [34-38] In this context, evidence also showed, in animal models, intestinal dysbiosis inducing activation of the IL23, TH17, and IL17 pathways [9].

The first evidence linking gastrointestinal inflammation, microbiota alteration, and spondyloarthritis was published around 2010. With the advancement of high-throughput genetic sequencing techniques, we watched a real boost in the field of microbiomes and their influence on human homeostasis, inflammation, and autoimmunity [39,49]. Scher and collaborators, in 2015, using high-throughput sequencing of the 16S ribosomal gene (the most widely used technique in this field of study, also used in our laboratory and line of research), studied 31 patients with psoriatic disease, of which 16 had psoriatic arthritis and 15 with plaque psoriasis; comparing them with 17 healthy controls [41,42] In concept, the more diverse a microbiome is, the more resilient and healthy the microbiome will be [8]. They demonstrated a decrease in gut microbiome diversity among patients with psoriasis. In parallel, they identified decreased expression of the genera *Akkermansia*, *Ruminococcus*, *Pseudobutyrvibrio*, *Parabacteroides*, *Alistipes*, and *Coprococcus* in patients with psoriatic disease. When comparing patients with and without arthritis, a reduction in Firmicutes, Clostridiales, and Verrucomicrobiales was noted at the phylum level, in addition to an increase in Bacteroidetes in patients with established joint disease. The authors also showed, at the gender level, a marked decrease in *Akkermansia*, *Ruminococcus*, and *Pseudobutyrvibrio* among patients with psoriatic arthritis, with a pattern of intestinal dysbiosis resembling that found in inflammatory bowel disease [41,42].

Microbiome deserves our attention, as there is an established link between dysbiosis and autoimmunity, including psoriasis. The field of study must advance, seeking to understand whether the dysbiosis patterns found are cause or effect. If effect, what would be the magnitude of this effect? But one thing is clear and exciting: microbiome offers different opportunities for intervention through diet, prebiotics and probiotics, pre-treatment analysis, prognosis, and even microbiome modulation and transplantation. Again, there are still some key points to be confirmed with prospective studies. We established a project to better understand the intestinal microbiome of patients with severe psoriatic disease, within a national perspective (Brazil), trying to assess: Is there a difference in the intestinal microbiome of patients with moderate to severe psoriatic disease, followed by a state reference outpatient clinic, when compared to patients without psoriatic disease? With this objective, we carried out a case-control study, with 60 individuals, 30 patients, and 30 controls without psoriatic disease. Collection has been completed and the data is being analyzed for future publication.

References

1. Green D, Watson JD, Collins FS (2015) Twenty-five years of big biology. *Nature* 526(7571): 29-31.
2. (2022) National Human Genome Research Institute. The Human Genome Project.
3. Lander ES, Linton LM, Nussbaum C, Zodi MC, Baldwin J, et al. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409(6822): 860-921.
4. Gibbs RA (2020) The Human Genome Project changed everything. *Nat Rev Genet* 21(10): 575-576.
5. Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, et al. (2010) A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 467(7319): 1061-1073.
6. Davies J (2001) In a map of human life, count the microbes, too. *Science* 291(5512): 2316.
7. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, et al. (2009) The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res* 19(12): 2317-2323.
8. Tlaskalova-Hogenova H, Stepankova R, Kozakova H, Hudcovic T, Vannucci L, et al. (2011) The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol* 8(2):110-120.
9. Zákostelská Z, Málková J, Klimesová K, Rossmann P, Hornová M, et al. (2016) Intestinal microbiota promotes psoriasis-like skin inflammation by enhancing TH17 response. *PLoS One* 11(7): e0159539.
10. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, et al. (2010) A human gut microbial gene catalogue was established by metagenomic sequencing. *Nature* 464(7285): 59-65.
11. Human Microbiome Project Consortium (2012) Structure, function, and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486(7402): 207-214.
12. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C (2016) The healthy human microbiome. *Genome Med* 8(1): 51.
13. Chang JT (2020) Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. *New Eng J Med* 383(27): 2652-2664.
14. Carneiro, Sueli Coelho da Silva. *Psoríase: mecanismos de doença e implicações terapêuticas / Sueli Coelho da Silva Carneiro*. - São Paulo, 2007. Tese (livre-docência) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Dermatologia.
15. Carneiro S, Ramos-e-Silva M Carneiro S, Ramos-e-Silva M *Introdução; Loureiro MCAC, Carneiro S (2018) Epidemiologia; Accioly-Filho JW. Fatores etiológicos, de risco, desencadantes e agravantes da Psoríase. In: Fundamentos em Psoríase. Rio de Janeiro: Atheneu.*
16. Nestle FO, Kaplan DH, Baker J (2009) Psoriasis. *N Engl J Med* 361(5): 469-509.
17. Boehncke WH, Schön MP (2015) Psoriasis. *Lancet* 386(9997): 983-994.
18. Christophers E (2001) Psoriasis: epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol* 26(4): 314-320.
19. Rachakonda TD, Schupp CW, Armstrong AW (2014) Psoriasis prevalence among adults in the United States. *J Am Acad Dermatol* 70(3): 512-516.

