



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MARCOS VINICIUS AUGUSTINHO DE LIMA

**BAIXAS DOSES DE NALTREXONA NO TRATAMENTO DE LESÕES
PSORIASIFORMES INDUZIDAS POR IMIQUIMODE EM CAMUNDONGOS**

Palhoça

2021

MARCOS VINICIUS AUGUSTINHO DE LIMA

**BAIXAS DOSES DE NALTREXONA NO TRATAMENTO DE LESÕES
PSORIASIFORMES INDUZIDAS POR IMIQUIMODE EM CAMUNDONGOS**

LINHA DE PESQUISA: Neurociências

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde para obtenção do título de
Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Franciane Bobinski, Dra.

Palhoça

2021

L71 Lima, Marcos Vinicius Augustinho de, 1991 -
 Baixas doses de naltrexona no tratamento de lesões
 psoriasiformes induzidas por imiquimode em camundongos / Marcos
 Vinicius Augustinho de Lima. – 2021.
 110 f. : il. ; 30 cm

 Dissertação (Mestrado) – Universidade do Sul de Santa Catarina,
 Pós-graduação em Ciências da Saúde.
 Orientação: Prof.^a Franciane Bobinski

 1. Psoríase - Tratamento. 2. Naltrexona. 3. Pele - Inflamação -
 Tratamento. 4. Imiquimode. I. Bobinski, Franciane. II. Universidade
 do Sul de Santa Catarina. III. Título.

 CDD (21. ed.) 616.526

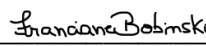
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - MESTRADO

Título da Dissertação

Baixas doses de naltrexona no tratamento de lesões psoriasiformes induzidas por imiquimode em camundongos

MARCOS VINICIUS AUGUSTINHO DE LIMA
AUTOR

Aprovada pela Banca Avaliadora de Defesa da Dissertação em 24 de fevereiro de 2021.

Doutora Franciane Bobinski (Orientador) 

Doutor Eduardo Benedetti Parisotto (Avaliador externo – UFMS) – *presente por videoconferência*

Doutor Daniel Fernandes Martins (Avaliador interno) – *presente por videoconferência*



Professor Doutor Jefferson Traebert
COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNISUL

Dedico este trabalho ao meu marido Rafael Gamba que me incentivou a ingressar no Programa de Pós-Graduação da UNISUL para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A minha orientadora Dra. Franciane Bobinski, por toda dedicação durante este processo; sua discussão, ideias e feedback foram absolutamente inestimáveis. Seus conselhos e orientações me ajudaram a pensar melhor sobre minha situação.

Ao Professor Dr. Maicon Roberto Kwiecinski, por toda atenção, dedicação, paciência, energia dispensada; por me fazer um mestrando com vontade de estudar e por transmitir toda sua sabedoria durante minha trajetória.

A Professora Verônica Vargas Horewicz que me acolheu de braços abertos em distintas ocasiões. Este agradecimento estendo ao Professor Dr. Daniel Fernandes Martins, pela enorme contribuição para realização das análises e pela disposição em avaliar minha dissertação.

Agradeço aos meus colegas de Mestrado, à Dra. Flavia de Souza Fernandes e ao formando do Curso de Fisioterapia da UNISUL (estudante de iniciação científica) Gustavo Silveira da Silva, que colaboraram em todos os momentos dos experimentos, pelo apoio e parceria durante esta jornada.

Agradeço ainda a todos os membros e colegas do Grupo de Pesquisa em Alergia, Inflamação e Doenças Infecciosas (Alindi, UNISUL). Obrigado por compartilharem seus conhecimentos e por ajudarem a sanar minhas dúvidas.

À minha família, em especial ao meu marido pelo grande exemplo de perseverança e por sempre acreditarem em mim e nos meus sonhos.

À minha mãe, irmã e às minhas sobrinhas pela compreensão e paciência durante este caminho que trilhamos juntos.

RESUMO

Os pacientes com psoríase relatam grande insatisfação com o tratamento disponível para doença, seja devido à falta de eficácia ou aos efeitos colaterais. O tratamento com baixas doses de naltrexona (BDN) é inovador e surge como uma terapia complementar ao tratamento convencional. As lesões psoriáticas foram induzidas por imiquimode, aplicado na pele do dorso de camundongos Swiss fêmeas (exceto no grupo naïve) por 5 dias (n = 6/grupo). Diariamente os animais foram tratados por via oral (gavagem) com baixas doses de naltrexona (BDN) (6,25 mg/kg), betametasona (0,25 mg/kg), veículo (água, 100 µL), morfina (1 mg/kg) ou uma combinação de BDN com morfina (6,25 mg/kg de naltrexona e 1 mg/kg de morfina). Foram avaliados parâmetros de eficácia como o índice de gravidade por área da psoríase (PASI), o tempo para o desaparecimento das lesões e a acantose epidérmica; e parâmetros de segurança como o peso corporal, o consumo de água/ração, a deambulação e parâmetros bioquímicos e hematológicos. Para avaliar o mecanismo de ação do tratamento com BDN foram quantificadas as concentrações de TNF, IL-17A, IFN- γ , TGF- β 1 por Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e a expressão do receptor opioide μ por Western blotting, em amostras da pele dos animais. O tratamento com BDN atenuou o PASI e diminuiu a acantose. Como esperado o imiquimode causou redução do peso, diminuição do consumo de ração e da ingestão de água e leucocitose. BDN não alterou o comportamento locomotor dos camundongos. BDN atenuou as concentrações das citocinas pró-inflamatórias TNF, IL-17A e IFN- γ envolvidas na patogênese da psoríase e aumentou a expressão do receptor opioide μ , evidenciando a eficácia e segurança do tratamento com BDN em um modelo animal de psoríase.

Palavras-chave: Naltrexona; Psoríase; Imiquimode; Inflamação.

ABSTRACT

Psoriasis patients report great dissatisfaction with the treatment available for the disease, either due to lack of effectiveness or the associated effects. Treatment with low doses of naltrexone (LDN) is innovative and appears as a complementary therapy to conventional treatment. Psoriatic lesions induced by imiquimod, applied to the skin of the back of complemented Swiss mice (except in the naive group) for 5 days (n = 6/group). Daily the animals were treated orally (gavage) with low doses of naltrexone (BDN) (6.25 mg/kg), betamethasone (0.25 mg/kg), vehicle (water, 100 μ L), morphine (1 mg/kg) or a combination of BDN with morphine (6.25 mg/kg of naltrexone and 1 mg/kg of morphine). Efficacy parameters were defined as the severity index by area of psoriasis (PASI), the time for the loss to disappear and the epidermal acanthosis; and safety parameters such as body weight, water/feed consumption, walking and biochemical and hematological parameters. To assess the mechanism of action of BDN treatment, TNF, IL-17A, IFN- γ , TGF- β 1 were quantified by Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) and expression of μ opioid receptor by Western blotting, in the skin. of the animals. Treatment with BDN attenuated PASI and decreased acanthosis. As expected, imiquimod caused weight reduction, decreased feed intake and water intake and leukocytosis. BDN does not alter the exploratory behavior of mice. BDN attenuated as required by the pro-inflammatory TNF cytokines, IL-17A and IFN- γ involved in the pathogenesis of psoriasis and increased the expression of μ opioid receptor, demonstrating the efficacy and safety of treatment with BDN in an animal model of psoriasis.

Keywords: Naltrexone; Psoriasis; imiquimod; inflammation

LISTAS

Lista de abreviaturas e siglas

ALT	Alanina-aminotransferase
APC	Celulas apresentadoras de antígenos
AST	Aspartato-aminotransferase
BSA	Índice da área de superfície corporal
BDN	Baixas doses de naltrexona
cAMP	Adenosina monofosfato cíclica
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CONITEC	Comitê Nacional de Incorporação de Tecnologias do SUS
DLQI	Questionário de qualidade de vida em dermatologia
DAMPS	Padrões Moleculares Associados a Danos
DCs	Células dendríticas
DORs	Receptores opioides tipo delta
IFN	Interferon
IL	Interleucina
KORs	Receptores opioides tipo kappa
LPS	Lipopolissacarídeo
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
MIA	Morte indolor assistida
MORs	Receptores opioides tipo mu
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NKs	Células <i>natural killers</i>
OGF	Fator de crescimento opioide (do inglês. <i>Opioid growth factor</i>)
OGFr	Receptor do fator de crescimento opioide (do inglês, <i>Opioid growth factor receptor</i>)
PAMPs	Padrões moleculares associados aos patógenos
PASI	Índice de severidade da psoríase por área de superfície
PGA	Escala de avaliação global pelo médico
PKC	Proteína cinase C
PBS	Tampão fosfato-salina

RRP	Receptores de reconhecimento de padrões moleculares associados aos patógenos
STAT3	Transdutor de sinais e ativador de transcrição 3
Th	Linfócito T auxiliador (do inglês, <i>T helper</i>)
TGF- β	Fator de transformação do crescimento tipo beta
TNF	Fator de necrose tumoral
Treg	Linfócitos T reguladores
VEGF	Fator de crescimento endotélio-vascular
VAMPS	Padrões moleculares associados aos venenos
UV	Ultravioleta

Lista de Figuras

Figura 1 – Camadas da epiderme e anexos.....	17
Figura 2 – Estruturas do tecido tegumentar.....	19
Figura 3 – Sistema imune na pele.....	21
Figura 4 – Comparação histológica entre pele saudável e psoriática.....	25
Figura 5 – Características das lesões psoriáticas em humanos.....	26
Figura 6 – Características das lesões psoriáticas em humanos.....	27
Figura 7 – Características das lesões psoriáticas em humanos.....	27
Figura 8 – Mecanismo imunopatológico da psoríase.....	43
Figura 9 – Diferenciação induzível de Th17 patogênico na presença de IL-23.....	45
Figura 10 – <i>Papaver somniferum</i> (Papaveraceae), popularmente conhecida como papoula.....	57
Figura 11 – Desenho do estudo.....	72

Lista de quadros

Quadro 1 – Receptores opioides e características.....	60
Quadro 2 – Variáveis de estudo.....	81

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
1.1.1 Estrutura e função da pele	16
1.1.2 Psoríase.....	22
1.1.2.1 Qualidade de vida.....	23
1.1.2.2 Diagnóstico e formas clínicas de psoríase.....	24
1.1.2.3 Ferramentas utilizadas para definição da modalidade terapêutica.....	28
1.1.2.4 Tratamentos tópicos.....	29
1.1.2.5 Fototerapia na psoríase.....	31
1.1.2.6 Formas de tratamento sistêmico.....	33
1.1.2.7 Compostos biológicos.....	38
1.1.2.8 Limitações, desafios e desenvolvimento de novos medicamentos.....	40
1.1.2.9 Imunopatogênese da psoríase.....	41
1.1.3 Modelo de indução de lesões psoriasiformes com imiquimode.....	45
1.1.4 Sistema nervoso, pele e psoríase.....	47
1.1.5 BDN e doenças autoimune.....	50
1.1.6 Mecanismo de ação de BDN.....	53
1.1.7 Os opioides e o sistema opioide endógeno.....	55
1.1.7.1 Aspectos históricos dos opioides.....	55
1.1.7.2 Sistema opioide endógeno.....	58
1.1.7.3 Sistema opioide fora do sistema nervoso.....	62
1.1.7.4 Sistema opioide na pele e anexos.....	67
1.1.7.5 Antagonistas opioides exógenos.....	68
2. OBJETIVOS.....	70
2.1 OBJETIVO GERAL.....	70
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	70
3. MÉTODOS.....	71
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	71
3.2 MATERIAL E EQUIPAMENTOS.....	71
3.3 ANIMAIS.....	72
3.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	73

3.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS E DEFINIÇÕES DE DOSES.....	74
3.6 AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA.....	75
3.6.1 Indução de lesão psoriasiforme.....	75
3.6.2 Avaliação da severidade das lesões psoriasiformes.....	75
3.6.3 Determinação do tempo para o desaparecimento das lesões.....	76
3.6.4 Histologia.....	76
3.6.6 Coleta e preparação do sangue e dos órgãos.....	77
3.7 AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA.....	78
3.7.1 Quantificação do peso corporal, de ração e volume da água.....	78
3.7.2 Teste de campo aberto.....	78
3.7.3 Análises hematológicas.....	78
3.7.5 Análises sérico bioquímicas.....	79
3.8 AVALIAÇÕES PELO MECANISMO DE AÇÃO.....	79
3.8.1 Ensaio de Western Blotting.....	79
3.8.2 Dosagem de citocinas	80
3.9 VARIÁVEIS DO ESTUDO.....	81
3.10 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....	82
3.11 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	82
4. ARTIGO.....	83
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
REFERÊNCIAS.....	87
ANEXO A – Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animas.....	110

1. INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença crônica inflamatória e sua patogenia ainda não é completamente esclarecida. A doença apresenta várias formas clínicas e ela tem sido considerada a doença autoimune mais prevalente mundialmente, acometendo cerca de 1 a 3% da população^{1,2}. As principais formas de psoríase são dermatológicas (leves a graves) e formas artríticas. As formas dermatológicas representam a grande maioria dos casos, podendo representar aproximadamente 90% dos pacientes³. A psoríase artrítica normalmente acompanha a psoríase dermatológica. Em um estudo populacional multinacional (n = 3.426), cerca de 21% dos pacientes relataram apresentar além da forma dermatológica também a forma artrítica da doença⁴. A psoríase causa perdas socioeconômicas, principalmente nos casos graves, onde os sintomas são dolorosos e até estigmatizantes em pacientes que apresentam lesões aparentes. Uma boa parcela desses pacientes desenvolve problemas psiquiátricos ligados à baixa autoestima, o que influencia no desenvolvimento social, educacional e laboral⁵.

Os pacientes com psoríase relatam uma forte insatisfação com o tratamento disponível para doença, seja devido à falta de eficácia ou aos efeitos colaterais⁶. Nos Estados Unidos, estima-se que a psoríase custa aproximadamente 65 bilhões de dólares ao ano⁷. A terapia farmacológica é apenas paliativa e um estudo revelou que até 46% dos pacientes considera seus efeitos piores do que aqueles da própria doença. Mais de 85% deles acredita na necessidade de desenvolvimento de novos fármacos⁴.

Sendo a psoríase uma doença autoimune⁸, o tratamento feito com anti-inflamatórios convencionais produz resposta pouco satisfatória⁹, pois a eficácia dos fármacos depende de uma ação moduladora sobre o sistema imunológico e tegumentar, isto é, indução de uma reprogramação da função celular e da expressão gênica em componentes destes sistemas¹⁰. Estudos anteriores já mostraram evidências contundentes de que a imunopatogenia da psoríase é complexa, incluindo fatores de fundo genético que levam a fenótipos clínicos, nos quais é possível observar desde disfunção dos queratinócitos, disfunção epitelial da secreção de peptídeos antimicrobianos, alterações genéticas em receptores do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), alteração da função de células dendríticas e,

notavelmente, secreção anormal de determinadas citocinas que causam um processo inflamatório crônico (o infiltrado inflamatório nas lesões psoriáticas contém tipicamente linfócitos, células dendríticas, neutrófilos e macrófagos)^{2,11-13}.

Relatos recentes de recuperação significativa de pacientes portadores de doenças autoimunes tratados com baixas doses de naltrexona (BDN) têm despertado interesse por parte dos pesquisadores e da indústria farmacêutica¹⁴. Em princípio, a naltrexona é um fármaco disponível comercialmente, cuja dispensação depende de prescrição médica. A naltrexona é um antagonista opioide de ação prolongada e não seletiva, com forte afinidade para receptores opioides μ (MORs)¹⁵. Originalmente, a naltrexona tem sido utilizada na clínica para o tratamento de sintomas da abstinência causada pela adicção aos opioides ou etilismo¹⁶. Em humanos, as doses indicadas de naltrexona, no geral, variam entre 50 e 150 mg/dia, geralmente administradas por via oral. Existem também formas injetáveis, administradas geralmente entre uma a três vezes por semana, ou diariamente, por cerca de três semanas¹⁷.

O tratamento com BDN representa uma inovação no tratamento de doenças autoimunes. A naltrexona é administrada em doses tão baixas quanto 0,1 mg/kg, não ultrapassando 5 mg/dia, por períodos prolongados¹⁸. Uma série de relatos de caso e artigos científicos têm sido publicados relatando melhoria significativa de pacientes tratados com BDN com doenças autoimunes, tais como: esclerose múltipla¹⁹⁻²³, doença de Crohn²⁴, condições dermatológicas²⁵, e também em síndromes idiopáticas, como a fibromialgia^{26,27}, entre outras²⁸. É possível encontrar na literatura estudos avaliando BDN principalmente no contexto da esclerose múltipla, em modelo animal²⁰ e em estudos clínicos^{19,29}. No cenário da dermatologia, alguns relatos sugerem melhora de pacientes com doença de Hailey-Hailey e esclerodermia²⁵. Até o presente momento, no contexto da psoríase, o que existe na literatura são apenas 4 relatos de casos³⁰⁻³³ e um estudo clínico não randomizado publicado recentemente, que avaliou a eficácia de BDN³⁴. Todos estes relatórios científicos sugeriram efeitos benéficos do tratamento com BDN no estudo da psoríase. Todavia, no que se refere aos relatos de caso, todos eles foram realizados com um tamanho de amostra extremamente pequeno, alguns deles tão pequeno quanto apenas um paciente³⁰⁻³³.

O estudo clínico foi desenvolvido por uma equipe de cientistas paquistaneses, e publicado em 2020 na revista *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. Entre os pontos fortes desta publicação, pode ser citado o pioneirismo, uma

vez que foi o primeiro ensaio clínico publicado e registrado no registro de ensaios clínicos da biblioteca americana de medicina (ClinicalTrials.gov, identificador NCT04250792) e que avaliou 71 pacientes (37 homens e 34 mulheres), com idade entre 13 e 60 anos que receberam naltrexona na concentração de 6 mg ao dia por três meses. Além disso, o estudo avaliou o efeito sobre a qualidade de vida dos participantes, sugerindo um efeito benéfico sobre esta variável. Como pontos fracos, pode-se citar que a publicação foi em uma revista de baixo fator de impacto, o ensaio não foi randomizado nem controlado com placebo. Além disso, após a intervenção o estudo avaliou apenas o efeito de BDN sobre a severidade das lesões psoriasiformes. O estudo quantificou a severidade das lesões por duas ferramentas utilizadas para o mesmo fim, o índice da área e severidade da psoríase, do inglês *Psoriasis Area Severity Index* (PASI) e o índice Área de Superfície Corporal, do inglês *Body Surface Area* (BSA), concluindo que o tratamento com BDN atenuou a severidade das lesões psoriáticas³⁵.

A proposta do presente estudo foi avaliar a eficácia de BDN no tratamento experimental de camundongos com lesões psoriasiformes induzidas por imiquimode (um quimioterápico tópico capaz de induzir inflamação da pele, sendo atualmente o modelo animal de psoríase mais amplamente aceito), junto com aspectos do mecanismo de ação e segurança desse tratamento. Devido ao tratamento ser baseado em um antagonismo parcial de receptores opioides, o estudo levou em consideração a hipótese de que caso BDN exercesse um efeito benéfico, este poderia ser oriundo de uma associação entre a expressão de receptores MORs e uma alteração sobre o padrão de secreção de citocinas antagonistas da imunopatogênese da psoríase. As perguntas de pesquisa formuladas para este projeto foram: O tratamento de lesões psoriasiformes em camundongos com BDN é eficaz? Caso positivo, quais são as características do mecanismo de ação dessa terapia? Para responder estas perguntas foi proposto um ensaio pré-clínico experimental *in vivo*. Os resultados deste projeto podem contribuir para a elucidação do mecanismo de ação e para avaliação da segurança de BDN no contexto da psoríase.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Estruturação e função da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano e tem como principal função servir de barreira entre o meio externo e interno³⁶. A pele tem como característica o transporte de nutrientes e a absorção de vitaminas lipossolúveis, além de participar da metabolização de hormônios, como por exemplo a vitamina D que é primariamente relacionada à fisiologia osteomineral, em especial no metabolismo de cálcio. O sistema tegumentar participa também no controle do fluxo sanguíneo e na regulação térmica, além de proteger os queratinócitos contra a radiação ultravioleta (UV) a partir da síntese de melanina. A água representa uma boa parcela da composição química da pele, sendo ela responsável pelo transporte de sais minerais para toda o corpo. Íons como cálcio, magnésio, potássio, zinco, fósforo, entre outros, são responsáveis pela ativação do metabolismo celular, pela síntese proteica e participam no mecanismo de diferenciação e maturação celular¹⁸⁵⁻¹⁸⁷.

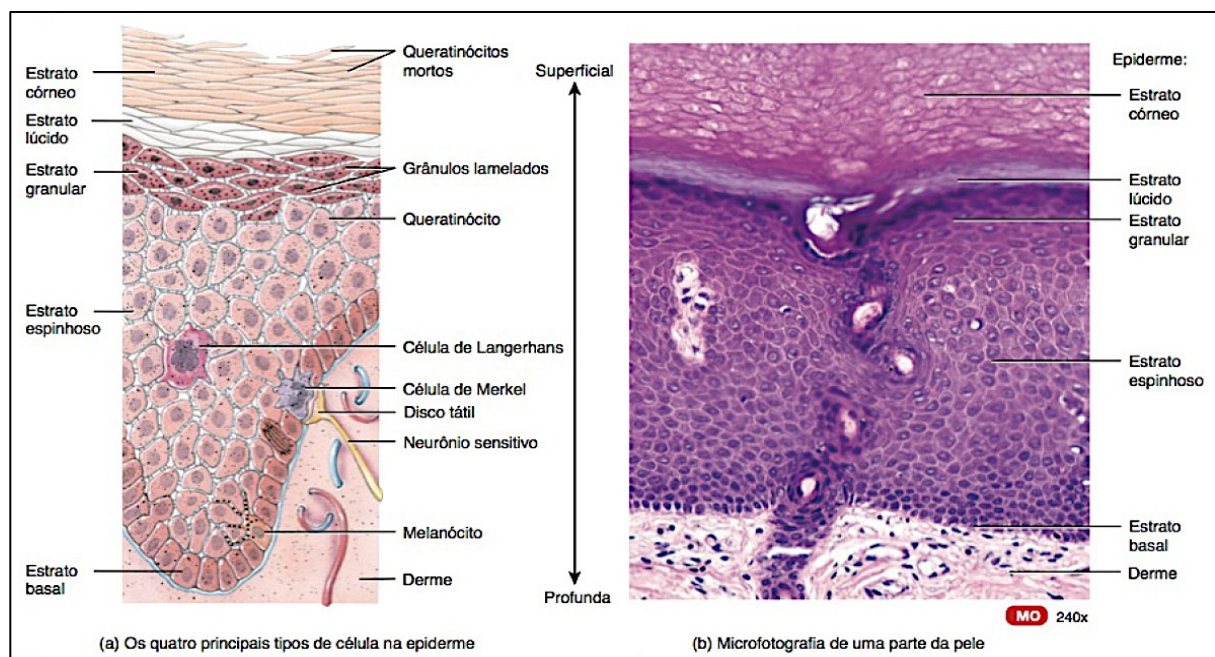
A pele age como uma barreira química/física contra microorganismos patogênicos. O tecido tegumentar é caracterizado por diferentes camadas de células. A camada mais externa é denominada epiderme, a camada subjacente de tecido conjuntivo é chamada de derme, seguida por um tecido subcutâneo denominado hipoderme. Além disso, o tecido tegumentar é composto por anexos importantes na manutenção do sistema, incluindo as glândulas, unhas, cabelos, pelos e receptores sensoriais^{182,183}.

A epiderme está localizada na região avascular da pele. Esse epitélio é formado por um número variável de camadas celulares (principalmente queratinócitos) e é classificado com o epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, pelo fato da maioria das camadas (estratos) serem constituídos por queratinócitos achatados, dispostos em mais de uma camada queratinizada. Além disso, nessa região encontram-se algumas terminações nervosas que permitem o tato sensorial, melanócitos responsáveis pela síntese de melanina e, as células de Langerhans que participam principalmente do sistema imunológico tegumentar. O epitélio epidérmico é composto por pelo menos cinco camadas denominadas estratos, estando na

seguinte ordem partindo da derme para a superfície: basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea³⁶⁻³⁸.

A camada basal é o berço das células germinativas que se encontram em grande atividade mitótica. De todas as camadas da epiderme essa é a região é mantida às custas de nutrientes derivados da vasculatura da derme, pois a camada basal repousa sobre o início da camada dérmica, sobre uma região conhecida como lâmina basal. A camada basal consegue o aporte nutricional necessário para o desenvolvimento mitótico a partir dos capilares dérmicos. Os queratinócitos são responsáveis pela síntese de queratina, uma proteína secundária composta por cerca de 21 aminoácidos que possui propriedades particulares como impermeabilizar o tecido, evitar a perda de água e fornecer resistência e elasticidade. O processo completo de ciclagem dos queratinócitos acontece em torno de 28 dias. Na camada basal é possível encontrar as células de Merkel, um tipo de célula abundante na ponta dos dedos e na mucosa oral, e na base dos folículos pilosos. A base desta célula está em contato com fibras nervosas, e por isso, é tida como mecano-receptor. Ainda na camada basal encontram-se os melanócitos, células responsáveis pela síntese de melanina. A melanina é produzida nos melanócitos e armazenada nos queratinócitos, determinando assim a cor da pele dos indivíduos^{38,39}. A figura 1 a seguir exhibe as camadas que compõe a epiderme.

Figura 1 - Camadas da epiderme e anexos



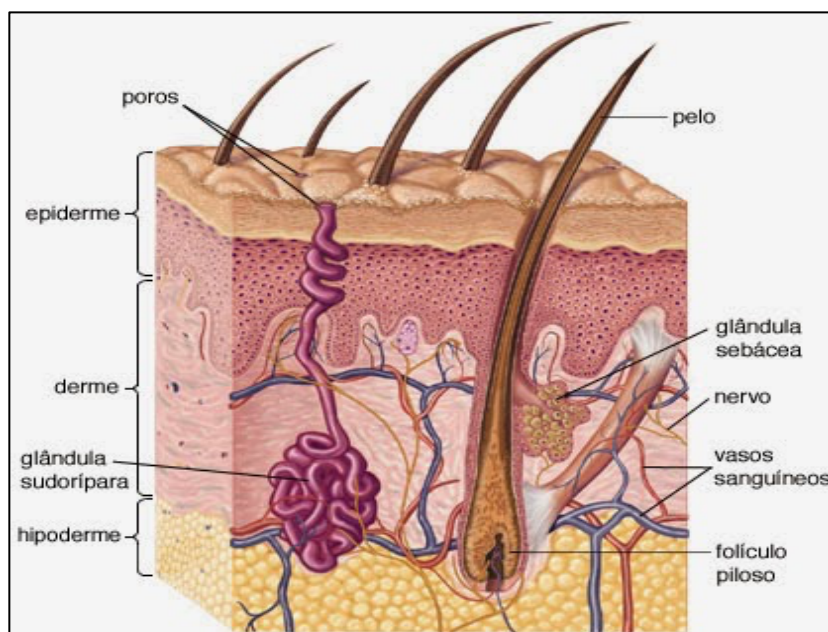
Fonte: Ana et al.⁴⁰

Na camada espinhosa, as células apresentam-se unidas por estruturas denominadas desmossomo, junções comunicantes que dão a aparência espinhosa para essa região. Os desmossomo e a queratina são responsáveis por inibir que a resistência e que o atrito atrapalhe o processo de homeostasia celular. As células de Langerhans apresentam em maior quantidade nesta região, desempenhando papel imunitário cutâneo^{38,39}. Já na camada granulosa a divisão mitótica torna-se inexistente. O que é mais marcante nas células que compõem este estrato é a expressão de queratina, que em princípio é responsável por grânulos citoplasmáticos, razão pela qual este estrato é denominado como granuloso. As células apresentam-se em camadas, podendo variar entre três e cinco fileiras sobrepostas de células em formato poligonais. A perda de água em nível celular nesta região permite a formação de grãos cerato hialinos. O material lipídico é depositado no meio extra celular, funcionando como barreira hidrofóbica, impedindo assim a perda de água e a penetração de substâncias^{38,39}. A camada lúcida é uma região da epiderme onde se encontra muitas células achatadas e anucleadas. Essa camada é mais proeminente em regiões onde a pele se encontra mais espessa, ou seja, regiões onde se tem grande contato com o meio externo, como por exemplo as a palma das mãos e a planta dos pés⁴¹. Por fim, a camada córnea é a que se encontra em constante descamação, caracterizada por grandes placas de queratinócitos achatados sem vida, servindo como barreira contra a radiação solar e perda de água^{182,18}.

A derme é a região vascularizada rica em tecido conjunção que dá o suporte às glândulas e seus anexos. Essa vascularização entrega ao tecido oxigênio, vitaminas e minerais necessários para o metabolismo celular. As glândulas são responsáveis por manter a hidratação da pele e, se dividem em sebáceas e sudoríparas responsáveis pela produção de sebo e suor respectivamente^{37,38}. As glândulas sudoríparas ajudam na regulação da temperatura corporal e na eliminação de substâncias tóxicas do organismo, bem como na secreção de alguns restos nitrogenados do metabolismo proteico, como por exemplo a ureia, ácido úrico e cloreto de sódio. As glândulas se dividem em apócrinas e écrinas. As apócrinas liberam suor a partir de uma ligação direta com o folículo piloso e as écrinas individuais liberam suor diretamente nos poros da superfície da pele. Os músculos que envolvem essa região estão relacionados com o sistema de piloereção, mecanismo natural que ajuda

a aumentar ou diminuir a temperatura corporal^{138,39}. Na Figura 2 a seguir, é possível observar as estruturas do tecido tegumentar.

Figura 2 - Estruturas do tecido tegumentar.



Fonte: Junqueira, LC.⁴²

Na camada dérmica ainda é possível encontrar os fibroblastos, células com capacidade de produzir um meio rico em polissacarídeos, fibronectinas, glicosaminoglicanas e proteoglicanas, essas necessárias para sustentação e regeneração da pele, além de auxiliar uma elasticidade e cicatrização. A derme se diferencia em duas regiões específicas denominadas derme papilar e derme reticular.^{9,10} A derme papilar compreende a região onde se encontra as cristas epidérmicas, onde o tecido conjuntivo é mais frouxo e dá o suporte para a camada basal da epiderme. A derme reticular é composta por um tecido conjuntivo denso não modelado e está abaixo das cristas epidérmicas. O tipo de colágeno produzido pelos fibroblastos depende da codificação genética que cada célula carrega, ou seja, pode-se classificar em colágeno do tipo I, II e III. O colágeno do tipo I é encontrado principalmente nos tendões e em cartilagens fibrosas, no tecido conjuntivo frouxo comum e no tecido conjuntivo denso. O colágeno do tipo II é produzido pelos condrócitos e aparece na cartilagem hialina e na elástica. O colágeno do tipo III é o segundo mais abundante e é encontrado na pele, útero, vasos arteriais e intestinos^{186,187}.

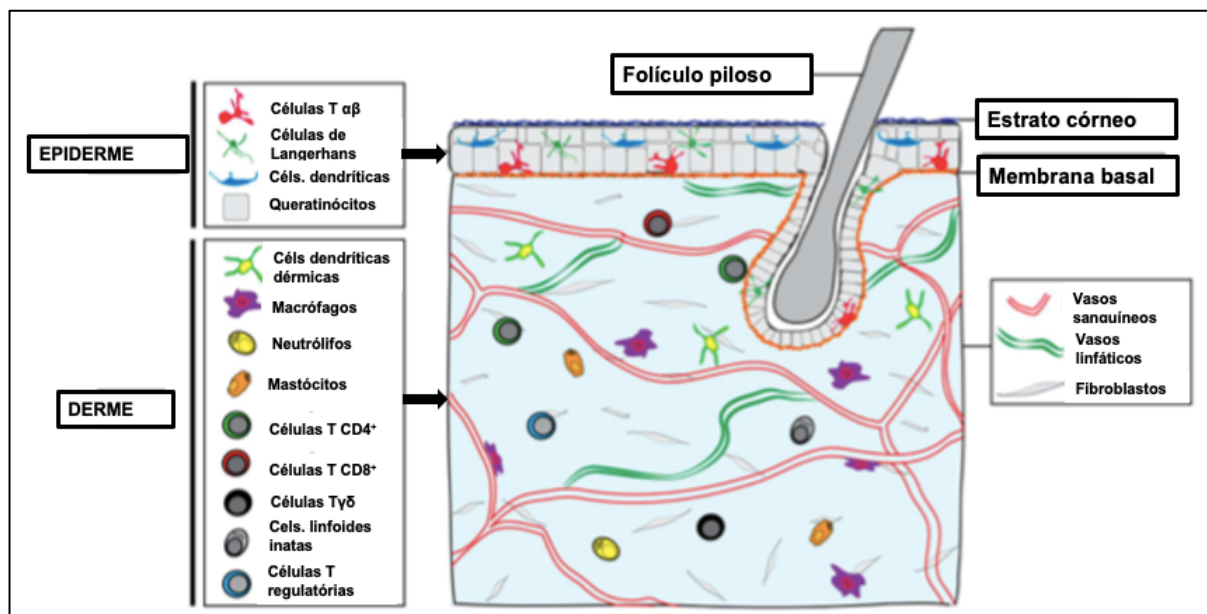
Por final, localiza-se logo abaixo da derme a região denominada hipoderme. Uma região altamente vascularizada, composta por uma grande quantidade de adipócitos que são células responsáveis por armazenamento de energia na forma de gordura. Essa região apresenta tecido conjuntivo com função de sustentação e modelagem corporal, diferenciando o corpo feminino do masculino. Essa camada isola e protege os órgãos internos e ossos. A hipoderme também conecta a pele aos tecidos subjacentes por meio de colágeno, elastina e fibras reticulares que se estendem a partir da derme. Outros componentes da hipoderme incluem vasos linfáticos, nervos, folículos capilares e leucócitos, principalmente células dendríticas, macrófagos e linfócitos residentes (sentinelas)⁴³⁻⁴⁵.

Outro aspecto que é pertinente de ser descrito nesta seção é o papel da pele como parte inerente do sistema imune. Primeiro, porque a pele, como já apresentado, desempenha um papel de barreira física que impede a invasão do organismo por substâncias exógenas estranhas e patógenos. Depois, como ilustrado na Figura 3, células do sistema imune fazem parte da constituição da pele. Inclusive, os queratinócitos, que são células epiteliais, são considerados parte inerente do sistema imune, com capacidade de apresentar antígenos via MHC I e secretar citocinas e quimiocinas^{46,47}.

Nos últimos anos, esta cada vez mais evidente que os sistemas imunes regionais participam de forma ativa na defesa do organismo. As respostas imunes que ocorrem em órgãos periféricos, como a pele, são igualmente importantes comparado àquelas que ocorrem nos órgãos linfoides primários. Um desequilíbrio na biossinalização neste nível do sistema pode levar ao surgimento de doenças de hipersensibilidade e autoimunidade⁴⁸⁻⁵².

As células imunológicas estão presentes em todas as camadas estruturais da pele em numerosas populações capazes de entrar e sair da pele como parte do programa de migração de cada uma delas. Entre estas células, as principais populações correspondem: às células de Langerhans, várias subpopulações de células dendríticas (DCs), macrófagos e distintas células T. A eficácia desse sistema depende fortemente da comunicação entre células imunes e células residentes do tecido, como por exemplo os queratinócitos e fibroblastos, além de constituintes do sistema linfático drenante^{46,52}. Na figura 3ª seguir é possível observar algumas das células imunológicas que compõe o tecido tegumentar.

Figura 3 – Sistema imune na pele



Fonte: Mueller et al.⁴⁷

Os queratinócitos, neutrófilos e as células epiteliais compreendem um grupo de células capazes de liberar uma grande quantidade de peptídeos antimicrobianos com uma vasta atividade defensiva contra bactérias, vírus e fungos. Um desequilíbrio nessa síntese pode levar ao desenvolvimento de doenças inflamatórias da pele e suscetibilidade a infecções microbianas^{48,49}. A expressão desses peptídeos pode ser regulada positivamente por algumas citocinas pró-inflamatórias, como a IL-17 e IL-22. Além disso, os queratinócitos são capazes de produzir IL-6, IL-10 e TNFs^{47,53}.

Os queratinócitos expressam distintos RRP, como por exemplo, receptores *toll-like* e receptores de citocinas e quimiocinas. Na psoríase, os mesmos expressam vários receptores de quimiocinas, tais como: CXCL9, CXCL10, CXCL11 e CCL20^{46,51}.

Diferentes tipos de DCs, além das células de Langerhans, são encontradas na pele. Essas células possuem grandes grânulos chamados grânulos de Birbeck; que têm papel quando células fazem endocitose de partículas estranhas. Essas células captam, processam e apresentam antígenos aos linfócitos T^{49,54}. As células de Langerhans expressam alguns marcadores típicos de superfície tais como o HLA-DR, o CD29, CD1a, langerina e E-caderina⁵¹. Nas respostas imunes, as DCs participam da apresentação de antígenos a partir do alongamento de seus dendritos que passam pelas junções epidérmicas para capturar antígenos. Esse mecanismo permite o reconhecimento de antígenos pelos linfócitos que poderão coordenar uma resposta imune celular e/ou humoral. As DCs são especializadas na apresentação de antígenos

e podem fazê-lo através de MCHs de classe I e/ou II^{46,54}. As DCs dérmicas podem ser distintas por moléculas de adesão que expressam, citocinas que secretam e pela capacidade de estimular células T e/ou B⁵¹.

Mastócitos também são encontrados na pele e estão localizados principalmente na derme, sendo responsáveis por proteger o organismo contra infecções e estresse causado durante o reparo de lesões. O papel mais conhecido dos mastócitos está relacionado com reações de hipersensibilidade, pois eles contêm grânulos de histamina que são liberados a partir de um estímulo alérgico ou patológico⁴⁸⁻⁵⁰. Além disso, os mastócitos respondem secretando enzimas (triptase, quimase, carboxipeptidase e catepsina), responsáveis pela degradação das proteínas da matriz extracelular⁵¹. Na inflamação crônica da pele, como por exemplo na psoríase, os mastócitos secretam citocinas, tais como o IFN- γ ^{46,51,54}.

As subpopulações de linfócitos na pele correspondem a células T, em uma população tamanha que representa quase o dobro daquela presente no sangue⁵¹. O posicionamento (*homing*) dos linfócitos na pele depende principalmente da apresentação de antígenos pelas células de Langerhans. A maioria dos linfócitos T presentes na pele são do tipo de memória, uma vez que, o epiteliotropismo linfoide ocorre a partir de um estímulo (exemplos: bacterianos, inatos, entre outros). Os linfócitos Th17, Th1 e Th2 são células efetoras importantes quando ocorrem processos inflamatórios na pele^{46,54}. Se por um lado a pele exerce um papel crucial na defesa do organismo, por outro lado elementos do sistema imune encontrados na pele também têm uma função vital que está relacionada à tolerância imunológica, sem a qual a vida do indivíduo estaria ameaçada ou relacionada a morbidades. As principais células da pele que atuam para garantir a inibição de respostas indesejadas são as Tregs que correspondem à cerca de 10% dos linfócitos da pele⁵¹.

1.1.2 Psoríase

A psoríase é uma doença crônica inflamatória imunomediada de causa poligênica que se manifesta principalmente sob formas dermatológicas ou artropáticas. Essa doença acomete mais de um sistema do corpo humano envolvendo o sistema imunológico, a pele, as articulações, entre outros⁹.

A psoríase representa um desafio significativo para a saúde pública, afetando aproximadamente 125 milhões de pessoas em todo o mundo⁵⁵. O clima parece ser um fator importante na manifestação da doença, uma vez que, o agravamento das lesões é maior nas populações que vivem em latitudes mais altas⁵. Os caucasianos apresentam uma tendência maior de desenvolvimento da doença. Em um relatório realizado pela Organização Mundial da Saúde em 2016, foi constatado que a prevalência global em caucasianos, negros e hispânicos seja de cerca de 3,6, 1,9 e 1,6% respectivamente⁵⁶. Atualmente, não existe um censo que estime a prevalência de psoríase na população brasileira, porém, dados prévios de um censo realizado pela Sociedade Brasileira de Dermatologia em 2005 estimou uma frequência de cerca de 2,5% a partir de consultas dermatológicas realizadas no país neste período.⁵⁷

A psoríase foi o décimo diagnóstico dermatológico mais frequente em 2006 (2,5% dos pacientes), e em 2018 essa frequência subiu para (4,4%)⁵⁸. Um estudo realizado por Alves e colaboradores avaliou o perfil dos pacientes atendidos na unidade de atendimento dermatológico da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), campus Tubarão/SC, no ano de 2007. Nesse estudo, onze dermatoses foram responsáveis por 72% dos diagnósticos e dentre elas, a psoríase foi a doença mais frequente entre os pacientes, sendo mais recorrente entre as mulheres⁵⁹.

1.1.2.1 Qualidade de vida

A psoríase muitas vezes leva a restrições significativas na vida cotidiana das pessoas. A coceira e a dor podem tornar as coisas do dia a dia, como caminhar ou dormir um desafio. Além disso, muitos dos afetados sofrem com preconceito e desigualdade social. Para muitos pacientes, usar camiseta e shorts ou ir à piscina no verão não é uma questão natural. Pacientes com psoríase também são frequentemente afetados por comorbidades psiquiátricas como ansiedade e depressão. Esses pacientes utilizam frequentemente estratégias de esquiva, fuga e autocontrole quando comparados aos pacientes com outras dermatoses crônicas. O impacto na vida sexual dos pacientes pode chegar a 71% dos casos⁶⁰. Já foi relatado que a psoríase está associada a um aumento de 39% na depressão e 31% na ansiedade⁶¹.

O prejuízo físico e mental é comparável ou maior do que o experimentado por pacientes de outras doenças crônicas, como câncer, artrite, hipertensão, cardiopatias e depressão. Os tratamentos disponíveis para tratar psoríase não funcionam de forma igual para todos, uma vez que, fatores genéticos e ambientais estão relacionados com a doença. O tratamento ideal para cada caso depende de um diagnóstico clínico e pode ser um processo demorado e oneroso. Além disso, os pacientes sofrem com efeitos colaterais consideráveis e a grande maioria relata frustração com a eficácia do tratamento^{60,62}.

1.1.2.2 Diagnóstico e formas clínicas de psoríase

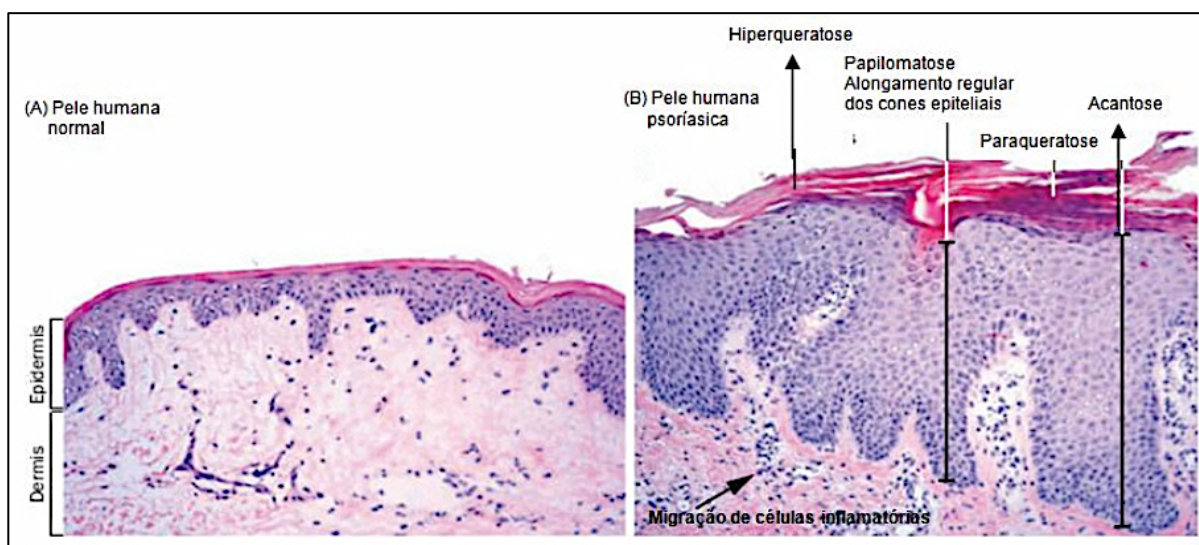
Os dermatologistas são habitualmente os médicos que diagnosticam e tratam a psoríase. O diagnóstico é realizado por meio da apresentação clínica dos sinais e sintomas do paciente, exames clínicos e diagnósticos de imagem (no caso das formas artríticas da doença). As formas dermatológicas de psoríase são de longe, as mais prevalentes. Elas também são principal foco de atenção do presente trabalho e, portanto, o diagnóstico dessas formas será mais enfatizado nesta seção. Em termos de diagnóstico das formas dermatológicas da doença podem ser observadas alterações relacionadas à pele e ao sistema imune².

O diagnóstico é iniciado em princípio considerando a idade, o contexto, a severidade e a morfologia das lesões. Tipicamente, a doença apresenta-se na forma de placas espessas e eritematosas cobertas de escamas esbranquiçadas e nacaradas em um tecido fortemente descamativo. O diagnóstico da doença geralmente é determinado em âmbito clínico. O que não significa dizer que o diagnóstico seja uma tarefa extremamente fácil. Em alguns casos, ele pode levar um bom período de tempo⁶³. O diagnóstico pode ser feito de forma diferencial. O clínico diferenciar a doença de eczemas, micoses, lúpus cutâneo, líquen plano, pitiríase rubra pilar, pitiríase rósea, doença de Bowen e sífilis secundária⁶⁰. Se houver suspeita de envolvimento articular (psoríase artropática), uma ultrassonografia ou ressonância magnética da articulação afetada pode auxiliar no diagnóstico. Na área dermatológica, ainda em casos duvidosos, uma biópsia da pele pode ser solicitada e auxiliar no diagnóstico.

Na análise histoanatomopatológica de amostras de pele psoriática é possível observar acantose, paraceratose, hiperqueratose, edema dérmico, infiltrado de células T, neutrófilos, monócitos e macrófagos. Os queratinócitos apresentam-se em um estado hiperproliferativo e com diferenciação anormal, o que leva a um espessamento da epiderme com descamação intensa, com cones epiteliais alongados (acantose). O estrato córneo da pele apresenta-se com depósitos exagerados de queratinócitos anômalos com diferenciação incompleta e com retenção dos núcleos celulares na camada córnea da pele, processo denominado paraceratose⁶⁴. A diferenciação descontrolada dos queratinócitos está fortemente ligada com as interleucinas liberadas pelos linfócitos T.

Nas amostras de pele psoriática, a existência de queratinócitos hiperplásicos é prevalente e o infiltrado de células imunológicas constante. As papilas dérmicas também se encontram alongadas e edemaciadas (papilomatose) e a camada granulosa fortemente diminuída ou ausente, em todas as formas dermatológicas de psoríase. Dentro das placas psoriáticas existem queratinócitos hiperplásicos, monócitos infiltrantes e células endoteliais ativadas (angiogênese psoriática)⁶⁵. Na Figura 4 foram ilustradas características da pele normal em comparação à pele psoriática.

Figura 4 - Comparação histológica entre pele saudável e psoriática



Fonte: Wagner et al.⁶⁶.

Os exames bioquímicos e hematológicos não são muito úteis para diagnosticar a doença, embora sejam necessários para avaliar qualquer comorbidade associada,

como diabetes, colesterol alto, hipertensão e função renal. Avaliações periódicas devem ser feitas principalmente para monitorar a evolução da doença, portanto, para adaptar a terapia com base na evolução clínica da doença.

A forma mais comum da doença é a forma dermatológica chamada de psoríase vulgar, que aparece na forma de placas com as características típicas descritas anteriormente. Quando em exacerbação, aparecem lesões principalmente no couro cabeludo, joelho, unhas, cotovelos, genitálias, braços, mãos, entre outros⁶⁷. A forma vulgar apresenta maior prevalência entre os pacientes, chegando a praticamente 90% dos casos dermatológicos, causando lesões sobre a pele que são vermelhas na base e cobertas por escamas prateadas⁵.

Outra forma dermatológica menos prevalente é a psoríase gutata que causa pequenas lesões em formato de gota disseminadas pelo corpo, particularmente na região do tronco, membros e no couro cabeludo⁶⁸. São cobertas por uma fina escama, diferente das placas típicas da psoríase que são grossas. Já a psoríase flexural ou psoríase inversa é responsável por desencadear lesões lisas e avermelhadas nas regiões intertriginosas da pele⁶⁹. Ela chega a acometer até 26% dos pacientes⁵.

Figura 5 - Características das lesões psoriáticas em humanos.



Fonte: Jones et al.⁷⁰

Na psoríase palmar e plantar, as lesões aparecem como fissuras nas palmas das mãos e nas "plantas" (solas) dos pés, onde apresenta-se com intensa hiperqueratose, prurido e dor. Geralmente, as lesões aparecem de maneira bilateral e simétrica⁷¹. Na psoríase ungueal as unhas dos dedos das mãos e dos pés ficam esbranquiçadas. Elas podem crescer anormalmente com descoloração podendo soltar-se e cair⁶⁹. Já a psoríase pustulosa, manifesta-se de forma generalizada ou localizada, causando bolhas cheias de pus estéril. As exacerbações podem ser

causados por infecções secundárias, medicamentos, estresse ou determinados produtos químicos⁷². Esta forma tem prevalência estimada entre 1,1% e 12% dos casos⁵.