20. Michalek IM, Loring B, John SM (2017) A systematic review of worldwide epidemiology of psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 31(2): 205-212.
21. Romiti R, Arnone M, Menter A, Miot HA (2017) Prevalence of psoriasis in Brazil - a geographical survey. *Int J Dermatol* 56(8): e167-e168.
22. Hawkes JE, Chan TC, Krueger JG (2017) Psoriasis pathogenesis and the development of novel target immune therapies. *J Allergy Clin Immunol* 140(3): 645-653.
23. Arnone M, Takahashi MDF, Carvalho AVE, Bernardo WM, Bressan AL, et al. (2019) Plaque psoriasis diagnostic and treatment guidelines. *An Bras Dermatol* 94(2 Suppl 1): S76-S107.
24. Takeshita J, Grewal S, Langan SM, Mehta NN, Ogdie A, et al. (2017) Psoriasis and comorbid diseases: epidemiology. *J Am Acad Dermatol* 76(3): 377-390.
25. Gelfand JM, Troxel AB, Lewis JD, Kurd SK, Shin DB, et al. (2007) The risk of mortality in patients with psoriasis: results from a population-based study. *Arch Dermatol* 143(12): 1493-1499.
26. Hugh JM, Weinberg JM (2018) Update on the pathophysiology of psoriasis. *Cutis* 102(5S): 6-12.
27. Eppinga H, Konstantinov SR, Peppelenbosch MP, Thio HB (2014) The microbiome and psoriatic arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 16(3): 407.
28. Van Praet L, Van Den Bosch F, Mielants H, Elewaut D (2011) Mucosal inflammation in spondylarthritides: past, present, and future. *Curr Rheumatol Rep* 13(5): 409-415.
29. Sherlock JP, Joyce-Shaikh B, Turner SP, Chao CC, Sathe M, Grein J, et al. (2012) IL-23 induces spondyloarthropathy by acting on ROR-gamma+CD3+CD4-CD8- enthesal resident T cells. *Nat Med* 18(7): 1069-1076.
30. Van Praet L, Van Den Bosch FE, Jacques P, Carron P, Jans L, et al. (2013) Microscopic gut inflammation in axial spondyloarthritis: a multiparametric predictive model. *Ann Rheum Dis* 72(3): 414-417.
31. Cuevas-Sierra A, Ramos-Lopez O, Riezu-Boj J, Milagro FI, Martinez JA (2019) Diet, gut microbiota, and obesity: links with host genetics and epigenetics and potential applications. *Adv Nutr* 10(Suppl 1): S17-S30.
32. Murdaca G, Greco M, Negrini S, Marco Casciaro, Gangemi S (2021) The role of skin and gut microbiome and epigenetic modifications in skin-autoimmune disorders. *Curr Mol Med* 21(4): 283-290.
33. Roszkiewickz M, Dopytalska K, Szymanska E, Jakimiuk A, Walecka I (2020) Environmental risk factors and epigenetic alternations in psoriasis. *Ann Agric Environ Med* 27(3): 335-342.
34. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD (1990) Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. *Cell* 63(5): 1099-1112.
35. Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Zhou M, et al. (1994) The germ-free state prevents the development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Experiment Med* 180(6): 2359-2364.
36. Rath HC, Herfarth HH, Ikeda JS, Hamm TE, Balish E, et al. (1996) Normal luminal bacteria, especially *Bacteroides* species, mediate chronic colitis, gastritis, and arthritis in HLA-B27/human beta2 microglobulin transgenic rats. *J Clin Invest* 98(4): 945-953.
37. Ruutu M, Thomas G, Steck R, Mariapia AD, Martin SZ, et al. (2012) Beta-glucan triggers spondyloarthritis and Crohn's disease-like ileitis in SKG mice. *Arthritis and Rheumatism* 64(7): 2211-22.
38. Rehaume LM, Mondot S, Aguirre de Carcer D, Jared V, Helen B, et al. (2014) ZAP-70 genotype disrupts the relationship between microbiota and host, leading to spondyloarthritis and ileitis in SKG mice. *Arthritis Rheumatol* 66(10): 2780-2792.
39. Stoll ML (2015) Gut microbes, immunity, and spondyloarthritis. *Clin Immunol* 159(2): 134-142.
40. Stebbings S, Munro K, Simon MA, Tannock G, Harmsen H, et al. (2002) Comparison of the fecal microflora of patients with ankylosing spondylitis and controls using molecular methods of analysis. *Rheumatology (Oxford)* 41(12):1395-401.
41. Scher JU, Ubeda C, Artacho A, Attur M, Isaac M, et al. (2015) Decreased bacterial diversity characterizes the altered gut microbiota in patients with psoriatic arthritis, resembling dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Arthritis Rheumatol* 67(1): 128-139.
42. Eppinga H, Serna Weiland CJ, Thio HB, Van Der Woude CJ, Nijsten TE, et al. (2016) Similar depletion of protective faecalibacterium prausnitzii in psoriasis and inflammatory bowel disease, but not in hidradenitis suppurativa. *J Crohns Colitis* 10(9): 1067-1075.



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 License
DOI: [10.19080/JOJDC.2024.05.555673](https://doi.org/10.19080/JOJDC.2024.05.555673)

Your next submission with Juniper Publishers will reach you the below assets

- Quality Editorial service
- Swift Peer Review
- Reprints availability
- E-prints Service
- Manuscript Podcast for convenient understanding
- Global attainment for your research
- Manuscript accessibility in different formats
(Pdf, E-pub, Full Text, Audio)
- Unceasing customer service

Track the below URL for one-step submission
<https://juniperpublishers.com/online-submission.php>