Figura 6 - Características das lesões psoriáticas em humanos.



Fonte: Jones et al.⁷⁰

Na psoríase artropática, as articulações apresentam-se doloridas, inchadas e com grande processo inflamatório⁷² e estima-se uma prevalência global de aproximadamente de 0,1%⁷³. Trata-se de uma forma de artrite semelhante a artrite reumatoide, mas é fator reumatoide negativa. Esse tipo de psoríase pode afetar qualquer articulação desencadeando rigidez e danos articulares progressivos que, nos casos mais graves, podem levar a deformidade permanente. A psoríase eritrodérmica é a forma dermatológica mais severa da doença, sendo caracterizada por lesões que podem se tornar sistêmicas e generalizadas, acometendo cerca de 90% da superfície corporal. Se não tratada, pode ser fatal³. As lesões avermelhadas são muito pruriginosas⁷². Na psoríase eritrodérmica a prevalência global estimada é de aproximadamente 4% e 7% dos casos⁵.

Figura 7 - Características das lesões psoriáticas em humanos.



Fonte: Junior et al.⁶⁹

1.1.2.3 Ferramentas utilizadas para definição da modalidade terapêutica

Atualmente, o tratamento disponível para psoríase ainda é somente paliativo. No entanto, nos últimos anos, houve forte avanço no desenvolvimento de alternativas terapêuticas modernas que chegam a permitir, por exemplo, o desaparecimento completo das lesões, mesmo que transitoriamente. Inclusive, muitas vezes, bastante prolongado, o que tem causado um impacto muito mais favorável na qualidade de vida do paciente quando comparado ao passado. Existem várias modalidades terapêuticas para psoríase, que podem ir desde alterações comportamentais, fototerapia; sendo verdade que a maioria delas são alternativas farmacológicas. Sendo assim, para definir qual modalidade terapêutica é mais apropriada para cada paciente, ou seja, para individualizar o tratamento, durante a avaliação clínica, os pacientes são classificados como visto anteriormente^{74,75}. Atualmente existem instrumentos que permitem graduar a gravidade da lesão (Physician Global Assessment – PGA)⁷⁶, a extensão da psoríase pelo *Psoriasis Area and Severity Index* (PASI)⁷⁷ e a qualidade de vida dermatológico do paciente (DLQI)⁷⁸.

O PGA permite de forma rápida e prática avaliar e graduar a psoríase a cada consulta médica a partir de uma impressão em relação ao aspecto do doente. Neste método se avalia individualmente a severidade de lesões partindo dos critérios de eritema, infiltração ou descamação. Esta avaliação resulta em escores entre: escore 0 - remissão completa; escore 1 - psoríase quase em remissão; escore 2 - psoríase leve; escore 3 - psoríase leve a moderada; escore 4 - psoríase moderada; escore 5 - psoríase moderada a grave; escore 6 - psoríase grave⁷⁶.

O PASI trata-se de uma estimativa subjetiva calculada pelo avaliador onde o corpo é dividido em membros inferiores, membros superiores, tronco e cabeça. Para tanto, o clínico avalia o eritema, infiltração e descamação, dando uma nota que decorre entre 0 e 4. A pontuação desses fatores é multiplicada pela extensão da doença em cada região e, posteriormente, também pela porcentagem de superfície corporal que aquela região representa. No final, pode-se obter resultados de 0 a 72 que corresponde a psoríase em leve (PASI igual ou inferior a 10) e moderada a grave (PASI superior a 10). O índice mais frequentemente utilizado para documentar a efetividade de terapias individuais para psoríase extensa é o PASI-75 que representa melhora superior a 75% do escore medido pelo PASI⁶⁰.

Em relação à qualidade de vida do paciente, o DLQI trata-se de um questionário individual que avalia o impacto da doença na vida do paciente. Esse questionário é composto por dez perguntas considerando seis diferentes aspectos: Sintomas e sentimentos, atividades diárias, lazer, trabalho e escola, relações pessoais e tratamento. Cada item é pontuado de 0-3, e o escore total varia de 0-30, sendo melhor a qualidade de vida quanto menor o escore. Uma redução de 5 pontos no escore total tem demonstrado significância clínica como desfecho positivo de uma intervenção terapêutica⁷⁸.

No geral, o resultado da avaliação dos pacientes indica que as formas mais prevalentes da doença são formas dermatológicas que podem representar mais de 90% dos casos³. Casos leves são a maioria, quando acomete menos de 5% da superfície corporal. Uma estimativa indicou que aproximadamente 80% dos casos são leves a moderados⁷⁹. Cerca de 20%-30% dos pacientes com psoríase irão desenvolver artrite psoriática, e cerca de 84% dos pacientes com artrite psoriática desenvolvem lesões cutâneas⁶⁰.

1.1.6.4 Tratamentos tópicos

1.1.2.4 Tratamento tópico

De acordo com a CONITEC, o tratamento tópico deve ser direcionado para pacientes com psoríase tegumentar leve, ou seja, aqueles pacientes que apresentarem escore PASI igual ou inferior a 10, com acometimento igual ou inferior a 10% da superfície corporal e DLQI igual ou inferior a 10 (a maioria dos casos)^{60,79}. Sempre que possível, o tratamento por via tópica é preferido porque apresenta como vantagem a possibilidade de minimizar os efeitos colaterais. Usualmente, estes casos são tratados principalmente com corticoides formulados em pomadas, cremes ou loções emolientes, o que pode incluir ureia na formulação em concentração que varia de 5 - 20% ou queratolíticos como o ácido salicílico em concentração de 3 a 6%^{60,70}. Para dar início ao tratamento, é necessário levar em consideração as indicações e contraindicações dos fármacos, o perfil socioeconômico de cada paciente e as comorbidades existentes⁸⁰.

A administração de propionato de clobetasol, valerato de betametasona e propionato de fluticasona são os principais exemplos de fármacos utilizados na corticoterapia por via tópica. O mecanismo de ação dos corticoides é mediado

intracelularmente, a partir de receptores de glicocorticoide (GR) encontrados no citoplasma ou núcleo das células. Eles são quase que onipresentes na pele. O receptor de glicocorticoides possui duas isoformas que são chamados de GR α e GR β ⁸¹.

Os corticoides entram na célula por difusão passiva e ligam-se ao seu receptor, causando efeito relacionado à alteração da transcrição de até 100 genes. Os corticoides reduzem a quimiotaxia leucocitária, modulam a síntese e a liberação de citocinas e quimiocinas, diminuem a síntese de DNA e inibem a fosfolípase A2, que por sua vez inibe a formação de prostaglandinas e leucotrienos. Além disso, inibem o fator de transcrição nuclear NF- κ B, que é relacionado à resposta inflamatória. Estes fármacos ainda podem diminuir proteínas de adesão leucocitária e fatores de crescimento; eles inibem a COX2⁸¹.

O uso prolongado de corticoides está relacionado com efeitos colaterais indesejáveis, tais como: atrofia epidérmica e dérmica, hipertricose, eritema, telangiectasias e dermatite. Os corticoides são contraindicados em dermatoses e dermatites em crianças com menos de 1 ano de idade, no caso de infecções cutâneas ou no couro cabeludo não tratadas, na presença de rosácea, acne vulgar e tuberculose da pele; na infecção por herpes simples e varicela; dermatite perioral e prurido genital e perianal⁶⁰.

Outra modalidade terapêutica é representada pelo fármaco calcitriol (o metabólito ativo da vitamina D) e o calcipotrieno; um análogo sintético da vitamina D. Eles modulam a diferenciação e inibem a hiperproliferação dos queratinócitos, regulando a expressão gênica⁸². Na psoríase, existe uma série de fatores pró-inflamatórios que regem à sinalização autoimune. As IL-12, IL-23 e TNF desempenham papel fundamental no processo inflamatório nos casos de psoríase. Os análogos de vitaminas D inibem a biossíntese das citocinas pró-inflamatórias. Essa classe de medicamentos é segura e a maioria dos efeitos colaterais está relacionada a reações nas áreas de aplicação, como eritema, prurido e sensação de queimação⁸³. A hipercalcemia é uma contraindicação⁶⁰.

O tazaroteno é um retinoide de terceira geração que foi lançado na metade da década de 90. Foi o primeiro fármaco retinoide indicado para uso tópico e aprovado para tratamento da psoríase⁸⁴. Na psoríase, o processo de maturação ou diferenciação das células epiteliais é anormal e precoce, aumentando assim o

depósito de queratinócitos na camada córnea da pele⁹. O tazaroteno liga-se especificamente nos receptores de ácido retinoico encontrados no tecido epitelial, regulando negativamente os mediadores de diferenciação e proliferação dos queratinócitos, além de suprimir a expressão dos receptores *toll-like*⁸⁴. O fármaco induz a expressão de genes que medeiam um efeito antiproliferativo^{85,86}. Os efeitos colaterais mais comuns do tazaroteno são a irritação local na pele⁸⁷. Os derivados retinoides tópicos são contraindicados no período de gestação, lactação e quando o paciente possuir hipersensibilidade a outros derivados retinoides (isotretinoína, etretinato, dentre outros)⁶⁰.

O alcatrão de carvão foi um recurso utilizado em lesões psoriáticas há mais de um século, porém, caiu em desuso por conta das manchas e sujeiras que causava às vestimentas. Antes mesmo do surgimento dos corticoides, já era reconhecido os efeitos benéficos que o alcatrão exercia, aliviando a sensação de coceira. O mecanismo pelo qual o alcatrão reduz a manifestação psoriática até hoje não foi bem esclarecido, porém, os efeitos parecem ser baseados em interferência na síntese de DNA, o que leva à redução da hiperproliferação da pele psoriática responsável pelo espessamento da epiderme^{88,89}. Além do desconforto relacionado às manchas e a sujeira, o alcatrão do carvão pode, em alguns casos causar dermatite de contato irritativa, foliculite e fotossensibilidade aos raios UVA, como efeitos colaterais indesejáveis.

1.1.2.5 Fototerapia na psoríase

A fototerapia é normalmente prescrita por um dermatologista. Ela é baseada em exposições regulares da pele à radiação ultravioleta (UV)⁹⁰. Não há como negar que a fototerapia é efetiva para o tratamento da psoríase. No entanto é indicada em casos de acometimento extenso da pele, ou seja, quando acomete mais de 10% da área corporal⁹¹. Apesar das terapias tópicas e sistêmicas apresentarem maior efetividade, a radiação UV constitui uma abordagem relativamente segura (se prescrita com critério) e eficaz. Como vantagens, a fototerapia dispensa alguns medicamentos e não necessita de cuidados extremos após as sessões⁹². Esta modalidade terapêutica foi utilizada em larga escala há mais de 75 anos e a melhor dose terapêutica parece permanecer entre 254-313 nm. Entretanto, é dividida em UVA

(400 – 320 nm) e UVB (320 – 290 nm), alcançando a derme e a epiderme, respectivamente. Existe ainda, a radiação UVC (290 – 200 nm) que não é natural, ou seja, refere-se a um tipo de radiação que não chega à superfície terrestre⁹³.

A radiação UVB causa imunossupressão local, redução da hiperproliferação epidérmica, apoptose de linfócitos T, interfere na produção de proteínas e ácidos nucleicos, além de causar redução do número de células apresentadoras de antígenos (células de Langerhans)⁹⁰. A terapia com UVB parece diminuir os níveis séricos do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e de IL-8 em pacientes com psoríase⁶⁰. A fototerapia com radiação UVB está indicada para pacientes que não toleram medicamento por via oral, que muitas vezes relatam rápida melhora com exposição solar, que apresentam lesões de espessura fina, pacientes em gestação ou lactação e pacientes pediátricos⁹⁴.

A fototerapia com radiação UVA, também denominada PUVA, é outra alternativa de tratamento, especialmente utilizada nos casos em que a terapia com radiação UVB não foi suficiente. Na PUVA, é necessária a utilização de um fármaco fotossensibilizador, ou seja, uma pomada contendo psoralenos. Esta classe de fármacos possui como característica química o fato de causar aumento da sensibilidade da pele aos raios UV⁶⁰. Os psoralenos são fármacos utilizados amplamente na terapia fotodinâmica. Sua principal natureza química são furocumarínicos tricíclicos, derivados de plantas como *Ammi majus*, *Psoralea coryfolia* ou derivados fabricados sinteticamente. O mais utilizado é o 8-metoxipsoraleno (conhecido como 8-MOP)⁹⁵.

Meia hora após a administração do psoralenos na região foco de tratamento, a pele é exposta à radiação UVA. Os psoralenos liberam energia que causam danos às células psoriáticas, diminuem a concentração de interleucinas no local, além de ligar-se às bases pirimidínicas do DNA, causando apoptose celular, em uma espécie de fotoquimioterapia. Nesse caso, a geração de espécies reativas de oxigênio fazem parte do efeito benefício do tratamento, uma vez que, danificam estruturas das células patogênicas e promovem lesão na região de tecido acometido⁹⁶. A PUVA está indicada para pacientes com placas espessas, com envolvimento palmoplantar, com lesões ungueais e pacientes que apresentaram falha terapêutica à fototerapia com radiação UVB⁶⁰.

Algumas modalidades fototerapêuticas são possibilidades disponíveis para o tratamento na infância⁹¹. É totalmente contraindicada para pacientes com albinismo, lúpus sistêmicos, portadores de xeroderma pigmentoso e histórico de melanoma. As duas formas de fototerapia apresentadas podem ser combinadas, ajustando certos parâmetros. Entretanto, ainda faltam estudos relacionados sobre a fotocarcinogênese que é considerada uma possibilidade⁷⁴.

1.1.2.6 Formas de tratamento sistêmico

De acordo com a CONITEC⁶⁰, o tratamento sistêmico deve ser iniciado por pacientes com psoríase tegumentar moderada à grave, ou seja, aqueles pacientes que apresentarem escore PASI superior a 10; acometimento maior que 10% da superfície corporal; DLQI maior que 10; psoríase palmoplantar resistente aos tratamentos tópicos de uso padrão com uso contínuo por mais de 3 meses; psoríase acometendo áreas especiais, como genitália e rosto, resistentes aos medicamentos tópicos com uso contínuo por mais de 3 meses; ou psoríase acometendo extensamente o aparelho ungueal (onicólise ou onicodistrofia em ao menos duas unhas)⁶⁰. Os medicamentos orais são utilizados nos casos em que somente o tratamento tópico não foi suficiente para conter a severidade das lesões. Muitas vezes, nos casos severos, medicamentos tópicos e sistêmicos são administrados simultaneamente⁶⁰.

A administração oral ou parenteral de corticoides é utilizada somente na psoríase eritrodérmica, artrite psoriática e nas formas mais graves de psoríase (PASI superior a 10), podendo ter como efeitos colaterais a síndrome de Cushing, osteoporose, diminuição do cortisol plasmático, dentre outros⁹⁷. Os efeitos colaterais sistêmicos estão relacionados com aumento da pressão sanguínea, aumento do risco de infecções, retenção hídrica, depressão, imunossupressão, danos ósseos e musculares, dentre outros⁹⁸.

O metotrexato é um antimetabólito, em princípio, utilizado pela oncologia. Devido ao seu potencial imunossupressor, à sua participação na modulação imunológica na psoríase, passou a ser utilizado em pacientes oncológicos que eram portadores de lesões psoriáticas em placas. Foi então que os médicos perceberam que a melhora era significativa e a partir de então por alguns anos o metotrexato foi

introduzido no tratamento da psoríase⁹⁹. O mecanismo de ação do metotrexato na psoríase não está bem estabelecido, porém, é sabido que uma de suas características farmacológicas é a redução da síntese de ácidos nucleicos em linfócitos T ativados e queratinócitos¹⁰⁰. O metotrexato é um inibidor de enzimas de biossíntese de purinas, pirimidinas e tetraidrofolato, o que influencia os níveis séricos de adenosina. É um antagonista do folato, levando a um bloqueio na síntese de DNA, principalmente em células de rápida divisão^{100,101}. A atividade anti-inflamatória do metotrexato na psoríase ainda não é bem compreendida, porém, acreditasse até o momento que exista uma relação com indução de apoptose e deleção clonal de células T ativadas, supressão na biossíntese de purinas, inibição de citocinas inflamatórias e inibição de moléculas de adesão de leucócitos¹⁰².

O uso do metotrexato foi descontinuado por conta da excessiva toxicidade e efeitos colaterais. Dentre os efeitos adversos mais comuns, a imunossupressão era a mais preocupante, visto que aumentava o risco de infecções. Causava função hepática alterada e leucopenia (pela supressão da medula óssea) acompanhada por um pacote de outros efeitos colaterais. O metotrexato tem contraindicação absoluta em casos de gestação, lactação e concepção (homens e mulheres), insuficiência hepática e renal graves, síndromes de imunodeficiência, discrasias sanguíneas (hipoplasia medular, leucopenia, trombocitopenia ou anemia)⁶⁰.

A acitretina é uma droga pertencente ao grupo dos retinoides muito utilizada na forma oral pelos pacientes com psoríase severa¹⁰³. O mecanismo de ação ainda não está bem esclarecido, mas se sabe que os retinoides ligam-se em receptores nucleares e alteram a expressão de vários genes⁸⁴. Sua principal característica é a modulação da proliferação e diferenciação das células da epiteliais. Na derme, a acitretina inibe a migração de glóbulos brancos para a epiderme e reduz em aproximadamente 65% os linfócitos T CD25 na lesão. A acitretina é um medicamento com baixa citotoxicidade¹⁰⁴. Dentre os efeitos colaterais, a teratogenicidade é a mais preocupante, entretanto, esse fármaco é o agente sistêmico mais seguro para tratamentos a longo prazo. Hiperlipidemia e toxicidade hepática podem ser recorrentes se o uso for indiscriminado. A acitretina reduz a ocorrência de cânceres cutâneos e é utilizada na quimioprevenção em pacientes que tenham desenvolvido carcinomas de pele a partir de terapias carcinogênicas¹⁰⁵. Este medicamento é totalmente contraindicado para gestantes, no período de lactação, pacientes com

insuficiência hepática ou renal graves, quadro de hipertrigliceridemia grave e etilismo⁶⁰.

Outro imunossupressor muito utilizado é a ciclosporina, da classe dos inibidores de calcineurina¹⁰⁶. Extraída de um fungo chamado *Tolypocladium inflatum*, consegue atuar na diminuição da secreção de citocinas pró- inflamatórias. Esse medicamento foi desenvolvido e aprovado para prevenção e rejeição de órgãos transplantados. Atualmente, seu papel na terapia da psoríase já está bem estabelecido, exercendo efeito inibitório sobre a ativação dos linfócitos T¹⁰⁷. Após a administração do fármaco, o agente liga-se à uma imunofilina denominada ciclofilina, formando um complexo que inibe a enzima calcineurina, uma fosfatase proteica serina/treonina dependente de cálcio e calmodulina. A calcineurina ativa o fator nuclear da célula T, que no núcleo regula positivamente a expressão de interleucinas. Esse bloqueio inibe o sinal de transdução celular que por fim inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-2 e interferon- γ . A diminuição dos fatores pró-inflamatórios, consequentemente reduz a ativação de linfócitos T, estes sensíveis a ação da ciclosporina¹⁰⁸.

A ciclosporina é uma substâncias muito efetiva na terapia da psoríase em placas, em casos moderados a graves em adultos⁶⁰. Sua associação com acitretina e metotrexato era muito recorrente entre os dermatologistas, o que permitia doses menores com maiores chances de eficácia. Antes de o metotrexato cair em uso somente em exceções, observava-se que a combinação de ciclosporina com metotrexato aumentava o efeito terapêutico e minimizava os efeitos adversos que eram desenvolvidos com o uso persistente de um único agente em doses mais altas. No controle de exacerbações agudas a associação medicamentosa ainda é considerada útil para conter a proliferação queratinócítica⁷². Aydin et al., conduziram um estudo com 20 pacientes portadores de psoríase em placas, onde os mesmos foram tratados com a combinação de ciclosporina 3,5mg/kg/dia em duas doses iguais e metotrexato 10mg intramuscular em dose única semanalmente. Em aproximadamente 9 semanas, a melhora das lesões já eram significativas em 70% dos participantes da pesquisa e em determinados pacientes a resposta ao tratamento era quase que imediata¹⁰⁹. Já a associação feita com ciclosporina e acitretina é realizada com a intenção de minimizar o alastramento das lesões pré-malignas que ocorrem a partir dos efeitos adversos da ciclosporina⁷⁴.

A ciclosporina apresenta rápida melhora nas lesões psoriáticas e a relação risco-benefício é aceitável para um tratamento de curta duração (máximo 12 semanas). Entretanto, esse fármaco possui diversas contraindicações, tais como: gravidez e lactação, insuficiência renal, disfunção hepática, hipertensão, infecções não controladas, doenças malignas, uso concomitante com fototerapia, uso concomitante com agentes imunossupressores, retinoides ou uso prévio, em longo prazo, de metotrexato⁶⁰.

Protocolos de tratamento com associações de medicamentos sistêmicos (tais como retinoides ou ciclosporina) apresentam resultados positivos na contenção das dermatoses. Geralmente a associação de uma ou mais classes de fármacos está relacionado com o grau de severidade das lesões⁹⁵.

1.1.2.7 Compostos biológicos

Nas últimas décadas, a indústria farmacêutica alcançou grandes contribuições para a medicina por meio do desenvolvimento de medicamentos biológicos eficazes para tratar diversas doenças, inclusive as autoimunes, graças às inovações tecnológicas dos compostos biológicos⁶⁰. A produção de fármacos sintéticos parece diminuir enquanto a biotecnologia contribui na obtenção de anticorpos monoclonais, hormônios, citocinas, fatores de crescimento, entre outros¹¹⁰. A química se fez parceira da biologia molecular e indústria farmacêutica, antes inimagináveis. Agora são produzidos fármacos a partir do cultivo celular. O domínio da técnica de DNA recombinante na década de 1970 deu suporte para essa nova fase, revolucionando várias áreas de conhecimento¹¹¹.

Entre os compostos biológicos estão princípios ativos de medicamentos inovadores para o tratamento de doenças crônicas, como câncer, diabetes, artrite reumatoide, psoríase, outras doenças autoimunes e muitas outras. Os medicamentos biológicos são produzidos e extraídos de organismos vivos, como bactérias e células humanas. Das bactérias, tendo como exemplo a *E. coli*, são obtidos por tecnologia de DNA recombinante, insulina, eritropoietina, hormônio do crescimento, entre outros, ao passo que, os anticorpos monoclonais são obtidos a partir de um linfócito B monoclonal e são administrados em especial em doenças autoimunes¹¹². Diferente dos medicamentos sintéticos tradicionais, que são em geral pequenas moléculas

constituídas por dezenas ou centenas de átomos, os medicamentos biológicos são formados por macromoléculas constituídas de milhares de átomos. Por esse motivo, os biofármacos precisam ser administrados por via parenteral, uma vez que sua estrutura pode ser digerida ou não absorvida pelo trato gastrintestinal¹¹³.

A obtenção das macromoléculas foi possível a partir do domínio da tecnologia chamada de DNA recombinante¹¹⁴. As células hospedeiras recebem um gene com uma sequência específica de ácidos nucleicos de interesse, transformando-a em uma fábrica de anticorpos monoclonais, por exemplo. Após o cultivo celular e produção da proteína, inicia-se o processo de separação e purificação do produto obtido, envolvendo procedimentos complexos de modo a garantir a esterilidade e estabilidade das proteínas/anticorpos/peptídeos. Usados no tratamento de doenças importantes, os biofármacos mais importantes são as citocinas, hormônios, fatores de crescimento e de coagulação sanguínea, os anticorpos monoclonais e as vacinas¹¹².

Diferentes dos medicamentos sistêmicos tradicionais que afetam todo o organismo, os fármacos biológicos são gerados para atuar em um alvo específico¹¹⁵. Na psoríase, o tratamento com anticorpos monoclonais já é uma realidade e alvos como o TN, IL-17, IL-12 e IL-23 já possuem mais de um medicamento que atuam sobre eles. A indicação para o uso se dá quando o paciente já possui idade superior a 18 anos, quando as terapias medicamentosas clássicas se mostrarem ineficazes ou não toleradas e para pacientes com incapacidade física devido a artrite psoriática¹¹⁶.

O adalimumab⁷⁴, um anticorpo monoclonal anti-TNF foi o primeiro anticorpo monoclonal que veio ao encontro do tratamento da psoríase, desenvolvido pela primeira vez em 2002 pelo laboratório *Vetter Pharma-Fertigung*, sediado em Ravensburg (Alemanha). O tratamento com o do adalimumabe é recomendado como primeira etapa de segunda linha após falha, intolerância ou contraindicação ao uso da terapia clássica¹¹⁷. Anos posteriores outros nomes apareceram no mercado, tais como: etanercept⁶⁰ em 2004, infliximab¹¹⁸ no ano de 2006 e certolizumab¹¹⁹ em 2018. Atualmente¹²⁰, o etanercept é o único fármaco biológico aprovado para o uso em pacientes pediátricos (menores de 17 anos), e está recomendado como primeira etapa de segunda linha após falha o tratamento clássico. O bloqueio da produção de TNF ajuda a interromper o ciclo inflamatório da doença psoriática⁶⁰. No entanto, o composto não é isento de efeitos adversos que podem ser graves e decorrem entre aumento na incidência de infecções oportunistas, reativação da hepatite B,

tuberculose, doença desmielinizante do sistema nervoso central, desenvolvimento de linfomas, reações alérgicas, imunossupressão, alterações cardíacas, alterações hepatobiliares dentre outros¹²¹.

As terapias direcionadas para o eixo IL-23-IL-17 é a classe mais recente estudada, uma vez que a IL-23 induz linfócitos T auxiliares a secretar a IL-17 que em nível de queratinócitos aumenta a secreção de quimiocinas, TNF e INF gama. O primeiro anticorpo monoclonal desenvolvido para esse eixo foi o ustekinumab¹²², em 2009 pela empresa farmacêutica *Cilag AG*, sediada em Schaffhausen (Suíça). Posteriormente a indústria farmacêutica colocou no mercado o guselkumab, que em 2017, foi o primeiro inibidor da IL-23 aprovado para o tratamento de psoríase em placas e, em 2018, foi aprovado para tratamento de artrite psoriática¹²³, além do tildrakizumab¹²⁴ (em 2018) e o risankizumab¹²⁵ (2019). Percebe-se que são inovações recentes. Se por um lado estes compostos representam avanços, a indicação deles depende de uma criteriosa avaliação na relação risco-benefício, pelo custo alto dos mesmo e porque efeitos adversos importantes começam a ser relatados. Os efeitos adversos mais pertinentes que podem fazer o paciente não suportar esta modalidade terapêutica são: aumento de infecções virais, reativação de infecções latentes, reações de hipersensibilidade, insuficiência hepática e renal¹²⁶.

A estratégia do bloqueio da IL-17 em pacientes com psoríase parece ser a mais promissora, pois a IL-17 é indicada pela maioria dos estudos científicos como a principal citocina efetora envolvida na patogenia da psoríase. Nas lesões psoriáticas, existem níveis elevados de IL-17 que por sua vez, na resposta inflamatória, traduz-se em recrutamento e acúmulo de neutrófilos, linfócitos e fatores pro-inflamatórios nas lesões. Atualmente, dois anticorpos monoclonais são capazes de inibir o eixo de biossinalização da IL-17: o secukinumab¹²⁷ desenvolvido em 2015 pela *Novartis Pharma Stein*, sediada em Stein (Suíça) e ixekizumab¹²⁸, desenvolvido em 2017 pela empresa farmacêutica *Eli Lilly and Company*, sediada em Indianápolis (EUA). Segundo a CONITEC, o secuquinumab é indicado na segunda etapa após a falha, intolerância ou contraindicação ao adalimumabe (anti-TNF)¹²⁹. O brodalumab⁶⁰, outro composto desenvolvido, atua de forma um pouco diferente; ele bloqueia o receptor da IL-17, diminuindo assim a biossinalização mediada pela mesma. É indicado no tratamento da psoríase em placas (nas formas moderada, crônicas e severas). No entanto, também começam a aparecer relatos de efeitos adversos significativos, tais como:

aumento de Infecções por bactérias e vírus, reativação de tuberculose, reações de hipersensibilidade e imunogenicidade¹³⁰.

Cuidados especiais no armazenamento dos medicamentos biológicos é de suma importância para garantir eficácia deles, uma vez que, a estabilidade é garantida quando armazenados sob refrigeração, não podendo ser congelados. Em altas temperaturas, os medicamentos perdem sua eficácia. Apesar de serem formas de tratamento modernos com diversas possibilidades, esses tratamentos envolvem um custo bastante alto e podem acompanhar uma série de efeitos adversos, tais como: ocorrência de infecções, reações infusionais, reações hematológicas, neurológicas, gastrointestinais, cardiovasculares, entre outros¹³¹.

O uso de pequenas moléculas que neutralizam (interferem na) a biossinalização por citocinas por meio de agentes biológicos melhorou significativamente a eficácia terapêutica do tratamento de doenças autoimunes, incluindo a psoríase. Esses medicamentos são geralmente seguros e bem tolerados, mas, como qualquer medicamento novo, efeitos indesejáveis também começam a ser relatados. Na psoríase, os riscos basicamente associados ao tratamento com estes biofármacos incluem o aumento do risco de infecção no trato urinário, gastrintestinal, infecção no trato respiratório superior e inferior, peles e outros tecidos moles, infecções heréticas e artrite séptica¹³².

Já tem sido registrado que pacientes tratados com inibidores da IL-17 tem risco aumentado de infecção por *Candida albicans*, ao passo que, pessoas com déficit de IL-23 são susceptíveis a bactéria salmonela¹³³. Shalom em 2015¹³⁴, observou em seu trabalho que o uso de produtos biológicos em combinação com o metotrexato, pode aumentar o risco de reativação de uma infecção por vários vírus, tendo como exemplo o vírus *Herpes zoster*. A tuberculose é uma das condições mais graves e recorrentes em pacientes em tratamento com biológicos. Esses pacientes costumam aparecer com diagnóstico de tuberculose extrapulmonar e disseminada precocemente ou tardiamente. Tratamentos com adalimumabe e Infliximabe (anti-TNF) podem predispor à ativação de casos de tuberculose latente, podendo culminar em óbito. Nos casos de tuberculose latente não é recomendado o uso de adalimumabe e etanercept e os biológicos indicados pela CONITEC são os ustekinumabe ou secukinumab².

1.1.2.8 Limitações, desafios e desenvolvimento de novos medicamentos

Como demonstrado, existem várias opções terapêuticas para tratar psoríase atualmente. Por outro lado, um estudo muito significativo foi publicado por uma parceria multinacional de pesquisadores originários da América do Norte (Canadá e Estados Unidos) e mais cinco países da Europa (Reino Unido, Espanha, França, Alemanha e Itália); um estudo realizado desta forma para reduzir ao máximo vieses determinados por fronteiras geográficas e de estudos baseados em dados obtidos de amostras de sujeitos originários de clínicas em específico. Este estudo teve autoria de Lebwohl et al.⁷ e foi publicado no Jornal da Academia Americana de Dermatologia. Foi um estudo populacional multinacional que envolveu 3.426 pacientes com psoríase e 781 médicos/clínicos. Este estudo, entre outros, embasaram um relatório sobre psoríase que foi apresentado e discutido na 67ª Assembleia da OMS. Nesta assembleia foi reconhecida a necessidade de aumentar a conscientização em relação à doença da psoríase, o combate à estigmatização sofrida por pessoas com psoríase, e em particular, através de atividades realizadas anualmente. Foi criada a Resolução EB133.R2¹³⁵ que instituiu o dia 29 de outubro nos Estados-Membros como o dia mundial da psoríase^{135,136}. Os proponentes solicitaram ao Diretor-Geral: (1) para chamar a atenção para o impacto da psoríase na saúde pública, publicando um relatório global sobre a psoríase, incluindo a incidência e prevalência globais, enfatizando a necessidade de mais pesquisas sobre psoríase e identificação de abordagens bem-sucedidas para integrar a gestão em serviços existentes para as doenças não transmissíveis, para as partes interessadas, em particular os decisores políticos, até ao final de 2015; (2) incluir informações sobre o diagnóstico, tratamento e cuidados da psoríase no *site* da OMS, com o objetivo de aumentar a conscientização pública sobre a psoríase e seus fatores de risco compartilhados, e para proporcionar uma oportunidade de educação e maior compreensão sobre a doença e o risco de desenvolvimento de comorbidades, que são inúmeras, como por exemplo: artrite, depressão, doença inflamatória do intestino (Doença de Crohn), doenças cardiovasculares, linfomas, Doença de Parkinson, ansiedade; além das doenças relacionadas ao tratamento, tais como: dislipidemia, nefrotoxicidade, hipertensão, hepatotoxicidade, entre outros⁶⁷.

O estudo de Lebwohl et al.⁷ revelou um forte descontentamento dos pacientes sobre os tratamentos disponíveis para psoríase. Menos de 25% relatou alguma satisfação em relação à terapia. A maioria dos pacientes relatou insatisfação devido à baixa segurança (muitos efeitos adversos, imunossupressão (re)ativação de doenças oportunistas), baixa tolerabilidade e baixa eficácia dos tratamentos disponíveis. Os pacientes com casos moderados a severos; para os quais foram prescritos medicamentos de administração por via oral, quase 60% deles haviam descontinuado o tratamento devido alguns dos motivos mencionados, que muitas vezes pareceram ser comuns entre estes pacientes. Cerca de 60% dos pacientes com psoríase artropática não estavam tratando os problemas nas suas articulações devido aos mesmos motivos⁷.

Todos os inconvenientes relatados para os tratamentos tradicionais, também foram relatados pelos pacientes para os quais foram prescritos terapias com compostos biológicos. Devido a forma de administração destes medicamentos (por via injetável), muitos pacientes relataram ter descontinuado o tratamento, novamente devido à baixa segurança, tolerabilidade e eficácia. Somado a esses fatores, esses pacientes ainda relataram muita ansiedade, medo e desconforto causados pelas injeções, que no geral, precisam ser autoaplicadas. Todos os estes foram motivos relatados pelos pacientes para não aderir aos tratamentos disponíveis. O estudo revelou que até 46% dos pacientes consideram os efeitos colaterais do tratamento piores do que aqueles da própria doença e mais de 85% deles acredita na necessidade de desenvolvimento de novos fármacos⁷.

A associação de medicamentos orais, tópicos e fototerapia precisa ser avaliada com o clínico, onde a relação risco/benefício deve ser avaliada criteriosamente, uma vez que, a maioria dos medicamentos deve passar pelo fígado e as substâncias resultantes do metabolismo podem levar à uma toxicidade hepática ou até mesmo manifestar uma outra doença⁷⁴.

1.1.2.9 Imunopatogênese da psoríase

A psoríase é uma genodermatose multifatorial que está associada com fatores genéticos, ambientais e até sociais⁶. Na verdade, já foram identificados mais de 15 loci com pontos de mutações de susceptibilidade para psoríase. Os principais genes

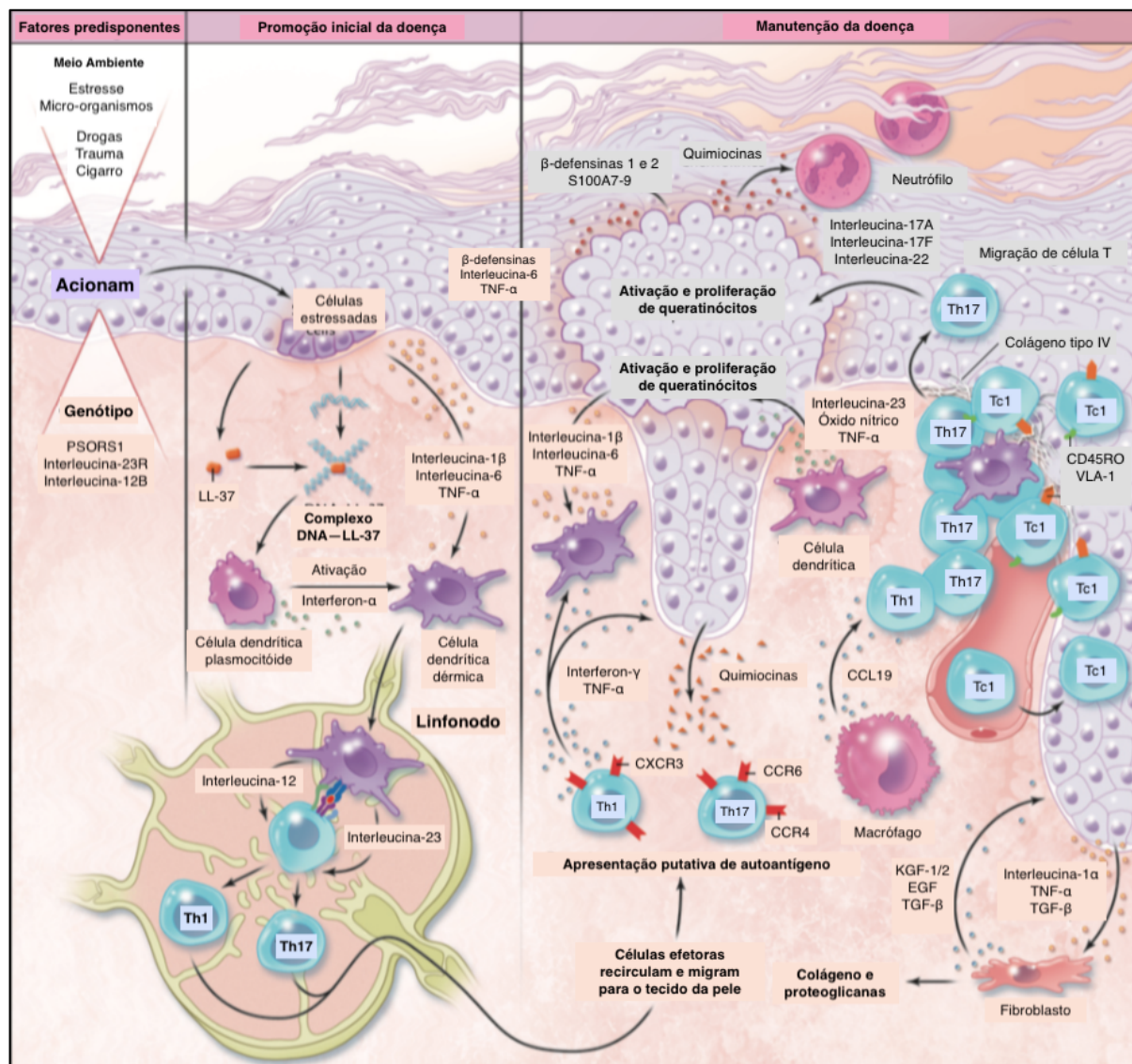
envolvidos pertencem ao sistema antígeno leucocitário localizado no cromossomo 6, relacionado com imunidade inata e adaptativa, responsável pela expressão dos receptores do complexo principal de histocompatibilidade¹³⁷. Dados apontam que existe um papel importante de variantes gênicas envolvidas na patogenia da psoríase, tais como: genes envolvidos na apresentação de antígenos, polarização de respostas de célula T, eixo IL-23 / IL-17, interferon tipo 1, entre outros¹³⁸.

Descobertas vem apontando uma região do cromossomo 6 como proponente adjunto na psoríase, ou seja, loci do sistema antígeno leucocitário humano. Um único locus gênico não determina a susceptibilidade de uma patogenia, porém, hoje é sabido que existe uma associação genética importante na manifestação da psoríase com o locus HLA-Cw6, e caucasianos tem 10x mais chances de desenvolver psoríase¹³⁹. A partir de 2006, HLA-Cw6 passou a ser tratado como um locus alelo da susceptibilidade à psoríase PSORS1¹⁴⁰. Pacientes portadores do PSORS1 sozinho não desenvolvem psoríase, entretanto, um estudo recente mostrou que portadores dominantes de psoríase gutata eram portadores desse alelo¹⁴¹.

Por outro lado, a resposta imunológica clássica da psoríase se dá a partir da bio sinalização mediada Th1, Th17, DCs e macrófagos. Entretanto, nos últimos anos outros Th estão sendo associados a progressão da doença, tais como: Th9, Th21 e Th22¹⁴². A teoria melhor aceita até o momento é apontada por Nestle e colaboradores (Figura 8)¹¹. Acompanhando a Figura 20 é possível observar que fatores genéticos e ambientais estão relacionados a patologia da doença.

A partir de uma "gatinho", como por exemplo a exposição a microorganismos, estresse e traumas, inicia-se uma bio sinalização que inclui a formação de um complexo que inclui o DNA + catelicidina LL-37 (autoantígeno), que por sua vez estimula a secreção de diversos fatores pró-inflamatórios. Esse complexo DNA-LL-37 é levado pelas APC até os linfonodos e apresentados aos Th0, que a partir da IL-12 e IL-23 os diferencia em células efectoras Th1 e TH17 respectivamente. Os linfócitos que expressam os receptores de quimiocinas CCR6, CCR4 e CXCR3 migram para o tecido da pele ao longo dos gradientes de quimiocinas. Os principais fatores pró-inflamatórios envolvidos nessa doença discorre entre a IL-23, IL-17, IL-22, TNF, INT- γ ¹⁴³.

Figura 8 - Mecanismo imunopatológico da psoríase



Fonte: adaptada de Nestle et al.¹¹

Essas citocinas atuam principalmente sobre os queratinócitos levando a hiperproliferação e maturação precoce dos mesmos, além de induzir a produção de peptídeos antimicrobianos (catelicidina LL-37 e β -defensinas) e quimiocinas (CXCL1, CXCL9, CXCL11 e CCL20)¹⁴³. O TNF também é secretado pelos Th1 e Th17 e são responsáveis pela hiperproliferação dos queratinócitos e pela estimulação da angiogênese. A secreção de TNF promove a liberação da IL-19, IL-20 e IL-24, essas responsáveis por atuar a nível de transdução de sinal, a partir da fosforilação de Stat3¹⁴⁴. A IL-17 sinaliza grande parte das células imunológicas e estimulam os queratinócitos a liberar mais citocinas que interagem na resposta imunológica¹⁴⁵. O interferon- γ é responsável por ativar o fator nuclear kappa B, um fator de transcrição

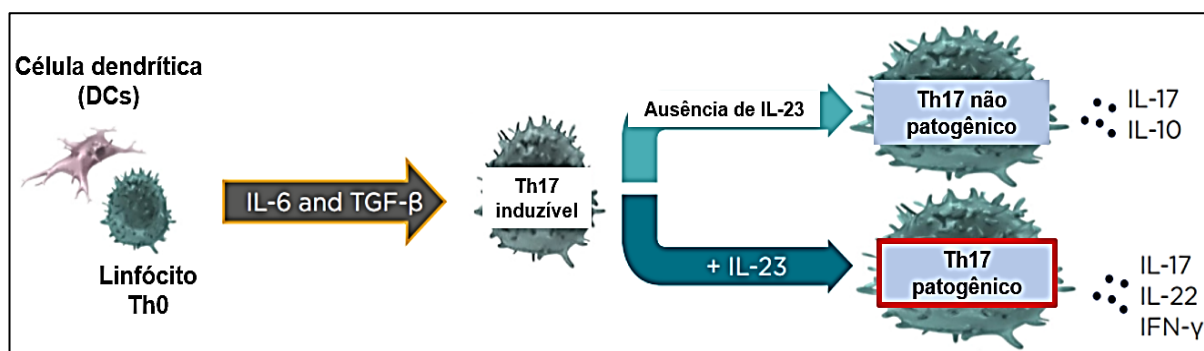
de proteínas pró-inflamatórias recorrentes na sinalização da imunopatogênese da psoríase¹⁴⁵. O Th17 secreta também o fator de crescimento transformante β , um ligante do fator de crescimento epidérmico responsável por promover a maturação precoce dos queratinócitos, o que promove um espaçamento descontrolado da camada córnea¹⁴⁵. Um ponto chave que ocorre nesse mecanismo é o epiteliotropismo linfóide de células T controlado através da interação da integrina $\alpha 1 \beta 1$. Além dos linfócitos T, no epitélio inflamado é possível encontrar células NK e neutrófilos¹⁴³.

Nos últimos anos, estudos clínicos experimentais vem apontando uma possível sinergia entre subgrupos de T *helper* capazes de ocasionar um ciclo vicioso com liberação de interleucinas ativadoras de linfócitos¹⁴². O Th9 parece participar do processo inflamatório que ocorre no início das lesões. Foi possível observar uma quantidade elevada de Th9 e IL-9 nas lesões psoriáticas¹⁴⁶. Sua ativação se dá a partir da liberação de IL-4 e IL-2 pelos Th17. Consequentemente, a IL-9 liberada por Th9, ativa Th17 que irá orquestrar a sinalização de outros subgrupos de células Th¹⁴⁷. O Th21 também parece estar associado a progressão da doença, uma vez que, a partir da IL-21 ocorre o aumento da demanda de Th17, NK e células CD8. A IL-21 parece atuar a nível de transcrição de sinal potencializando a efeito mitogênico nos queratinócitos¹⁴². O fenótipo das lesões psoriáticas parecem ter relação com a intensidade da secreção da IL-22 pelos Th-17¹⁴⁸ e Th22¹⁴² no tecido epidérmico. Em um modelo de imiquimode envolvendo camundongos com deficiência de IL-22, foi possível observar uma diminuição na formação de lesões psoriasiformes, em particular na formação de acantose¹⁴⁹.

Ainda mais recente, no ano de 2018, um trabalho realizado por Reich e colaboradores apontou que uma possível diferenciação induzida pode levar o Th17 a um fenótipo não patogênico e patogênico. Essa teoria leva em consideração a IL-23, citocina que facilita o desenvolvimento de inflamação em numerosas patologias autoimunes. Na Figura 9 é possível observar que as citocinas IL-6 e TGF- β induzem linfócitos T naive a diferenciarem-se em linfócitos Th17 não patogênicos, que secretam IL-17 que irá participar da resposta imune celular de forma a atenuar o dano. O Th17 não patogênico, ainda secreta a IL-10, que tem como principal função inibir a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo o IFN, IL-2, IL-12 e TNF. Por outro lado, a secreção anormal da citocina IL-23 origina células Th17 patogênicas,

que secretam de forma anormal a IL-17, IL-22 e INF- γ , sabidamente relacionado à promoção da doença psoriática¹⁵⁰. Já é sabido que pacientes com psoríase sofrem de uma deficiência relativa na expressão cutânea de mRNA de IL-10 em comparação a outras dermatoses e, um estudo evidenciou que pacientes em terapia antipsoriática apresentaram uma expressão maior desse mRNA de IL-10, sugerindo um efeito um antipsoriático¹⁵¹.

Figura 9. Diferenciação induzível de Th17 patogênico na presença de IL-23.



Fonte: Adaptado de Reich et al.¹⁵⁰

Diante do exposto, é possível compreender que diversas células do sistema imunológico e subgrupos de Th atuam de forma integrada na biossinalização imunológica na psoríase de diversas formas, promovendo uma ativação imunológica constante.

1.1.3 Modelo de indução de lesões psoriasiformes com imiquimode

O uso de animais de laboratório contribui extensivamente para o entendimento da fisiopatologia da psoríase e esclarecimento de suas vias de biossinalização, uma vez que, modelos *in vivo* assemelham-se muito com a lesão psoriática humana, pelo fato de acometer mais de um sistema anatômico e mobilizar toda uma cascata de sinalização imunológica¹⁵².

Os primeiros modelos experimentais robustos para estudar psoríase no contexto animal foram descritos somente a partir de 1999, com um estudo americano onde xenoinxertos de pele psoriática humana foram transplantados em camundongos imunodeficientes, com posterior estimulação imunológica a partir da administração de citocinas pró-inflamatórias. Esse modelo se mostrou oneroso, requerendo muita

experiência técnica, além de ser limitado, uma vez que utiliza animais imunodeprimidos¹⁵³. Por motivos como esses, o modelo de indução de lesões psoriasiformes feito com a administração tópica do fármaco imiquimode em camundongos tem sido considerado entre os mais vantajosos.

O imiquimode foi sintetizado pela primeira vez em 1997 e seu uso clínico em princípio visava tratamento de verrugas genitais e perianais, geralmente causada pelo vírus da Herpes Simples e papiloma vírus. O tratamento com imiquimode também é útil para lesões cutâneas pré-cancerosas, tais como queratoses actínicas e carcinomas de células basais superficiais. Devido ao tamanho relativamente pequeno da molécula e a alta hidrofobicidade, o fármaco é adequado a administração tópica¹⁵⁴.

Inicialmente, no âmbito clínico, foi observado que pacientes com psoríase controlada, que utilizavam imiquimode para tratar células pré-cancerosas, apresentavam quadros de exacerbação da psoríase na área tratada e em locais distantes de onde era feita a aplicação tópica de imiquimode¹⁵⁵. A partir desses achados, os pesquisadores começaram testar o imiquimode em camundongos, e foi possível observar que o fármaco induzia lesões semelhantes às lesões psoriáticas na pele dos roedores. O modelo de imiquimode baseia-se na ativação do sistema imune a partir da administração tópica do mesmo na pele de camundongos¹⁵⁴.

A ativação imune ocorre pela ligação do imiquimode com receptores tipo *toll like*, tais como TLR7¹⁵⁶ e TLR8¹⁵⁷. Esses receptores são encontrados tanto em humanos como em roedores. Como resposta biológica, após a aplicação de imiquimode na pele de camundongos, é possível observar um aumento significativo de células dendríticas plasmocitoides na epiderme e aumento da produção de citocinas, tais como: $TNF\alpha$, IFN- γ , IL-10¹⁵⁸ e IL-17¹⁵⁹, todas estas características comuns da psoríase em humanos^{59,61}. Em amostras de pele de roedores estimulados com imiquimode foi possível observar um fenótipo muito semelhante aquele da psoríase humana, tais como paraceratose, espessamento epidérmico e acantose¹⁵⁴.

Motivos como esses tornam o modelo imiquimode um modelo rápido, robusto e relevante para a indução de lesões psoriasiformes na pele de camundongos, sendo considerado entre os melhores para pesquisas que visam o desenvolvimento pré-clínico de novos fármacos para psoríase. Como o modelo é funcional em varias linhagens de camundongos, esse modelo tem sido cada vez mais citado na literatura científica^{154,161,162}.

1.1.4 Sistema nervoso, pele e psoríase

A conexão entre a pele e o sistema nervoso começa no período embrionário a partir das células-tronco pluripotente que dão origem aos folhetos germinativos que originam diversos órgãos e tecidos. Os folhetos embrionários se dividem em três camadas: ectoderma, endoderma e mesoderma. O ectoderma é aquele que está em contato com o meio externo do organismo e é deste folheto que se originam todas as estruturas do sistema nervoso (encéfalo, nervos, gânglios nervosos, medula espinal, sistema nervoso periférico, entre outros). Além disso, o ectoderma é responsável por originar as células da epiderme (queratinócitos) e anexos epidérmicos (unhas, glândulas e pelos), assim como as mucosas, esmalte dos dentes, hipófise, olhos, entre outros. As células do mesoderma preenchem todo espaço entre a ectoderma e a endoderme. O mesoderma é responsável por formar a derme, os músculos, o sistema circulatório, sistema esquelético, sistema excretor e reprodutor. O endoderma é o folheto mais interno do embrião e é responsável por originar epitélios, como por exemplo o epitélio da faringe, laringe, traqueia, pulmões, trato gastrointestinal, bexiga, vagina e uretra^{163–165}.

A relação do sistema nervoso com o sistema tegumentar pode explicar de certa forma a exacerbação de determinadas doenças dermatológicas frente as doenças psicológicas. Atualmente, já está bem esclarecido que o sistema nervoso desempenha um papel importante ao lado dos processos imunológicos. Há uma conexão temporal clara com o estresse emocional, que inclui problemas financeiros, transtornos de ansiedade e depressão, irritabilidade e baixa autoestima^{166,167}. A psoríase não está relacionada apenas com às citocinas, mas também com a bio-sinalização nervosa, que inclui a influência de neuropeptídios^{168–172}.

A pele é abundante constituída por nervos motores autonômicos e por nervos sensoriais somáticos, cujos corpos celulares estão localizados dentro dos gânglios da raiz dorsal e os gânglios sensoriais cranianos. Já foi descrito na literatura que a inervação da pele em lesões psoriáticas é maior do que em uma pele normal¹⁶⁹. A inervação excessiva é considerada um importante causa do prurido e hiperalgesia que leva a alterações no equilíbrio de diversas proteínas, com por exemplo do fator de crescimento nervoso e seus receptores. O fator de crescimento nervoso pode participar da ativação de linfócitos e na promoção da angiogênese^{169,173}.

As sensações de prurido e hiperalgesia são geradas pela ativação de vários receptores e, nesse contexto, podemos citar a superfamília potencial receptor transiente (TRP) que desempenham um papel fundamental na psoríase¹⁶⁹. Já foi descrito na literatura que pacientes com psoríase tem concentrações elevadas de TRP na pele, no entanto, estudos clínicos direcionados à alteração de neurônios nociceptivos na psoríase ainda não estão disponíveis^{174,175}. A liberação descontrolada de neuropeptídeos do subgrupo de TRPA1/TRPV pode causar inflamação neurogênica¹⁷⁶.

A ativação dos neurônios nociceptivos leva a liberação de neuropeptídeos que modulam diretamente as respostas imunológicas locais¹⁶⁸. Na pele as APC, fibras C, queratinócitos, células endoteliais, células de Merkel, células de Langerhans, fibroblastos e leucócitos expressam receptores de neuropeptídeos, como por exemplo o RAMP, NKRs, VPAC1, VPAC2, tornando possível uma polarização dinâmica¹⁶⁹. Níveis elevados do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina e do peptídeo intestinal vasoativo (VIP) já foram encontrados em amostras de pele psoriáticas, ambos relacionados com a proliferação de queratinócitos. Também já foi verificado que pacientes com psoríase possuem o conteúdo de substância P elevado, acompanhado por um aumento da expressão de seus receptores¹⁷¹.

As catecolaminas dopamina, norepinefrina e epinefrina são neurotransmissores monoaminérgicos produzido em princípio pelo sistema nervoso central. No entanto, hoje já é sabido que os queratinócitos e melanócitos por meio de uma biotransformação da tirosina sintetizam essas catecolaminas. As catecolaminas regulam a resposta imune cutânea por meio da síntese de citocinas pró-anti-inflamatórias¹⁷¹. As catecolaminas modulam a função do sistema imunológico pela indução de uma resposta efetora, por meio da interação com seus receptores dopaminérgicos e adrenérgicos expressos nas células imunológicas¹⁷⁷. Os receptores de dopamina estão localizados em especial nos queratinócitos, ao passo que, os receptores adrenérgicos estão presentes na epiderme e derme, com maior predominância de vasos sanguíneos e queratinócitos^{177,178}. A ativação dos receptores de adrenalina e noradrenalina já foi relacionada com a diminuição da capacidade de apresentação de antígenos pelas células de Langerhans¹⁷⁹.

A histamina é um mediador da inflamação produzida em princípio pelos mastócitos e basófilos. No entanto, hoje já é sabido que a histamina é sintetizada

pelas células do sistema neuroendócrino e secretada pelas células do sistema imunológico, tanto em nível sistêmico quanto local. Em mamíferos adultos, os neurônios histaminérgicos são encontrados exclusivamente na região tuberomamilar do hipotálamo posterior^{180,181}. Na epiderme, os queratinócitos expressam H1R e H2R, enquanto os melanócitos possuem apenas H2R. Já foi descrito que as células Th1 expressam receptores de histamina H1R, que induz a síntese de IFN- γ , que consequentemente aumenta a resposta adaptativa, ao passo que, H2R parece suprimir a resposta imune mediada por TH1 e TH2. Ainda na pele é possível encontrar o receptor de histamina H3R em certas fibras axonais A β que terminam nos corpúsculos de Meissner, queratinócitos e células de Merkel^{171,180,181}.

A serotonina é um neurotransmissor presente em eventos inflamatórios e sua síntese é realizada principalmente por neurônios mesentéricos e do cérebro¹⁸². Hoje já é sabido que queratinócitos, folículos capilares, glândulas e vasos sanguíneos sintetizam serotonina. Com relação ao sistema imunológico, várias vias catabólicas produzem serotonina e os metabólitos genéricos podem afetar o sistema imunológico¹⁷¹. O sistema serotoninérgico é expresso em uma variedade de leucócitos e podem participar em uma variedade de efeitos imunorreguladores, que incluem síntese de citocinas, proliferação, quimiotaxia e ativação celular. Já foi descrito que o receptor 5-HT1A está expresso em mastócitos e melanócitos, o 5-HT2A é expresso por linfócitos T e o 5-HT3 está localizado nos queratinócitos, onde a serotonina promove a diferenciação e proliferação^{171,182}.

A relação dos neuropeptídeos com citocinas pro-inflamatórias vem sendo alvo de estudos no âmbito da psoríase^{172,183}. Já foi observado que na presença de TGF- β , a substância P pode induzir a diferenciação de células Th17 por meio da mediação do receptor de neurocinina-1¹⁸⁴. Já foi observado que citocinas pro inflamatórias, como por exemplo a IL-17, IL-31 e IL-33, podem induzir anormalidades na sensibilidade dos neurônios nociceptivos¹⁷⁴. Além disso, a substância P e a taquicinina Hexokinase-1 mediados pelo receptor de neurocinina-1, podem levar as células Th17 a produzir IL-17. In vitro já foi possível observar que os sinais do eixo VIP-VPAC1 na presença do TGF- β podem influenciar a resposta das células T CD4 em direção ao th17^{184,185}.

1.1.5 BDN e doenças autoimune

Mais recentemente, em paralelo ao contexto apresentado, relatos de casos sugerindo remissão de doenças autoimunes tratadas com BDN, uma forma inovadora de administrar a naltrexona, vêm aparecendo cada vez mais na literatura científica¹⁸⁶. Esse tratamento corresponde à uma forma de administração da naltrexona em doses tão baixas quanto 0,1 mg/kg, não ultrapassando 5 mg/dia, por períodos prolongados^{18,25}. Relatos de casos e até estudos pré-clínicos e clínicos, têm sido publicados relatando efeitos terapêuticos de BDN em doenças crônicas autoimunes, tais como: esclerose múltipla^{19,20,21,22,23}, e doença de Crohn²⁴, em condições dermatológicas²⁵, como também em síndromes idiopáticas, tendo como exemplo a fibromialgia^{26,27}, entre outras²⁸.

No caso da esclerose múltipla, área na qual existem mais estudos com BDN, ensaios clínicos^{19,21,22} mostraram que a terapia foi bem tolerada e não causou reações adversas, enquanto melhorou significativamente a qualidade de vida dos pacientes. Resultados semelhantes foram observados em modelos animais de esclerose múltipla^{20,23}, sugerindo que BDN apresenta um potencial terapêutico, é seguro e barato. Um estudo envolvendo 40 pacientes com esclerose múltipla, realizado em Milão na Itália, administrou 2 mg de naltrexona em cápsulas no exato momento de ir dormir durante as 4 primeiras semanas e posteriormente 4 mg de naltrexona por via oral durante 6 meses. Os pesquisadores conseguiram mostrar que BDN foi capaz de aumentar a concentração plasmática de β -endorfina nos pacientes. A concentração de β -endorfina começou a aumentar 3 meses após o início da terapia, permanecendo elevada até 1 mês após a descontinuação do tratamento. Esse estudo também sugeriu segurança e boa tolerabilidade por parte dos pacientes com esclerose múltipla à terapia com BDN²².

Dois estudos envolvendo pacientes com fibromialgia mostraram benefícios da terapia com BDN. No primeiro caso, 10 mulheres tomaram uma cápsula por dia contendo 4,5 mg de naltrexona durante 8 semanas. BDN causou uma redução de cerca de 30% dos sintomas em relação ao grupo placebo. O limiar de dor mecânica e de calor foi atenuado durante o tratamento com BDN. Os autores levantam a hipótese de que o benefício tenha ocorrido devido a inibição da atividade da micróglia no sistema nervoso central, uma vez que pode ser antagonizada pela naltrexona²⁶.

No segundo estudo, randomizado, duplo-cego, 14 mulheres com fibromialgia receberam 4,5 mg de naltrexona diariamente durante 22 semanas. Foi possível observar uma redução do nível da dor no grupo que recebeu BDN, quando comparado ao grupo placebo. Neste estudo, nenhum efeito colateral foi relatado²⁷.

Em uma revisão realizada por Segal e colaboradores²⁴, dois estudos foram identificados envolvendo pacientes que relataram um efeito terapêutico de BDN sobre a doença de Crohn. O primeiro estudo foi realizado com 34 pacientes adultos e avaliou a eficácia e segurança de BDN (4,5 mg /dia) durante 12 semanas de tratamento da doença de Crohn. O segundo estudo avaliou 12 pacientes pediátricos durante 8 semanas de tratamento com BDN (0,1 mg/kg, máximo 4,5 mg/kg dia). O principal objetivo do estudo pediátrico foi avaliar a segurança e a tolerabilidade de BDN. No estudo realizado com adultos, foi observado que 30% dos participantes tratados com BDN tiveram remissão clínica em 12 semanas, em comparação com 18% dos participantes tratados com placebo. No estudo envolvendo crianças, foi observada remissão da doença em 25% dos pacientes tratados com BDN, comparada à nenhuma remissão observada nos pacientes do grupo placebo²⁴.

Atualmente terapias com BDN vêm sendo prescritas com alguma frequência em consultórios médicos que atendem pacientes que aceitam submeter-se à terapia ainda considerada experimental¹⁸⁷. Na área da dermatologia, mais especificamente em relação ao tratamento da psoríase, a realidade é que a comunidade científica ainda depende de mais estudos, controlados e com maiores níveis de evidência em relação à eficácia, segurança e mecanismo de ação.

Na área do tratamento da psoríase, até o presente momento o que existe na literatura são apenas 4 relatos de casos³⁰⁻³³ e um estudo clínico não randomizado avaliando a eficácia da naltrexona na concentração de 6 mg³⁴. Esses estudos têm despertado interesse da comunidade científica, o que torna oportuno o desenvolvimento de estudos nessa área. Em 2016, na cidade de Florianópolis (Brasil), um relato de caso envolvendo uma paciente com psoríase eritrodérmica, sugeriu remissão completa da doença com a administração de 4,5 mg de BDN por via oral, diariamente durante seis meses. Este relato de caso mostrou que o índice de severidade da psoríase por área (PASI) foi de 48 a zero ao final do tratamento (o PASI varia de zero a 72 em humanos⁷⁷). A qualidade de vida da paciente melhorou significativamente, o que teve impacto positivo em sua rotina diária³².

Em 2018, desta vez nos Estados Unidos, outro relato de caso envolvendo uma paciente de 75 anos de idade com psoríase gutata, que foi tratada com BDN durante a fase de exacerbação da doença foi publicado na revista *International Journal of Pharmaceutical Compounding*. Este relato incluiu as impressões do prescritor da terapia, do farmacêutico que preparou o medicamento e os comentários do paciente. O relato sugeriu benefícios de BDN para o tratamento da doença. Os autores apoiam a prescrição de BDN como alternativa para pacientes que não podem tolerar o tratamento farmacológico clássico para psoríase ou comprar os medicamentos devido ao custo dos mesmos. Os autores consideraram o tratamento com BDN relativamente barato³⁰.

Outro relato de caso envolvendo BDN e psoríase também publicado em 2018, realizado na cidade de Ottawa no Canadá, evidenciou novamente o efeito terapêutico de BDN em uma paciente com psoríase vulgar³¹. Neste caso, ao realizar o primeiro exame físico, a paciente apresentava placas eritematosas, escamosas, bem demarcadas, que cobriam cerca de 10% da superfície corporal. O PASI neste momento foi determinado em cerca de 7,2. Depois de discutir os riscos e benefícios da nova terapia, o clínico iniciou o tratamento com 4,5 mg/dia de BDN. As lesões psoriáticas melhoraram consideravelmente aos 3 meses de tratamento. A superfície de área corporal afetada diminuiu de 10 para 1% e a pontuação do PASI diminuiu de 7,2 para 0,9 após 6 meses de tratamento. Os autores deste estudo sugeriram que o mecanismo de ação de BDN poderia incluir uma inibição de mediadores pró-inflamatórios devido à uma liberação reativa de opioides endógenos causadas pelo bloqueio parcial de receptores opioides³¹.

Em março de 2020, um relato de caso envolvendo 15 pacientes com psoríase (8 com artrite psoriática) foi realizado por Marzvanyan et al.³³ na cidade de Copenhagen na Dinamarca. Os pacientes foram expostos a 4,5 mg de naltrexona via oral por um tempo determinado. Para avaliar a remissão das lesões foi utilizado uma escala de Likert com as seguintes interpretações: 1 - pior; 2 - inalterado; 3 - ligeiramente melhorado; 4 - um pouco melhorado e 5 - melhora acentuada. Nesse estudo foi possível observar que a resposta ao tratamento foi positiva, uma vez que, 8/15 dos pacientes apresentaram uma melhora acentuada; 2/15 dos pacientes melhoraram um pouco; e 5/15 dos pacientes permaneceram inalterado. A melhora acentuada foi observada em 53% dos 15 pacientes. O autor sugere que a BDN regula

a resposta linfocitária, reduz a biossinalização e provavelmente reduz a atividade dos mastócitos.

Por ultimo, um estudo clinico não randomizado foi realizado por Khan et al.³⁴ em junho de 2020. O objetivo desse estudo foi determinar a eficácia da naltrexona em pacientes com psoríase. Para tanto, 71 pacientes com psoríase leve, moderada, grave e muito grave, com idade variando entre 13 e 60 anos, sem nenhuma comorbidades associada, foram tratados com 6 mg de naltrexona durante 3 meses. De acordo com o PASI, antes do tratamento os pacientes apresentavam-se com o seguinte score: Leve: 1 (1,4%); moderada: 20 (28,2%); grave: 24 (33,8%); muito grave: 26 (36,6%). Após o tratamento foi possível observar remissão da doença, uma vez que, os dados permaneceram em: leve: 14 (19,7%); moderada: 23 (32,4%); grave: 23 (32,4%) e muito grave: 11 (15,5%). O BSA e DLQI antes do tratamento foram de $11,97 \pm 3,873$ e $22,63 \pm 5,235$ respectivamente. Após o tratamento, permaneceram em $8,07 \pm 3,650$ e $16,31 \pm 7,056$ respectivamente. O autor acredita que a naltrexona é uma terapia eficaz para psoríase como em outras doenças dermatológicas crônicas.

Existem outros relatos de casos publicados na literatura descrevendo o uso de BDN em outras dermatoses e dermatites. Estes estudos preliminares, sugeriram sempre que BDN foi capaz atenuar uma variedade de disfunções dermatológicas^{25,188,189}, tais como: esclerodermia¹⁹⁰, líquen plano pilar¹⁹¹, bem como dermatomiosite¹⁹² e doença de Hailey-Hailey¹⁹³. Ainda que estes estudos tenham incluído um número pequeno de pacientes, é notável que em todos eles, os pacientes toleraram bem o tratamento com BDN.

1.1.6 Mecanismo de ação de BDN

Atualmente, é possível considerar que sejam necessários mais estudos para esclarecer completamente o mecanismo através do qual BDN exerce seus efeitos terapêuticos nas doenças autoimunes. Na terapia de pacientes adictos à heroína, morfina, ou outros agonistas opioides exógenos, além do etanol, acredita-se que o alívio causado sobre os sintomas da falta do uso de tais substâncias (abstinência) seja devido a uma expressão aumentada de endorfinas endógenas causadas por um bloqueio intermitente de receptores opioides feito pela naltrexona de forma reversível

e competitiva. Este é o mecanismo que corresponde ao tratamento feito com naltrexona em doses de 50 a 150 mg/dia^{194,15,195,82}.

Alguns estudos anteriores têm rendido dados que tem auxiliado a compreender o mecanismo através do qual BDN atua nas doenças autoimunes. Um estudo deste tipo na área da psoríase ainda não foi realizado. Os dados disponíveis são originários de estudos *in vitro*, ou na área da esclerose múltipla (encefalomielite autoimune em camundongos) e doença de Crohn. *In vitro*, foi observado que BDN reduz a produção de citocinas pró inflamatórias, como TNF produzidos por monócitos e linfócitos B (células apresentadoras de antígenos mononucleares)¹⁹⁶.

Apesar do uso crescente de BDN por pessoas com disfunções dermatológicas e doenças crônicas e um interesse da comunidade científica, ainda existem dúvidas sobre a farmacodinâmica, a segurança e o mecanismo de ação de BDN nesse contexto. No que se refere ao mecanismo de ação, algumas hipóteses/evidências têm sido apresentadas por outros autores. As mais estudadas parecem indicar para dois mecanismos principais. A primeira hipótese sugere que o tratamento com BDN cause uma resposta compensatória por parte do organismo na forma de aumento da biossíntese de endorfinas, o que resulta em um aumento de endorfinas em fendas sinápticas, envolvendo elas o sistema nervoso e sinapses imunológicas^{18,187,197,198}. Zagon e colaboradores ao realizar um experimento com camundongos, descobriram que ao aumentar a produção de opioides endógenos, BDN pode inibir a proliferação de linfócitos B¹⁹⁹, linfócitos T²⁰⁰ e as respostas imunológicas correspondentes. Corroborando com esses achados, um outro estudo relatou que a administração de BDN por períodos prolongados inibiu a taxa de proliferação de células T ativadas em modelo de encefalomielite autoimune em camundongos²⁰¹.

A segunda hipótese proposta em outros estudos^{18,187,202}, sugere que BDN cause uma resposta compensatória na forma de aumento da expressão dos receptores opioides. BDN parece aumentar paradoxalmente a expressão e sensibilidade de alguns receptores opioides, tendo como exemplo os receptores μ , ζ e receptor do fator de crescimento opioide (OGFr)^{197,18}. Essa hipótese é intrigante, pois um déficit inato na expressão dos receptores opioides²⁰³, parece influenciar na diferenciação e maturação precoce de uma variedade de células, incluindo os queratinócitos²⁵. Assim é válido imaginar que BDN possa modular circuitos nervosos¹⁸ e imunológicos²⁸. Alguns autores sugerem que desta forma BDN tenha efeito

imunossupressor^{20,197,204,205}. Esse mecanismo ainda não foi testado em um modelo de psoríase.

Um estudo anterior avaliando o antagonismo opioide em modelo murino de neuroblastoma, mostrou que o bloqueio transitório de receptores opioides causou aumento da expressão tanto de endorfinas, assim como dos receptores opioides. O bloqueio intermitente possibilitou em seus intervalos uma maior interação opioide-receptor, o que neste estudo foi associado à remissão do crescimento do tumor²⁰⁶. Em outro estudo anterior, Donahue e colaboradores²⁰⁷ demonstraram que o tratamento com BDN de camundongos com câncer ovariano humano em modelo de xenoenxerto, inibiu a progressão do tumor através de um efeito associado com aumento da expressão de receptores opioides.

1.1.7 Os opioides e o sistema opioide endógeno

1.1.7.1 Aspectos históricos dos opioides

A história dos opioides começou com o cultivo da papoula, originalmente nativa da Ásia Ocidental²⁰⁸. Os seres humanos apreciam o valor desta planta desde a sua descoberta, fazendo o uso de suas propriedades até hoje, seja na medicina/farmacologia ou na forma de abuso. A busca pela origem do ópio remonta os tempos pré-cristãos e está conectada com a história da humanidade e da medicina. Relata-se que a papoula já era utilizada cerca de 3.400 a.C. na Mesopotâmia pelos sumérios, assírios e babilônios²⁰⁹. O comércio do ópio teve início na dinastia egípcia pela civilização fenícia, que o transportava pelo mar mediterrâneo à Europa²¹⁰. Mais adiante, foi introduzido na China por volta de 400 a.C., seguindo através Pérsia e Índia por volta do ano 330 a.C.²¹¹

O avanço científico relacionado ao ópio teve início no século XVIII, uma vez que, Lineu discípulo de Paracelsus classificou a planta em *Papaver somniferum* (família Papaveraceae), fazendo referência à capacidade do ópio em induzir ao sono. Em 1803, Friedrich Serturner sugeriu que o principal ingrediente ativo do ópio fosse a morfina. Entretanto, somente por volta do ano de 1827, a produção comercial da mesma foi iniciada^{212,213}.

Foi descoberto que os principais efeitos da morfina, dos opiáceos e opioides incluem potente analgesia, euforia, sonolência, alterações de humor, efeitos psicotomiméticos, entre outros. Também podem causar náuseas, constipação, vômitos e em doses elevadas podem causar morte por depressão respiratória²¹⁴. O termo opiáceos por convenção foi sugerido para se referir a todas as substâncias de origem natural presentes no ópio, ao passo que o termo opioides refere-se a todas substâncias naturais ou moléculas sintéticas que atuam nos receptores opioides específicos^{215,216}.

Até o momento atual, os opioides são utilizados amplamente em cirurgias e no tratamento de dores agudas e crônicas. Aproximadamente a partir do ano de 1843, a morfina passou a ser utilizada na forma injetável, mostrando-se mais potente²¹². Em 2017, a produção global de ópio atingiu cerca de 10.000 toneladas, sendo 90% originária do Afeganistão, tornando-o o maior produtor mundial. Todavia, neste país, a produção de ópio não se traduz em riqueza nacional, uma vez que, os atores desse contexto são fornecedores de armas e traficantes de heroína²¹⁷. Quantidades importantes de papoula também são cultivadas na Austrália, Turquia e Índia, sendo estas fornecedoras de matéria prima para a indústria farmacêutica²¹⁸.

Botanicamente, a papoula é uma planta que pode atingir cerca 70 cm de altura e geralmente possui um ou dois caules frondosos não ramificados, que possuem folhas alternadas na parte inferior, estreitamente elípticas e ovaladas com margens dentadas inconsistentes, geralmente na cor verde azulada. O fruto tem forma oval como uma capsula glabra que é verde quando imaturo. Eles são geralmente hemisféricos e achatados no topo, onde o estigma (área receptiva dos pistilos das flores) é polinizado pelo grão de pólen, iniciando a germinação no tubo polínico. Ele tem muitos raios ocupando o centro superior da cápsula. Abaixo, as cápsulas têm um anel demarcado através do qual se unem aos caules^{219,220}.

A flor pode medir cerca de 8 a 10 cm com petadas que geralmente discorrem entre a coloração vermelha e branca²¹⁹ (Figura 10). Contudo, é das cápsulas dos frutos imaturos da planta que é extraído o ópio, um suco leitoso (látex) composto por pelo menos 25 alcaloides já identificados. O termo opiáceo é empregado para denominar as substâncias que constituem o látex. Os constituintes mais importantes do ópio são alcalóides, representando mais de um quinto do peso da droga. O alcalóide principal, tanto em relação à sua importância medicinal quanto à quantidade

em que existe, é a morfina. Além disso, foram identificados no ópio a narcotina e codeína que também têm importância farmacêutica. Entre os numerosos alcaloides remanescentes, totalizando cerca de 1% do ópio, estão ainda a tebaína, narceína, papaverina, codamina, entre outros menos abundantes. O ácido mecônico existe na extensão de cerca de 5% combinado com a morfina. Esse ácido é facilmente identificado e é importante na investigação toxicológica, corroborando com a presença de ópio²²⁰.

Figura 10 - *Papaver somniferum* (Papaveraceae), popularmente conhecida como papoula



Fonte: Natural medicinal herbs²²¹.

O emprego de opioides a curto e longo prazo não são isentos de riscos. Seu uso é limitado por efeitos colaterais como constipação, náuseas, vômitos, sonolência, tonturas, dentre outros menos comuns e particulares. Alguns pacientes acabam viciados à droga ou seus derivados pelos fortes efeitos psicotomiméticos e de recompensa, aqui inclui-se especialmente a morfina e heroína, oxicodona, entre outros. A oxicodona é um analgésico semissintético derivado da tebaína que é indicado especialmente no tratamento da dor pós ressecções oncológicas²²². É importante ressaltar que o uso contínuo de opioides causa tolerância (necessidade de doses cada vez maiores para se obter o efeito desejado), hiperalgesia, abuso e dependência física. A depressão respiratória pode ocorrer devido a uma super dosagem, podendo levar ao óbito²¹⁴.

A dependência pela morfina, heroína, oxicodona, entre outros, é um grande problema que afeta a vida de várias pessoas em todo mundo. A morfina e heroína estão entre os narcóticos que causam ônus de doenças e mortalidade. Os problemas de saúde relacionados com o uso indiscriminado são infecções pelo vírus da imunodeficiência humana, hepatite, tuberculose e outras doenças infecciosas, que são transmitidas principalmente pelo compartilhamento de seringas utilizadas na administração dos narcóticos²²³.

A heroína é um entorpecente administrado preferencialmente através do acesso endovenoso. Foi sintetizada pela primeira vez em 1874 pela Bayer, empresa química farmacêutica alemã. Sua síntese acontece a partir de uma reação da morfina com anidrido acético, rendendo um derivado chamado diacetilmorfina ou heroína²²⁴. Em princípio, a heroína foi sintetizada com a intenção de conter a dependência da morfina, porém, após a comercialização e dispensação, a heroína revelou-se tragicamente muito mais perigosa do que a morfina; era uma versão metabolizada da mesma. Nos primórdios essa droga era utilizada no tratamento de pacientes com câncer²²⁵.

1.1.7.2 Sistema opioide endógeno

As pesquisas envolvendo os opioides levou a descoberta que a maioria dos alcaloides derivados do ópio atuava por meio de receptores moleculares já presentes nas células do corpo e que quando ativados geravam um determinado efeito²²⁶. Concluiu-se que nenhum opioide gerava uma ação sem agir em receptores que já não existam no corpo; eles simplesmente simulavam funções que já intrínsecas do nosso organismo²²⁷. A partir destes achados, foi criada a teoria que em nosso corpo já existiam ligantes específicos para receptores específicos endógenos, o que foi comprovado e que tem sido explorado no campo científico até hoje²²⁶.

Por muito tempo, o sistema opioide foi considerado parte do sistema nervoso central e periférico, incluindo o sistema límbico, sistema nervoso entérico, tronco cerebral, córtex cerebral, amígdala, tálamo, hipocampo, lâminas superficiais dos cornos dorsais, entre outros²²⁸. O sistema nervoso é constituído pelo SNC, que é formado pelo encéfalo e pela medula espinal e a porção periférica (sistema nervoso periférico – SNP), que é constituído pelos nervos cranianos e espinhais, pelos

gânglios e pelas terminações nervosas. O SNP é responsável por conduzir o impulso nervoso de órgãos e tecidos da periferia até o SNC, e vice-versa²²⁹. Quanto a distribuição das terminações nervosas, elas se classificam em especiais (conectam-se à retina, olfato, língua e epiglote) e gerais (conectam-se a várias partes do corpo, principalmente à pele). A classificação dos receptores opioides levou em consideração mais de um aspecto, entre eles a localização deles, como por exemplo mecanorreceptores, fotoreceptores, quimiorreceptores, nociceptores, termorreceptores, entre outros²³⁰.

Em princípio, foi considerado que o sistema opioide era composto por três famílias distintas de peptídeos opioides endógenos, as β -endorfinas, encefalinas e dinorfinas; essas agonistas de receptores opioides²¹⁵. Além da localização anatômica, para a classificação desses receptores ainda foi levado em consideração a afinidade dos mesmos pelos agonistas e antagonistas opioides e pela sua conformação molecular²²⁸. Os primeiros antagonistas de receptores opioides foram sintetizados na década de 1940, naloxona e naltrexona²³¹. A família de receptores opioides inclui receptores μ -opioide (MORs) codificados pelo gene OPRM1, δ -opioide (DORs) codificados pelo gene OPRD1 e o κ (KORs) codificados pelo gene OPRK1²³².

Foram identificados dois subtipos de MORs, o $\mu 1$ (MOR1) ao qual foi associada a responsabilidade pela analgesia supraespinal e, o receptor $\mu 2$ (MOR2) que foi relacionado com a depressão respiratória e a miose induzida por opioides²⁰⁹. Os MORs foram envolvidos com uma variedade de outras funções fisiológicas, cardiovasculares, no peristaltismo, secreção hormonal e na função imune²³³. Ainda foram distintos pelo menos dois subtipos de DORs, δ_1 (DOR1) e δ_2 ²⁰⁹ (DOR2), cuja ativação foi relacionada principalmente com modificações de humor². Os KORs foram distintos em pelo menos cinco subtipos denominados K_1 , K_2 , K_{1a} , K_{1b} e K_3 , e quando ativados promovem sintomas psicotomiméticos, efeitos na nocicepção, termorregulação e secreção endócrina^{209,228}. O quadro 1 a seguir fornece informações adicionais sobre os receptores opioides, localização anatômica no sistema nervoso e os efeitos da ativação deles.

Quadro 1 – Receptores opioides e características

	μ	δ	κ
Nomenclatura alternativa	MOR, MOP, OP3	DOR, DOP, OP1	KOR, KOP, OP2
Distribuição principal	Córtex cerebral	Córtex cerebral	Hipocampo
	Tronco cerebral	Tálamo	Corpo estriado
	Chifre dorsal	Corpo estriado	Hipotálamo
	Neurônios DRG	Chifre dorsal	Tronco cerebral
		Neurônios DRG	Corno dorsal
Agonista endógeno principal	β -Endorfina	Enkefalinas	Dinorfina A
Efeito na analgesia	Supraespinal e espinal	Supraespinal e espinal	Espinal
	Dor aguda e crônica	Moderada na dor crônica	Hiperalgisia
Efeito nos mecanismos de recompensa e dependência de drogas	Facilita	Facilita	Inibe
Efeitos comportamentais	Sedação	Sedação	psicotomiméticos
Outros efeitos	Euforia	Antidepressiva	Euforia
	Depressão respiratória	Neuroproteção	Proteção contra convulsões?
	Miose		Disforia
	Vômito		
	Retenção urinária		

Fonte: Benarroch et al.²²⁸

As pesquisas em nível molecular revelaram que os receptores opioides são todos receptores do tipo acoplados à proteína G e foram originalmente denominados MORs (após a descoberta de que a morfina ligava-se a este receptor), DORs (por conta do ducto deferente, onde foi isolado pela primeira vez) e KORs (após a descoberta do primeiro ligante conhecido, a cetociclazocina,²¹⁵). Esses receptores ativados causam inibição da abertura de canais de cálcio voltagem dependente. Além disso, facilitam a abertura dos canais de potássio nos neurônios pós sinápticos, provocando uma hiperpolarização dessas células²¹⁸. Esse mecanismo no geral inibe a liberação de neurotransmissores, diminuindo a excitabilidade neuronal. O bloqueio dessa sinapse dificulta que a informação chegue até o tálamo²²⁶.

Os ligantes endógenos dos receptores opioides têm função seletiva no sistema nervoso central e periférico, interferindo em circuitos da dor, recompensa, respostas ao estresse e controle autonômico. Embora a ligação de um agonista ao receptor opioide proporcione o bloqueio dos neurônios pré e pós sinápticos, a distribuição desses receptores em outros órgãos e tecidos promovem uma ampla gama de

efeitos²³⁴. Os peptídeos opioides derivam de clivagem proteolítica de precursores e esses incluem a pré-proencefalina (PENK), pré-proopiomelanocortina (POMC) e pré-prodinorfina (PDYN), precursores da β -encefalina, endorfina e dinorfina, respectivamente. É possível encontrar esses precursores nos neurônios em praticamente todo o sistema nervoso²³⁵.

A farmacologia dos opioides é complexa e para se ter uma ideia seguem alguns exemplos: Estudos farmacológicos com nalorfina (um derivado semissintético da morfina) em humanos mostraram que a mesma em baixas doses antagoniza os efeitos analgésicos da morfina. Por outro lado, o efeito analgésico da morfina retorna com doses maiores de nalorfina. Estes achados serviram para demonstrar a existência de que mais de um receptor poderia explicar esse dualismo²³⁶. Atualmente, a nalorfina, também conhecida como N-alilnormorfina; é considerada um agonista-antagonista opioide misto com propriedades de antagonista opioide e indutor de analgesia²³⁷. A nalorfina foi introduzida em 1954 e foi em princípio usada como um antídoto para reverter a overdose por opioides e em testes para determinar a dependência de opioides²³⁸. Ela age em dois tipos de receptores opioides: MORs, sobre os quais tem efeitos antagônicos, e KORs, nos quais exerce efeitos de agonista parcial e agonista quase total de alta eficácia²³⁹.

Outro exemplo relaciona-se com as células endoteliais da retina de camundongos. *In vitro*, baixas doses de morfina (1 μ) mostraram ter uma ação pró-inflamatória e aumentaram a angiogênese em um modelo animal de inflamação²⁴⁰. Doses mais altas de morfina (faixa de dose 0,15–30 mg / kg) parecem interferir no extravasamento plasmático, uma vez que, no estudo foi possível observar uma diminuição significativa do edema tecidual em um modelo de inflamação aguda na pata de ratos²⁴¹.

Na verdade, é sabido que interações complexas entre os receptores opioides podem ocorrer. Dentre elas a formação de receptores heterodiméricos que pode afetar o efeito dos ligantes opioides a partir da membrana plasmática. Pode-se citar o exemplo de MORs que podem formar heterodímeros com subunidades de DORs e KORs. Os KORs parecem potencializar os efeitos de MORs e ao mesmo tempo antagonizar o mesmo. Dados da literatura mostram que os receptores opioides podem cooperar com as funções de outros receptores acoplados à proteína G, tendo como exemplo os receptores canabinoides²²⁸.

Outro aspecto importante é que a atividade dos receptores opioides pode ser limitada por meio de um fenômeno conhecido como dessensibilização, que já foi relacionado com a fosforilação dos receptores opioides a partir de cinases, tendo como exemplo as cinases de receptor acopladas à proteína G. A partir de uma retroalimentação negativa (*feedback* negativo), o processo pode ser iniciado, internalizando os receptores por endocitose e levando-os à degradação lisossomal²³². Enquanto os receptores não são reciclados, a dessensibilização pode persistir²⁴². No entanto, uma conexão direta entre retroalimentação negativa do receptor e tolerância aos opioides ainda não foi comprovada (REF). A inibição dos receptores leva à uma queda na resposta farmacológica. Uma outra teoria aponta que a tolerância pode ter relação com a desacoplamento da proteína G dos receptores a partir da fosforilação dos resíduos de serina/treonina. Com isso, uma cinase chamada arrestina interage fosforilando o receptor opioide, o que provoca o desacoplamento da proteína G²²⁸. Outro relatório encontrado na literatura postula que ligantes endógenos também podem induzir dessensibilização, endocitose e reciclagem dos receptores. Os ligantes sintéticos, como a morfina em doses excessivas, também podem desencadear dessensibilização e endocitose dos receptores²³².

1.1.7.3 Sistema opioide fora do sistema nervoso

Desde a primeira descrição da expressão de MORs em queratinócitos em 1998²⁴³, vários pesquisadores têm cada vez mais apontado para uma atividade de peptídeos opioides endógenos fora do sistema nervoso central. Embora a relação com o sistema imunológico ainda não seja totalmente esclarecida, resultados interessantes têm sido constantemente apresentados na literatura. Os MORs já foram identificados em queratinócitos, melanócitos, sebócitos, fibroblastos, nas terminações nervosas, sensoriais e cutâneas²⁴⁴.

Vários estudos relacionando células imunológicas e sistema opioide já foram conduzidos²⁴⁵. Alguns resultados destes estudos mostraram que a ativação dos receptores opioides em leucócitos leva à liberação de metaencefalina, β -endorfina e dinorfina A. Os leucócitos podem ser ativados por esses peptídeos endógenos ou pela biossinalização leucocitária²⁴⁶. Já foi observado em macrófagos e linfócitos a expressão do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) de β -endorfinas em macrófagos

a liberação de peptídeos opioides mediada pela sinalização de TLR4²⁴⁷. A liberação de β -endorfinas também foi observada em neutrófilos, sendo dependente de influxo intracelular de Ca^{2+} e ativação da via da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K)²⁴⁸.

No sistema imune adaptativo, os linfócitos T auxiliares sintetizam e liberam β -endorfinas e metaencefalinas que causam efeito antinociceptivo principalmente pelos receptores MORs e DORs em neurônios da periferia e SNC²⁴⁹.

Um estudo realizado por Boue et al.²⁵⁰ avaliou a contribuição das células T na liberação de peptídeos opioides endógenos. Nesse estudo, Linfócitos T CD4 + iniciados com antígeno efector gerados in vitro foram injetados por via intravenosa em camundongos previamente imunizados com antígenos cognatos ou irrelevantes em adjuvante completo de Freund (CFA) durante 6 dias. Foi possível observar que as células T CD4 e CD8 produziram peptídeos opioides endógenos diretamente no local da inflamação. Não foi encontrado diferença significativa na concentração liberada pelos linfócitos Th1 e Th2. O autor afirma que a imunidade adaptativa colabora para o efeito analgésico e depende da ativação de MORs em linfócitos

De fato, os peptídeos opioides agindo sobre seus receptores opioides muitas vezes induzem analgesia, ou seja, tem efeito anti-inflamatório. O mecanismo de ação relacionado envolve uma série de aspectos, entre os principais: redução do número de leucócitos no local da(s) lesão(ões), diminuição da atividade fagocítica de macrófagos, nível de apoptose aumentado, inibição da quimiotaxia, inibição da atividade das células endoteliais, diminuição da atividade de linfócitos T CD4 e CD8 e diminuição da atividade das NKs. Além disso, o mecanismo depende se o efeito imunossupressor é causado por peptídeo opioide endógeno ou exógeno²⁴⁵.

Atualmente, pesquisas avançadas e inéditas têm rendido achados significativos sobre uma relação entre o sistema opioide com o sistema imunológico inato e adaptativo. A maioria destes estudos tem utilizado a morfina, que como explicado, é um fármaco com alta afinidade com MORs. A ativação destes receptores parece exercer um efeito imunossupressor, entretanto, muitas questões ainda envolvem o mecanismo desse efeito²⁴⁵. O aumento da síntese e liberação de peptídeos opioides endógenos parece ter relação com melhoria no quadro clínico de algumas doenças imunológicas. A imunidade inata é a primeira linha de defesa do organismo e consiste em macrófagos, monócitos, neutrófilos, mastócitos, células NKs e células dendríticas. A morfina parece interagir com o sistema inato reduzindo o número de células

imunológicas, diminuindo a capacidade proliferativa e inibindo o recrutamento das mesmas para o tecido lesionado²⁵¹.

Nos macrófagos a ativação de MORs pode levar à uma dessensibilização de receptores de quimiocinas, desencadeando uma bio-sinalização imunossupressora. Além disso, a atividade fagocítica dos macrófagos fica comprometida, uma vez que, pode ocorrer uma diminuição de mediadores da resposta inflamatória, como por exemplo o óxido nítrico e ânion superóxido²⁴⁵.

Um estudo anterior usando macrófagos isolados de camundongos obteve resultados interessantes sobre o efeito da ativação de MORs. Baixas a moderadas doses de morfina injetada intraperitonealmente (duas vezes por dia, durante um total de 8 dias) parecem inibir a atividade fagocítica destas células, enquanto doses altas causaram apoptose das mesmas, (Não fala a dose Correspondente). O mecanismo através do qual estes efeitos acontecem ainda não foi completamente compreendido, mas dados preliminares indicam para um desacoplamento da sinalização mediada por receptores TLR 9 e intermediário p38 da via das MAPKs. Os dados apontam que nestes casos, a ativação de MORs inibe um microRNA chamando miR-873 que tem papel na regulação da expressão gênica²⁵².

Outro estudo *in vitro*, utilizando cultura de células mostrou que a morfina pode inibir a atividade de macrófagos inibindo os receptores da fração constante de anticorpos que agem como opsoninas (FcγR). Este receptor é essencial para o mecanismo de fagocitose. Nesse estudo também foi possível concluir que o mecanismo de fagocitose tem relação direta com os MORs e DORs²⁵³. A morfina inibiu a quimiotaxia de macrófagos quando se ligou em MORs da célula fagocitária, levando a uma fosforilação e dessensibilização dos receptores das quimiocinas CCR1, CCR2, CXCR1 e CXCR2²⁵⁴.

Em monócitos, a imunossupressão parece estar relacionada com a supressão do microRNA miR-873, que regula a expressão de algumas proteínas que interagem com a transdução de sinal²⁵², tendo como exemplo o NF-κβ que é responsável pela regulação de várias citocinas, como por exemplo IL-6, TNF e IL-10²⁵⁵. Também já foi observado diminuição de dois tipos de microRNAs, miR 582-5p e miR - 590-5p, em monócitos de pacientes adictos à heroína, que fazem uso de altas doses da droga. Esses miRNAs interagem com proteínas de ligação do intermediário adenosina monofosfato cíclica (cAMP), que é fundamental para ativação de cinases que ativam

NF- κ B. Semelhante aos macrófagos, a morfina em doses farmacológicas diminui a migração de neutrófilos para o tecido lesionado, assim diminuindo a função bactericida dos mesmos, o que parece estar relacionada também com inibição da produção de ânion superóxido²⁵⁶. Já em mastócitos, a morfina parece inibir a ativação dos mesmos por meio de uma sinalização cruzada negativa que ocorre entre os receptores opioides e as vias de sinalização do TLR4²⁵⁷.

Estudos apontam que os opioides exógenos podem interferir no mecanismo citotóxico de células NK *in vivo*²⁴⁵. Um estudo realizado por Shavit et al²⁵⁸. Foi avaliado o efeito da morfina (5-75 mg / kg) em dose única injetada por via subcutânea em ratos em um modelo de dor. Os autores descobriram que após três horas do tratamento, 30 mg / kg de morfina induziu uma supressão robusta da atividade NK. Ainda em roedores, Weber et al²⁵⁹ mostraram que após três horas da aplicação de uma injeção de morfina (6.6 nmol) na região periaquedutal cinza do cérebro, as células NK diminuíram sua citotoxicidade.

Yeager et al.²⁶⁰ avaliaram a administração de morfina em voluntários saudáveis submetidos à exposição contínua à morfina por 36 horas (0,025 mg / kg), incluindo uma infusão intravenosa de 24 horas no hospital (0,05 mg / kg). Os autores avaliaram células NKs do sangue periférico, obtidas por punção venosa antes da administração do opioide, 2 e 24 horas depois. A administração de morfina resultou em uma depressão significativa na atividade das células NKs em ambos os pontos de tempo em comparação com o estado basal. Outro efeito dos opioides que já foi relatado foi sobre as células dendríticas que tem como principal função processar e apresentar PAMPs e DAMPs por meio de moléculas MHC. Assim, elas possuem um papel importante no sistema inato e adaptativo. A ativação *in vitro* de MORS com morfina (1 nm – 1 μ m) durante 24 horas, inibiu parcialmente a apresentação de antígenos por células dendríticas derivadas da medula óssea de camundongo à células T; um efeito associado com uma inibição da IL-23²⁶¹.

Vale destacar que a supressão da resposta imune inata por opioides não se limita apenas a atividade da morfina, visto que, em um estudo com camundongos expostos ao Lipopolissacarídeo (LPS), a administração de uma dose única por via intraperitoneal de fentanil, após 1 hora, inibiu a produção de TNF em mastócitos intraperitoneais. O fentanil (0,001-0,1mg / kg) foi igualmente eficaz e 1000 x mais potente do que a morfina (0,1-10mg / kg) para inibir a liberação de TNF. A

administração repetida de morfina levou a tolerância e a administração repetida de fentanil curiosamente produziu sensibilidade ao LPS²⁶².

Semelhante ao efeito que acontece no sistema imune inato, o tratamento com morfina *in vivo* parece inibir respostas adaptativas. Através da ativação dos MORs, pode ocorrer uma alteração na expressão de citocinas que desacoplam a biossinalização celular, a diferenciação das células T e a atividade dos linfócitos B²⁵¹. Evidências científicas já apontaram que existe expressão de MORs, DORs e KORs em linfócitos B²⁶³. No entanto, até o momento atual, poucos estudos avaliando linfócitos B e sistema opioide foram conduzidos.

Os linfócitos B estão envolvidos na imunidade humoral, principalmente para produção de anticorpos e células de memória. Em um estudo realizado por Vassou et al.²⁶⁴ foi possível observar que a morfina *in vitro* diminuiu a proliferação de linfócitos B do sangue humano de pacientes com mieloma múltiplo. Os resultados mostraram que a morfina pode modular a secreção de anticorpos e citocinas além de diminuir a proliferação dos linfócitos B por meio da ativação de receptores opioides. Outro estudo realizado por Zhang et al.²⁶⁵ avaliou células T e B da medula óssea, timo, baço e nódulos linfáticos de camundongos tratados com pellets de morfina (75 mg) durante sete dias. A exposição à morfina levou à uma redução de linfócitos T CD4 e CD8 em todos os tecidos. Foi observado também que as células B mais vulneráveis. Roy et al. por meio de um estudo perceberam que o tratamento *in vitro* com morfina (100 ng / mL) durante 4 dias

pode promover uma diferenciação em Th2 em linfócitos do baço de camundongos, por meio da ativação de MORs²⁶⁶. Essas atividades sobre as células B e eixo de resposta imune TH₂ podem explicar parcialmente o efeito imunossupressor da morfina²⁵¹.

Yin et al.²⁶⁷ conseguiram observar *in vivo* que a morfina (3 µM por 2 horas) ativou o ligante do receptor da família do fator de necrose tumoral FAS (FasL), uma proteína transmembrana que quando ativada promoveu a apoptose em linfócitos T do sangue periférico humano. Nos constituintes da imunidade adaptativa, os receptores opioides ativados promovem uma regulação negativa da expressão do MHC-II, causando uma atenuação na função das células apresentadoras de antígenos²⁵¹.

A maioria dos achados relacionando o sistema imunológico com a morfina foram baseados em tratamentos agudos com doses únicas²⁴⁵. No entanto, um estudo

realizado por Campana et al.²⁶⁸ avaliou os receptores opioides frente ao tratamento crônico com morfina. Para tanto, 29 pacientes com várias condições de dor crônica não malignam foram expostos a morfina (1,25 - 3,75 mg / dia) por via intratecal. Após doze meses de tratamento, os pesquisadores compararam amostras de sangue periférico e constataram um aumento de 65% nos níveis de mRNA ds MORs em linfócitos T e B, permanecendo por até 24 meses após o tratamento.

A metaencefalina é um peptídeo opioide endógeno que interage com DORs e pode participar da regulação e expressão de células T CD₄ in vivo e in vitro. Um estudo realizado por Ohmori et al.²⁶⁹ avaliou a metaencefalina secretada por células do câncer colateral, um tumor maligno originário do intestino grosso e reto. Nesse estudo, foi possível observar que a metaencefalina inibiu o crescimento de células linfoblásticas de maneira dependente da dose. Foi possível observar um aumento na fosforilação da proteína cinase C (PKC) ligada à via Jun cinase (JNK), além de induzir apoptose nas células linfoblásticas.

Vale a pena ressaltar que a estruturação de uma resposta imune sempre requer a interação de várias células imunológicas, como neutrófilos, macrófagos, linfócitos e células apresentadoras de antígenos. Visto isso, é possível considerar a que o efeito imunossupressor dos opioides podem estar associados com um déficit causado sobre a biossinalização celular, e não necessariamente somente um efeito da droga centrados nas células T ou B.

1.1.7.4 Sistema opioide na pele e anexos

Bigliardi em 1998²⁴³, evidenciou a existência tanto do RNA quanto do MORs em queratinócitos de pele humana. Usando a imunohistoquímica ele conseguiu indicar que o receptor μ é mais elevado na camada basal da epiderme. O autor sugere um papel importante dos opióides na patologia de doenças de pele, na cicatrização de feridas e na percepção de coceira. Um outro estudo realizado por Poonawala et al.²⁷⁰ em 2005, mostrou que a aplicação local de fentanil, hidromorfona e morfina durante 1 semana resultou em 66, 55 e 42% de fechamento de uma ferida respectivamente, quando comparado com 15% do grupo controle. Os receptores opioides parecem exercer um papel importante na proliferação endotelial e angiogênese²⁷¹.

Salemi em 2005²⁷² contribui com a ciência quando conseguiu apontar a presença de receptores DORs e KORs fora do sistema nervoso central. Para tanto, a pele humana de 10 indivíduos saudáveis foram avaliadas quanto a presença de RNAm e a proteína/receptor. Em todas as amostras analisadas foi possível detectar o RNAm. Utilizando a imunohistoquímica foi possível localizar os DORs e KORs em fibroblastos e células mononucleares da pele.

Charbaji em 2013²⁷³, percebeu que os opióides podem melhorar a cicatrização de feridas do tecido dérmico e oral quando aplicados localmente. *In vitro*, células epiteliais orais foram expostas a doses crescentes de radiação ionizante, o que levou a inviabilização da morfologia celular. Foi possível observar que as células tratadas com morfina quando comparado ao grupo controle mostraram consistentemente maior viabilidade celular pós radiação. Curiosamente, os efeitos protetores da morfina não estão relacionados a uma diminuição na apoptose ou necrose celular.

Em uma revisão feita por Bigliardi em 2016, foi discutido as evidências científicas do sistema receptor/opioides na homeostase da pele. O autor aponta que existe evidências de que o sistema opioide está envolvido na cicatrização de feridas, na diferenciação epidérmica, em ações imunomoduladoras, na modulação das fibras nervosas periféricas e na coceira²⁷⁴. Já foi apontado a presença de receptores opioides em linfócitos humanos²⁷⁵, em granulócitos e células mononucleadas²⁷⁶, nos gânglios da raiz dorsal em ratos²⁷⁷, em células de revestimento sinoviais²⁷⁸, no músculo liso vascular e em células satélites musculares²⁷⁹. No intestino, os receptores opioides promovem a inibição do esvaziamento gástrico a partir do aumento do tônus do esfíncter e do bloqueio do peristaltismo, levando a constipação²⁸⁰.

1.1.7.5 Antagonistas opioides exógenos

A história dos antagonistas de receptores opioides iniciou-se com a descoberta dos derivados N-alil dos narcóticos. A descoberta dessa classe medicamentosa foi muito importante para medicina, uma vez que, foi muito útil no tratamento de intoxicação narcótica. Os estudos clínicos avaliando os efeitos dos antagonistas opioides tiveram início a partir de 1951, com a introdução da nalorfina no mercado, um antídoto de metadona e heroína²⁸¹.

A naloxona foi sintetizada pela primeira vez no início da década de 1960 pelo laboratório japonês *Daichi Sankyo Pharmaceutical Company*. O cloridrato de naloxona é um antagonista competitivo do receptor opioide mu, onde atua como um agonista inverso, causando a rápida remoção de quais quer outras drogas ligadas a esse receptor, revertendo os efeitos dos opioides que inclui depressão respiratória, sedação e hipotensão²⁸². Seu uso de longa data foi direcionado para os sintomas de overdose ou toxicidade de opioides, no entanto, a dosagem apropriada permanece controversa. Nesse contexto, durante alguns anos várias cidades e países desenvolveram programas para a distribuição do medicamento para pacientes adictos a morfina²⁸³. Na farmácia comercial, a naloxona atualmente está disponível através dos medicamentos com o nome Narcan (laboratório Cristália) ou Evzio (laboratório Kaléo) na forma injetável com dosagem de 0,4mg/ml. A naloxona é considerada um medicamento seguro e prescrito exclusivamente por médicos tipicamente na forma oral em doses que discorrem entre 1 e 2 mg/kg. A naloxona é bastante lipofílica e atravessa facilmente a barreira hematoencefálica e placentária²⁸².

Outro antagonista opioide bastante popular é a naltrexona. Originalmente é um fármaco foi sintetizado pela primeira vez em 1963 pelo laboratório *Endo Pharmaceutical Laboratories*, sediado em Dublin (Irlanda), para tratar o vício por opioides, principalmente heroína e morfina. Nas últimas décadas, a naltrexona tem sido utilizada pela medicina inclusive para o tratamento do etilismo¹⁹⁴. Este fármaco pertence à classe dos antagonistas inespecíficos de receptores opioides, tendo maior afinidade pelos receptores mu opioides¹⁵. A naltrexona é um antagonista competitivo reversível destes receptores¹⁵. Na farmácia comercial, a naltrexona atualmente está disponível através dos medicamentos com o nome Revia® (Laboratório Bristol Myers Squibb) ou Uninaltrex® (Laboratório Genon), na forma de comprimidos com dosagem de 50 mg¹⁹⁵. Normalmente, os pacientes adictos começam o tratamento com uma dose menor, que é aumentada conforme necessária, geralmente permanecendo entre 50 a 150 mg/dia, durante uma a três semanas^{186,284}. Nesse contexto, o tratamento com naltrexona é implementado como parte de um programa de reabilitação, que incluiu terapias comportamentais, aconselhamentos e mudanças no estilo de vida¹⁶. A biodisponibilidade da naltrexona é longa e após a ingestão por via oral, o fármaco é adsorvido rapidamente, podendo chegar a 96% na mucosa gástrica, com picos plasmáticos dentro de uma hora após a ingestão da dose¹⁶.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficácia de BDN em camundongos com lesões psoriasiformes induzidas com imiquimode junto com parâmetros relacionados à segurança, e contribuir para esclarecer o mecanismo de ação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar macroscopicamente a severidade das lesões psoriasiformes em camundongos tratados com BDN e controles;
- Avaliar microscopicamente amostras de pele de camundongos dos diferentes grupos e quantificar o índice de acantose na epiderme;
- Determinar o tempo necessário para completa limpeza da pele (CSC, do inglês *complete skin clearance*) nos camundongos dos diferentes grupos;
- Determinar a concentração das citocinas TNF, IL-17A, IFN- γ e TGF β -1 em amostras de pele dos animais;
- Avaliar o efeito dos tratamentos sobre a expressão dos receptores opioides μ localizados na pele dos animais;
- Monitorar parâmetros indicativos de toxicidade, tais como: parâmetros nutricionais, atividade locomotora, peso dos órgãos e alterações sanguíneas nos diferentes tratamentos.

3. MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo pré-clínico experimental.

3.2 MATERIAL E EQUIPAMENTOS

Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizados os seguintes materiais e equipamentos: Creme depilatório (Veet, Brasil), Aparador de pelos (Gama, Brasil), tubos capilares de microhematócrito (MB, Brasil), pipetas (Eppendorf), microtubos (Eppendorf), bisturi, pinças, freezer -80° (Nuair, EUA), agitador magnético, vortexador e centrífuga baby (Quimis®, Brasil), bulbo repipetador automático (Shimadzu, Brasil), centrífuga de microtubos (Eppendorf, Alemanha), etanol (Vetec®, EUA), Câmara de Neubauer (Kasvi, Brasil), gaiolas para animais (softLab, Brasil), Imiquimode 250mg/sachê (Germed®), Software Graph Pad Prism® (EUA), Kits Bioquímica (Labtest, Brasil), Kit de coloração Panótico (Laborclin, Brasil), Kits de Elisa para dosagem de citocinas (Thermo Fisher Scientific, EUA), Kit para detecção de quimioluminescência (Amersham®), Kit de aminotransferase pirúvica (ALT) e oxalacética (AST) (Labtest, Brasil), Microscópio óptico (Olympus, Japão), Microsoft Excel (Washington, EUA), Salina (ADV®, Brasil), Reagentes de Western Blotting e anti-receptor opioide μ (Sigma-Aldrich, EUA), fotodocumentador (Ibriht, EUA), contador de células (Ibriht, EUA), balança analítica (Shimadzu AUY 220, Japão) e phmetro (Quimis, Brasil). A procedência dos fármacos foi: betametasona (Sigma-Aldrich, EUA, Cat. n° B7005), naltrexona (Purifarma, Brasil) e a morfina (Dimorf®, Cristália, Brasil). Todos os demais reagentes foram de grau de pureza com padrões de qualidade da Sociedade Americana de Química (*American Chemical Society*, ACS).

3.3 ANIMAIS

Para os ensaios experimentais foram utilizados camundongos fêmeas da espécie *Mus musculus*, da linhagem Swiss albino com aproximadamente 2 meses de idade, pesando entre 40-50g, provenientes da Universidade Federal de Santa Catarina (LABIOEX). Os animais foram transportados para o alojamento no biotério do Laboratório de Neurociências Experimental (LaNEx) da Unisul *campus* Pedra Branca, sob condições controladas (ciclo claro-escuro de 12 h, com temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, aproximadamente 60% de umidade do ar), recebendo ração laboratorial e água *ad libitum*. Ao final do estudo, foi induzida a morte indolor assistida (MIA), conforme preconizado pelas diretrizes da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA)²⁸⁵.

Para o cálculo do número de animais por grupo amostral ($n = 12/\text{cada}$), o desfecho primário levado em consideração foi a taxa diária de alteração da severidade das lesões induzidas por imiquimode, que é de cerca de 20%/dia¹⁶¹. As análises de poder realizadas para este projeto utilizaram a equação descrita por Daniel²⁸⁶ para comparar médias independentes, que é: $n = \{[(z \text{ alfa} + z \text{ beta}) * s] / \text{sigma}\}^2$.

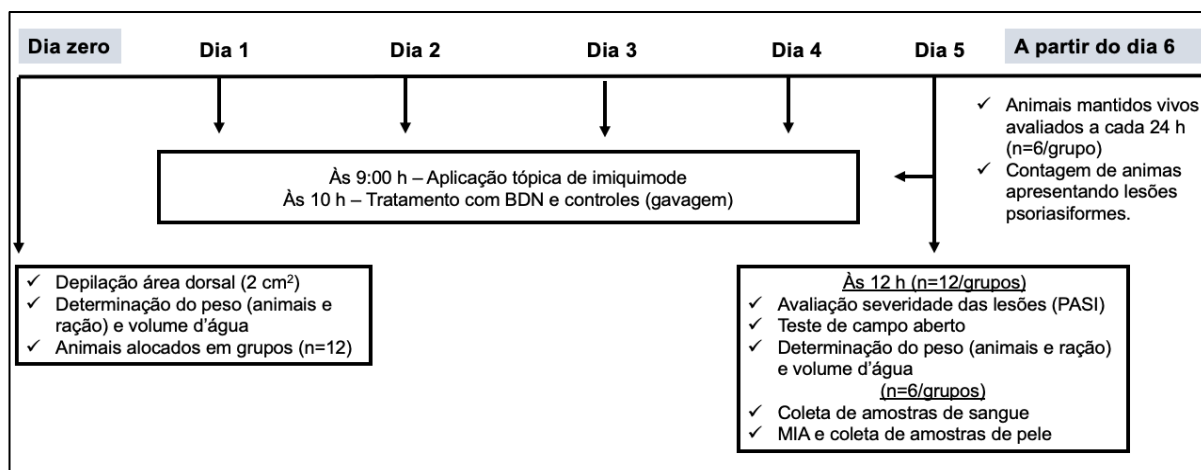
Na equação, n = tamanho da amostra; $z \text{ alfa}$ = tabela de valores z (distribuição bicaudal), $z \text{ beta}$ = tabela de distribuição de valores z (distribuição unicaudal), s = desvio padrão da média, sigma = diferença mínima entre as médias.

O cálculo demonstrou que pelo menos 6 animais por grupo amostral são necessários para que seja possível detectar uma diferença em termos de severidade das lesões em um contexto de um poder de análise de 80% e uma probabilidade alfa de 0,05. Este número tem fundamento em um contexto de comparação de médias, considerando um intervalo de confiança de 95% e uma relação 1:1 entre os grupos, além do padrão conhecido de alteração da severidade das lesões dia a dia. O número 12 de animais em cada grupo amostral torna-se compreensível se retomados os objetivos deste projeto, que se relacionam primeiro com realização de análises com amostras de pele e sangue de animais que foram eutanasiados ($n=6$ por grupo), somado ao número de animais que foram mantidos vivos até o final da pesquisa ($n=6/\text{grupo}$), para se determinar o tempo de desaparecimento das lesões, que é outra variável de interesse.

3.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Os procedimentos envolvidos neste projeto de pesquisa foram esquematizados no desenho deste estudo apresentado na Figura 11. Este desenho foi definido com base na literatura e segue metodologia descrita por Van der Fits e colaboradores¹⁶¹.

Figura 11 - Desenho do estudo adotado para o ensaio pré-clínico experimental.



Legenda: BDN = Baixas Doses de Naltrexona, PASI = Índice de Severidade da Psoríase por Área de Superfície e MIA = Morte Indolor Assistida.

No início (dia zero), uma área de 2 cm² no dorso dos animais foi depilada com creme depilatório. Os animais foram pesados e randomicamente alocados em grupos, esses apresentados no item 3.5. A partir do dia 1 às 09:00 h, por meio da administração tópica de imiquimode foi feita a indução das lesões psoriasiformes (exceto nos grupos controle normal e somente BDN). Decorrido 1:00 h após as aplicações do imiquimode foram iniciados os tratamentos experimentais por gavagem (controles e tratamento BDN), esse protocolo foi repetido diariamente até o dia 5. No dia 5, duas horas após a administração das últimas doses dos tratamentos, todos os animais foram pesados novamente e a severidade das lesões foi graduada por meio da escala visual chamada índice de severidade da psoríase por área de superfície (PASI)¹⁶¹. A atividade locomotora dos animais foi avaliada pelo teste de campo aberto²⁸⁷ e, na sequência, foi coletado amostras do tecido cutâneo e sangue de seis animais por grupo. Imediatamente depois, os animais doadores de sangue foram encaminhados à MIA para posterior coleta de amostras de pele e órgãos destes animais. Os animais remanescentes foram mantidos vivos, sendo avaliados

visualmente a partir do dia 06, a cada 24 h, para monitoramento do tempo necessário para o desaparecimento das lesões. Este procedimento foi repetido até o momento em que nenhum animal apresentasse lesões, o que ocorreu aproximadamente até o dia 10. Neste momento, estes animais também foram encaminhados à MIA¹⁶².

3.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS E DEFINIÇÕES DE DOSES

Os animais foram alocados em seis grupos experimentais apresentados a seguir:

1. Naive: Neste grupo não foram induzidas as lesões psoriasiformes por imiquimode. A função deste grupo foi possibilitar, nas comparações, uma referência correspondente ao perfil do animal normal (saudável).
2. Veículo (*Vehicle*): Representará as lesões psoriasiformes no seu ápice. Neste grupo foram induzidas lesões por imiquimode, as quais foram tratadas somente com veículo inerte (água). A comparação de médias com este grupo pode providenciar uma ideia sobre a eficácia do tratamento com BDN.
3. Betametasona (*Betamethasone*): Neste grupo foram induzidas lesões por imiquimode, as quais foram tratadas com um fármaco já disponível no mercado, sabidamente útil para tratamento de psoríase, a betametasona, por via oral em dose descrita na literatura (0,25 mg/kg/dia)²⁸⁸.
4. Baixas doses de naltrexona (*Low-dose Naltrexone, LDN*): Representou o grupo teste/experimental. É a partir dos dados coletados neste grupo que foram realizadas todas as avaliações propostas neste projeto. Primeiramente foram induzidas lesões por imiquimode, tratadas com BDN em dose de 6,25 mg/kg/dia. Para a definição da dose foi tomado como referência o estudo de Reagan-Shaw e colaboradores²⁸⁹ que propôs translacionar a dose de humanos para os animais, utilizando a equação descrita por Reagan-Shaw e colaboradores²⁸⁹, que é: Dose eficaz em humanos (mg/kg) = dose em animais (mg/kg) x (constante “km” respectiva à espécie ÷ km de humanos). A constante “km” para humanos tem valor 37, ao passo que para camundongos “3”. No contexto clínico dos humanos, sugere-se que, em princípio, o tratamento com BDN seja administrado na dose de 0,5 mg/kg²⁹⁰. Na literatura é possível encontrar que desta forma seja possível esperar em humanos alguma resposta às 6 semanas de tratamento, sendo os efeitos máximos observados

em até 12 semanas²⁹⁰. Portanto, considerando que na literatura é possível encontrar dados demonstrando que 1 dia da vida de camundongo seja equivalente a cerca de 40 dias da vida de humano²⁹¹, ficou determinado que para esta presente pesquisa, o tempo de 5 dias de tratamento com BDN, anteriormente utilizado por Tawfik e colaboradores²⁹², seria adequado.

5. Morfina (*Morphine*): Nesse grupo foi administrado o agonista opioide morfina, utilizado para possibilitar uma avaliação relacionada ao mecanismo de ação, ou seja, avaliação da atividade do receptor opioide. Nosso princípio teórico considera que a morfina possui atividade que se contrapõe àquela da naltrexona (antagonista opioide). Após a indução das lesões por imiquimode, a morfina foi administrada por gavagem em dose determinada com base na literatura (1 mg/kg)²⁹³.

6. BDN + Morfina (*LDN + Morphine*): Nesse grupo após a indução das lesões por imiquimode foram administradas uma mistura composta por 6,25 de BDN e 1 mg/kg/dia de morfina. Esse grupo foi utilizado como controle para observar o efeito da naltrexona alterando ou inibindo o efeito da morfina.

3.6 AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA

3.6.1 Indução da lesão psoriasiforme

Foi utilizado o modelo de lesões psoriasiformes induzidas pelo imiquimode (nome comercial Modik da marca Germed®) na pele do dorso dos camundongos. Para tanto, previamente, uma área de 2 cm² foi depilada na região dorsal dos roedores. Exceto o grupo controle normal, todos os animais receberam 6,25 mg de imiquimode topicamente a cada 24 horas por 5 dias, como é mostrado no desenho de estudo no desenho do estudo (Figura 23)²⁹⁴.

3.6.2 Avaliação da severidade das lesões psoriasiformes

A severidade das lesões psoriasiformes dos animais foi avaliada e comparada frente aos grupos controles, por meio da escala PASI. O PASI é um instrumento que determina o grau de severidade das lesões psoriasiformes em humanos. Nesta escala, a determinação da severidade é indicada a partir de uma escala de pontuação

que vai de zero a doze. Neste estudo, para avaliar a severidade das lesões psoriáticas (em camundongos), o PASI foi adaptado¹⁵⁹. Foi considerado uma área de aproximadamente 2 cm² onde foi avaliado três parâmetros distintos: eritema, descamação e espessamento da pele. A pontuação foi atribuída para cada um dos parâmetros em uma escala de zero a quatro pontos, onde 0 = ausência, 1 = leve, dois = moderado, 3 = marcado e 4 = muito marcado (intenso). O PASI foi aplicado no dia cinco a contar do início da indução das lesões, sendo que os resultados foram expressos por meio da média e desvio padrão obtidos da avaliação de 12 camundongos por grupo¹⁵⁹.

3.6.3 Determinação do tempo para o desaparecimento das lesões

Os animais mantidos vivos foram avaliados diariamente para detectar alguma aceleração no tempo necessário para as lesões desaparecerem, por meio de comparações com os grupos-controles. A cada 24 horas, foi realizada uma contagem de animais apresentando lesões psoriasiformes do sexto ao décimo dia. Esses dados foram plotados em um gráfico de ordenadas e coordenadas (número de animais apresentando lesões *versus* dias após a interrupção do tratamento experimental), o que gerou curvas; cada uma correspondendo a um tipo de tratamento (grupo de animais). Desta forma, a área sob a curva (AUC) foi proporcional ao tempo necessário para o desaparecimento das lesões¹⁶²

3.6.4 Histologia

Às 13 h do quinto dia, após o protocolo de tratamento, seis animais foram submetidos a MIA e amostras de tecido cutâneo (da área das lesões) foram coletadas e fixadas em formaldeído 10% (24 h), embebidas em parafina, seccionadas verticalmente e coradas com hematoxilina e eosina²⁹⁵. A coloração de hematoxilina e eosina é o padrão usado para exame microscópico de tecidos que foram fixados, processados, incluídos e seccionados²⁹⁶. Este protocolo descreve a coloração manual em tecidos de camundongos fixados, processados, embebidos em parafina e seccionados. Em tecidos corados com hematoxilina e eosina, os ácidos nucleicos coram em azul escuro e as proteínas ficam vermelhas em rosa ou laranja. Para uma

fenotipagem precisa e delineação do detalhe do tecido, o protocolo deve ser seguido rigorosamente. Isso inclui mudanças frequentes nos reagentes, bem como o uso de reagentes “atualizados”. A cor apropriada em uma boa coloração hematoxilina e eosina permite a identificação de muitas sutilezas teciduais necessárias para um diagnóstico preciso. Antes de iniciar o procedimento, os tecidos foram embebidos em parafina, seccionados a 3–5 μm , colocados em banho-maria, recolhidos em lâminas de vidro e colocados em escorregadores.

Primeiramente foram colocadas as lâminas de vidro que seguram as seções de parafina nos racks de coloração. Foi limpo a parafina das amostras em três mudanças de xileno por 2 min por alteração. Após, foi inserido as amostras em etanol a 100% por 2 minutos; etanol a 95% por 2 minutos e etanol a 70% durante 2 minutos. Foi realizado a lavagem das lâminas em água corrente à temperatura ambiente por pelo menos 2 minutos e colocado as amostras em solução de hematoxilina por 3 minutos. Depois deste processo foi novamente lavado as lâminas em água corrente à temperatura ambiente por pelo menos 5 minutos e inserido as mesmas em solução de eosina durante 2 minutos e por último, foi limpo as amostras em três trocas de xileno por 2 minutos por alteração. As lâminas foram examinadas sob um microscópio Olympus CX41 com um software.

A acantose foi avaliada através de um índice de acantose²⁹⁷. Foi posicionado a lente objetiva justamente ao centro do cone epitelial alongado e contado o número de células na vertical que constituíram à altura máxima de cada cone. Assim foi atribuído um *score* que corresponde a seguinte forma: 1-6 células = acantose leve/ausente; 7-12 células = acantose moderada e 13 células ou mais = acantose intensa.

3.6.5 Coleta e preparação do sangue e dos órgãos

Cerca de duas horas após a administração das últimas doses de compostos testados e controles, as coletas de sangue foram realizadas em 50% dos animais de cada grupo. A coleta de sangue foi realizada por via retro-orbital^{298,299}. Uma gota de sangue foi utilizada imediatamente para preparação de uma extensão sanguínea sobre uma lâmina de vidro^{300,301}. Para obtenção do soro aproximadamente 1,5 ml de sangue foi incubada por cerca de 30 min em banho-maria a 37°C. Após a coagulação, o sangue foi centrifugado em tubos cônicos por cerca de 10 min (5.000 g)^{300,301} e o

soro foi coletado e imediatamente congelado em freezer – 80 °C até o momento dos ensaios.

Adicionalmente, alíquotas de sangue total contendo ácido etilenodiamino tetraacético de sódio (Na EDTA) 1 mg/mL foram preparadas para as análises hematológicas³⁰². Na sequência, foi realizada a MIA dos animais³⁰³, onde foram dissecados os órgãos: rins, pulmões, coração, baço, e fígado. Os órgãos foram lavados em salina e pesados imediatamente em balança analítica³⁰⁴.

3.7 AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA

3.7.1 Quantificação do peso corporal, de ração e volume d'água

Potenciais alterações nutricionais foram monitoradas pela medida do peso dos animais, feita por intermédio de balança analítica. Os animais foram pesados no início (dia zero) e 24 h após a administração da última dose do tratamento experimental (dia 11). Para acompanhar o consumo de ração e água, a cada 3 dias, no momento da manutenção de ambos, a ração era pesada em balança analítica e o volume de água determinado em proveta graduada³⁰⁵.

3.7.2 Teste do campo aberto

Possíveis efeitos sobre a atividade locomotora dos animais foram avaliados por meio do teste do campo aberto, realizado no dia cinco. Cada animal foi colocado em um dos cantos do aparato, com aproximadamente 60 cm², demarcado com 16 quadrantes, circundada por uma parede de 45 cm de altura. Foi contabilizado o número de quadrantes que o animal percorreu em cinco minutos. Este teste foi realizado cerca de 2 h após a administração das últimas doses de compostos a serem testados e controles³⁰⁶.

3.7.3 Análises hematológicas

Para contagem absoluta de hemácias, 20 µL de sangue total foram diluídos em 4 mL de líquido diluidor de Dacie (1 mL de formol 40% e 99 mL de citrato trissódico

3%). Após homogeneização, 20 µL da mistura foram utilizados para carregar um lado da câmara de Neubauer, sendo contadas as células contidas em cinco quadrantes entre os 25 quadrantes localizados na região central da câmara. O número de hemácias foi calculado pela seguinte equação. *Hemácias por mm³ de sangue = H.c. x 5 x 10 x 200*³⁰².

Para a contagem absoluta de leucócitos, uma alíquota de 50 µL de sangue total foi diluída em 950 µL de líquido de Turk (1 mL de solução de violeta genciana e 100 mL de solução de ácido acético 2%). Após homogeneização, novamente cerca de 20 µL da mistura foram utilizados para carregar um lado da câmara de Neubauer, sendo contadas desta vez as células contidas nos quatro quadrantes periféricos da câmara. Os números de leucócitos foram calculados pela seguinte equação. *Leucócitos por mm³ de sangue = (leucócitos contados x 20 x 10) ÷ 4*³⁰².

3.7.4 Análises sérico bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas por espectrofotometria, utilizando kits de dosagem comercialmente disponíveis e seguindo os protocolos sugeridos pelo fabricante. Foram avaliadas a atividade das enzimas aspartato e Alanina-aminotransferase (AST e ALT, respectivamente) e a concentração sérica de glicose, colesterol e triglicerídeos³⁰⁷.

3.8 AVALIAÇÕES DO MECANISMO DE AÇÃO

3.8.1 Ensaio de Western blotting

Para quantificação do receptor opioide μ foi utilizado o ensaio de Western Blotting. As amostras de tecido da pele da região dorsal foram pulverizadas e incubadas em tampão de lise RIPA (composto por Nonidet P-40 1%, deoxicolato de sódio 0,5%, SDS 0,1% e PBS), acrescido de ortovanadato de sódio 100 mM, PMSF 100 mM e coquetel de inibidores de proteases 1% e, em seguida, incubados em gelo por 30 minutos. Após a centrifugação a 6000 rpm por 20 minutos (4°C) o sobrenadante foi recolhido, separado e armazenado em freezer -80 °C. O conteúdo proteico foi mensurado pelo método de Bradford, utilizando uma curva padrão de calibração com

BSA (0,05 a 0,5 mg/mL). Alíquotas de proteína total (50 µg) foram fervidas a 95°C por 5 minutos em 25% do volume em tampão Laemmli (fosfato de sódio 1M pH 7,0, 10% SDS, 10% β-mercaptoetanol, 50% glicerol, 0,1% azul de bromofenol). As amostras foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10%. Após a eletroforese, as proteínas foram transferidas para uma membrana de PVDF em voltagem constante de 90 V por 2 h. Depois de uma hora de bloqueio com 5% de leite desnatado (Molico) as membranas foram incubadas overnight (4°C) com o anti-receptor opioide µ (Sigma-Aldrich, EUA). Depois de lavadas em tampão salina tris com Tween® 20 (TBS-T) (137 mM de NaCl e 20 mM de Tris HCl + 0,1% Tween® 20, pH 7,6) as membranas foram incubadas com o anticorpo secundário apropriado, conjugado à peroxidase em temperatura ambiente por uma hora. Após esse período, uma nova lavagem de 30 minutos com TBS-T foi realizada seguida pela exposição das membranas, durante 1 minuto, ao kit de quimiluminescência (ECL) e então, reveladas através de fotodocumentador (iBright Imaging Systems, Invitrogen/Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). As análises quantitativas das bandas foram realizadas por densitometria com o auxílio do Software iBright Analysis (Invitrogen/Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Os valores foram normalizados utilizando os valores obtidos para a β-actina e expressos graficamente como unidades arbitrárias³⁰⁸.

3.8.2 Dosagem de citocinas

Essas dosagens foram realizadas com amostras de pele dos camundongos pelo método de ELISA. Amostras de pele foram homogeneizadas (1:2 p/v) em solução de tampão fosfato-salina (PBS), contendo Tween 20 (0,05%), fluoreto de fenilmetilsulfonilo (PMSF, 0,1 mM), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (10 mM), aparotina (2 ng/ml) e cloreto de benzetônio (0,1 mM). Os homogenatos foram transferidos para tubos tipo Eppendorf® de 1,5 mL, centrifugados a 6.000 rpm a 4 °C por 10 min. Alíquotas de 100 µL do sobrenadante e 100 µL de soro foram utilizadas para mensurar a concentração das citocinas IL-17A, TGF-β1, IFN-γ e TNF, por meio de kits comercialmente disponíveis (*Uncoated* ELISA Kit, Thermo Fisher Scientific) de acordo com as instruções do fabricante³⁰⁹. Os resultados foram normalizados pelo conteúdo de proteína dosado pelo método de Bradford³¹⁰, sendo expressos em pg/mg de proteína.

3.9 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Quadro 2 – Variáveis de estudo

Variáveis	Tipo	Natureza	Proposta de utilização
Atividade locomotora	Dependente	Quantitativa contínua	Número de quadrantes
Citocinas	Dependente	Quantitativa contínua	pg/mg de proteína
Colesterol	Dependente	Quantitativa contínua	mg/dL
Contagem absoluta de hemácias	Dependente	Quantitativa discreta	milhões/mm ³
Contagem absoluta de leucócitos	Dependente	Quantitativa discreta	mil/mm ³
Enzimas aspartato e Alanina-aminotransferase	Dependente	Quantitativa contínua	U/L
Glicose	Dependente	Quantitativa contínua	mg/dL
Lesão psoriasiforme (imiquimode)	Independente	Qualitativa dicotômica	sim/não
Peso dos órgãos	Dependente	Quantitativa contínua	Gramas
Receptor opioide μ	Dependente	Quantitativa contínua	Unidades arbitrárias
Severidade das lesões	Dependente	Quantitativa discreta	0 - 12 pontos
Tempo necessário ao desaparecimento das lesões	Dependente	Quantitativa discreta	Número de camundongos com lesão
Tratamento experimental	Independente	Qualitativa dicotômica	sim/não
Triglicerídeos	Dependente	Quantitativa contínua	mg/dL

3.10 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram inseridos em um banco de dados, desenvolvido em meio eletrônico, no software IBM SPSS *Statistics 24.0* (@copyright IBM corporations and its licensors 1989, 2016). Foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para caracterização dos dados, que foram considerados paramétricos. Os resultados foram apresentados como a média $\pm$ desvio padrão (DP). Os dados foram submetidos ao teste de análise de variância ANOVA de duas vias seguido do teste de Bonferroni. Valores de $p < 0,05$, foram considerados estatisticamente significativos.

3.11 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Os ensaios foram realizados seguindo as normas e cuidados de bem-estar e biossegurança na experimentação, conforme descritas na Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008, e de acordo com as diretrizes da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório. Antes do início da execução desta pesquisa, este projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNISUL (Parecer n. 19.009.4.01.IV), sendo observadas as definições da Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa (DBCA)²⁸⁵.

Um ponto final humanitário no caso deste projeto não se aplica, uma vez que o modelo de lesões dermatológicas psoriasiformes induzidas por imiquimode é muito pouco invasivo. As lesões dermatológicas são muito superficiais e ocorrem somente em nível epidermal, mais pronunciadas somente durante o período de administração do agente indutor. A partir da interrupção da administração do mesmo, as lesões evoluem benéficamente, no sentido da recuperação espontânea e completa da pele e do animal como um todo, algo que ocorreu cerca de uma semana após a interrupção da administração de imiquimode. Os animais então foram encaminhados à MIA. Os outros 50% dos animais de cada grupo foram encaminhados à MIA ainda no dia 5, após 2 h em relação à administração das últimas doses dos tratamentos experimentais para fornecer as amostras biológicas necessárias para as análises.

4. ARTIGO

Low doses of naltrexone for the treatment of imiquimod-induced psoriasiform dermatitis in mice

Marcos V. A. de Lima^a, Gustavo S. da Silva^a, Flávia S. Fernandes^a, Daniel F. Martins^a, Verônica V. Horewicz^a, Maicon R. Kwiecinski^a e Franciane Bobinski^{*a}

^aPrograma de pós-graduação em ciências da saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Palhoça, SC, Brazil.

***Autor correspondente**

Dra. Franciane Bobinski

Universidade do Sul de Santa Catarina. Av. Pedra Branca, 25. Palhoça, Santa Catarina, Brazil. CEP: 88137-270. Fone: +55 48 3279-1057

E-mail: franciane.bobinski@animaeducacao.com.br; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3537-1712>.

Resumo

Os pacientes com psoríase relatam grande insatisfação com o tratamento disponível para doença, seja devido à falta de eficácia ou aos efeitos colaterais. O tratamento com baixas doses de naltrexona (BDN) é inovador e surge como uma terapia complementar ao tratamento convencional. As lesões psoriáticas foram induzidas por imiquimode, aplicado na pele do dorso de camundongos Swiss fêmeas (exceto no grupo naive) por 5 dias ($n = 6/\text{grupo}$). Diariamente os animais foram tratados por via oral (gavagem) com baixas doses de naltrexona (BDN) (6,25 mg/kg), betametasona (0,25 mg/kg), veículo (água, 100 μL), morfina (1 mg/kg) ou uma combinação de BDN com morfina (6,25 mg/kg de naltrexona e 1 mg/kg de morfina). Foram avaliados parâmetros de eficácia como o índice de gravidade por área da psoríase (PASI), o tempo para o desaparecimento das lesões e a acantose epidérmica; e parâmetros de segurança como o peso corporal, o consumo de água/ração, a deambulação e parâmetros bioquímicos e hematológicos. Para avaliar o mecanismo de ação do tratamento com BDN foram quantificadas as concentrações de TNF, IL-17A, IFN- γ , TGF- $\beta 1$ por Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) e a expressão do receptor opioide μ por Western blotting, em amostras da pele dos animais. O tratamento com BDN atenuou o PASI e diminuiu a acantose. Como esperado o imiquimode causou redução do peso, diminuição do consumo de ração e da ingestão de água e leucocitose. BDN não alterou o comportamento exploratório dos camundongos. BDN atenuou as concentrações das citocinas pró-inflamatórias TNF, IL-17A e IFN- γ envolvidas na patogênese da psoríase e aumentou a expressão do receptor opioide μ , evidenciando a eficácia e segurança do tratamento com BDN em um modelo animal de psoríase.

Palavras-chave: Naltrexona; Psoríase; Imiquimode; Inflamação.

Abstract

Psoriasis patients report great dissatisfaction with the treatment available for the disease, either due to lack of effectiveness or side effects. Treatment with low doses of naltrexone (BDN) is innovative and appears as a complementary therapy to conventional treatment. Psoriatic lesions were induced by imiquimod, applied to the skin of the back of female Swiss mice (except in the naive group) for 5 days (n = 6 / group). Daily the animals were treated orally (gavage) with low doses of naltrexone (BDN) (6.25 mg / kg), betamethasone (0.25 mg / kg), vehicle (water, 100 μ L), morphine (1 mg / kg) or a combination of BDN with morphine (6.25 mg / kg of naltrexone and 1 mg / kg of morphine). Efficacy parameters were evaluated, such as the severity index by area of psoriasis (PASI), the time for lesions to disappear and epidermal acanthosis; and safety parameters such as body weight, water / feed consumption, walking and biochemical and hematological parameters. In order to evaluate the mechanism of action of BDN treatment, the concentrations of TNF, IL-17A, IFN- γ , TGF- β 1 were quantified by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and the expression of μ opioid receptor by Western blotting, in samples of animals' skin. Treatment with BDN attenuated PASI and decreased acanthosis. As expected, imiquimod caused weight reduction, decreased feed intake and water intake and leukocytosis. BDN did not alter the exploratory behavior of the mice. BDN attenuated the concentrations of the proinflammatory cytokines TNF, IL-17A and IFN- γ involved in the pathogenesis of psoriasis and increased the expression of μ opioid receptor, demonstrating the efficacy and safety of treatment with BDN in an animal model of psoriasis.

Keywords: Low dose naltrexone; Psoriasis; Imiquimod; Inflammation.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A administração de BDN mostrou-se benéfica no tratamento dos camundongos com lesões psoriasiformes, pois reduziu de modo expressivo as lesões induzidas por imiquimode macroscopicamente e microscopicamente. O tratamento com BND promoveu a limpeza completa da pele em um curto período de tempo, além de denotar segurança e eficácia. O tratamento com BDN também atenuou parcialmente os níveis dos fatores pró inflamatórios testados, o que pode reduzir os danos associados as lesões psoriasiformes. Apesar de o TGF- β 1 não apresentar efeito imunorregulador, o efeito imunossupressor foi observado sobre o TNF, IL-17A, IFN- γ . Possivelmente esses efeitos estejam relacionados ao tratamento com BDN, uma vez que, estudos importantes apontam efetividade no tratamento de diversas patologias. Foi possível observar o aumento do imunoconteúdo receptor opioide μ na pele dos camundongos tratados com BDN. A morfina atenuou a acantose e retratou um efeito imunossupressor frente ao TNF, mecanismo ainda desconhecido. Os benefícios da utilização de BDN podem ser melhor investigados, podendo-se utilizar diferentes concentrações e ou a associação com outros medicamentos já estabelecidos pelo CONITEC. Os parâmetros bioquímicos, hematológicos e imunológicos aqui estudados, serviram de base científica para posteriores estudos.

REFERÊNCIAS

1. Boehncke W-H. Etiology and Pathogenesis of Psoriasis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2015 Nov;41(4):665–75.
2. Raychaudhuri SK, Maverakis E, Raychaudhuri SP. Diagnosis and classification of psoriasis. *Autoimmun Rev*. 2014;13(4–5):490–5.
3. Moscardi ER, Ester S, Ogava N. Psoriasis : etiology , diagnosis and treatment. *Rev Uningá Rev*. 2017;29(2):70–4.
4. Lebwohl MG, Bachelez H, Barker J, Girolomoni G, Kavanaugh A, Langley RG, et al. Patient perspectives in the management of psoriasis: Results from the population-based Multinational Assessment of Psoriasis and Psoriatic Arthritis Survey. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(5).
5. World Health Organization. Global report on psoriasis [Internet]. 1st ed. Eua; 2016. 48 p. Available from: www.who.int
6. Jesus NA, Reis LA, Castro JS. Impacto da psoríase na qualidade de vida dos pacientes em tratamento : uma revisão sistemática da literatura. *Inter Sci*. 2016;4(1):37–41.
7. Lebwohl MG, Bachelez H, Barker J, Girolomoni G, Kavanaugh A, Langley RG, et al. Patient perspectives in the management of psoriasis: Results from the population-based multinational assessment of psoriasis and psoriatic arthritis survey. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2014 [cited 2018 Oct 14];70(5):871–81. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962214009773>
8. Rachakonda TD, Schupp CW, Armstrong AW. Psoriasis prevalence among adults in the United States. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2014 [cited 2018 Oct 17];70(3):512–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388724>
9. Kim WB, Jerome D, Yeung J. Diagnosis and management of psoriasis. *Can Fam Physician*. 2017;63(4):278–85.
10. Moscardi ER, Ester S, Ogava N. Psoriasis : Etiology , Diagnosis and Treatment. 2017;29(2):70–4.
11. Nestle F, Kaplan D, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009;361(5):496–509.
12. Boehncke WH, Schön MP. Psoriasis. *Lancet*. 2015;386(9997):983–94.
13. Mahil SK, Capon F, Barker JN. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy. *Semin Immunopathol* [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 9];38(1):11–27. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4706579/pdf/281_2015_Article_539.pdf
14. Elesgoog L. Low-dose Naltrexone (LDN) Fact Sheet 2015. *Res LDN*. 2015;1(b):1–12.
15. Abraha I, Cusi C. Oral Naltrexone Maintenance Treatment for Opioid Dependence1. In: *Alcohol and Drug Misuse* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2012. p. 118–20. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/9781118454503.ch45>

16. Iberoquímica. Bula Naltrexona [Internet]. São Paulo; 2017. Available from: http://www.2cristalia.com.br/arquivos_medicamentos/150/150_Revia_Bula_Paciente.pdf
17. Minozzi S, Amato L, Vecchi S, Davoli M, Kirchmayer U, Verster A. Oral naltrexone maintenance treatment for opioid dependence. In: Library TC, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2nd ed. Nova Jersey, EUA; 2011. p. 1–46.
18. Toljan K, Vrooman B. Low-Dose Naltrexone (LDN)—Review of Therapeutic Utilization. *Med Sci*. 2018;6(82):2–18.
19. Agrawal YP. Low dose naltrexone therapy in multiple sclerosis. *Med Hypotheses*. 2005;64(4):721–4.
20. Rahn KA, McLaughlin PJ, Zagon IS. Prevention and diminished expression of experimental autoimmune encephalomyelitis by low dose naltrexone (LDN) or opioid growth factor (OGF) for an extended period: Therapeutic implications for multiple sclerosis. *Brain Res*. 2011;1381:243–53.
21. Sharafaddinzadeh N, Moghtaderi A, Kashipazha D, Majdinasab N, Shalbafan B. The effect of low-dose naltrexone on quality of life of patients with multiple sclerosis: a randomized placebo-controlled trial. *Mult Scler J* [Internet]. 2010 Aug 9;16(8):964–9. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1352458510366857>
22. Gironi M, Martinelli-Boneschi F, Sacerdote P, Solaro C, Zaffaroni M, Cavarretta R, et al. A pilot trial of low-dose naltrexone in primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler J* [Internet]. 2008 Sep 16;14(8):1076–83. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1352458508095828>
23. Ludwig MD, Zagon IS, McLaughlin PJ. Featured Article: Serum [Met 5]-enkephalin levels are reduced in multiple sclerosis and restored by low-dose naltrexone. *Exp Biol Med* [Internet]. 2017 Sep 2;242(15):1524–33. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1535370217724791>
24. Segal D, Jk M, Chande N. Low dose naltrexone for induction of remission in Crohn ' s disease (Review). *Cochrane database syst rev*. 2014;A(2):3–32.
25. Lee B, Elston DM. The uses of naltrexone in dermatologic conditions. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2019;80(6):1746–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.12.031>
26. Younger J, Mackey S. Fibromyalgia symptoms are reduced by low-dose naltrexone: A pilot study. *Pain Med*. 2009;10(4):663–72.
27. Younger J, Noor N, McCue R, Mackey S. Low-dose naltrexone for the treatment of fibromyalgia: Findings of a small, randomized, double-blind, placebo-controlled, counterbalanced, crossover trial assessing daily pain levels. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2013 [cited 2018 Oct 14];65(2):529–38. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/art.37734>
28. Younger J, Parkitny L, McLain D. The use of low-dose naltrexone (LDN) as a novel anti-inflammatory treatment for chronic pain. *Clin Rheumatol*. 2014;33(4):451–9.
29. Raknes G, Småbrekke L. Low dose naltrexone in multiple sclerosis: Effects on medication use. A quasi-experimental study. *PLoS One*. 2017;12(11):1–13.

30. Muller G, Grieshaber R, Talley JF, Riepl M, Fellows D. Compounded Low-dose Naltrexone for the Treatment of Guttate Psoriasis: A Case Report. [Internet]. International journal of pharmaceutical compounding. 2018 [cited 2018 Dec 4]. p. 270–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30021181>
31. Bridgman AC, Kirchhof MG. Treatment of psoriasis vulgaris using low-dose naltrexone. JAAD case reports [Internet]. 2018 Sep [cited 2018 Dec 4];4(8):827–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30238048>
32. Beltran Monasterio EP. Low-dose Naltrexone: An Alternative Treatment for Erythrodermic Psoriasis. Cureus. 2019;11(1).
33. Weinstock LB, Cottel J, Aldridge L, Egeberg A. Low-dose Naltrexone Therapy for Psoriasis. Int J Pharm Compd [Internet]. 2020 [cited 2020 Jul 23];24(2):94–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32196470/>
34. Khan S, Ghafoor R, Kaleem S. Efficacy of Low Dose Naltrexone in Psoriasis. J Coll Physicians Surg Pakistan [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2020 Aug 26];30(06):579–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32703340/>
35. Khan S, Ghafoor R, Kaleem S. Efficacy of Low Dose Naltrexone in Psoriasis. J Coll Physicians Surg Pak. 2020;30(6):579–83.
36. Breitkreutz D, Koxholt I, Thiemann K, Nischt R. Skin basement membrane: The foundation of epidermal integrity - BM functions and diverse roles of bridging molecules nidogen and perlecan. Biomed Res Int. 2013;179784:1–16.
37. Kolarsick PA, Kolarsick MA, Goodwin C. Anatomy and Physiology of the skin. In: Dermatolog Nurses Association2. 2011. p. 203–13.
38. Kolarsick PAJB, Kolarsick MA, Goodwin CA-B. Anatomy and Physiology of the Skin. Dermatology Nurses. 2011;3(4):203–13.
39. Kolarsick P, Kolarsick M, Goodwin C. Anatomy and physiology of the skin. In: James W, Berger T, Elston D, editors. Diseases of the skin: Clinical dermatology. 10th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. p. 1–11.
40. Miranda-Vilela AL. Tecido tegumentar [Internet]. AFH.BIO. 2020. p. 2. Available from: <https://afh.bio.br/sistemas/tegumentar/1.php>
41. Barcaui E de O, Carvalho ACP, Piñeiro-Maceira J, Barcaui CB, Moraes H. Estudo da anatomia cutânea com ultrassom de alta frequência (22 MHz) e sua correlação histológica. Radiol Bras. 2015;48(5):324–9.
42. Junqueira L, Carneiro J. Histologia básica. 13th ed. 2013. 568 p.
43. Mendonça R da SC, Rodrigues GB de O. As principais alterações dermatológicas em pacientes obesos. ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo). 2011;24(1):68–73.
44. Filho G. Bongliolo patologia. 8th ed. Gerais UF de M, editor. Belo Horizonte: Guanabara Koogan; 2012. 1245 p.
45. Gaur M, Dobke M, Lunyak V V. Mesenchymal stem cells from adipose tissue in clinical applications for dermatological indications and skin aging. Int J Mol Sci. 2017;18(1).
46. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunologia celular e molecular. 9 th. Abbas AK, editor. Rio de Janeiro: Elsevier; 2019. 565 p.
47. Mueller SN, Zaid A, Carbone FR. Tissue-Resident T Cells: Dynamic Players in

- Skin Immunity. *Front Immunol* [Internet]. 2014 Jul 16;5(16):332. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00332/abstract>
48. Eyerich S, Eyerich K, Traidl-Hoffmann C, Biedermann T. Cutaneous Barriers and Skin Immunity: Differentiating A Connected Network. *Trends Immunol* [Internet]. 2018 Apr;39(4):315–27. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490618300280>
 49. Richmond JM, Harris JE. Immunology and Skin in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2014 Dec 1;4(12):a015339–a015339. Available from: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a015339>
 50. Quaresma JAS. Organization of the skin immune system and compartmentalized immune responses in infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(4):1–35.
 51. Matejuk A. Skin Immunity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* [Internet]. 2018 Feb 16;66(1):45–54. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00005-017-0477-3>
 52. Kabashima K, Honda T, Ginhoux F, Egawa G. The immunological anatomy of the skin. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2019 Jan 14;19(1):19–30. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41577-018-0084-5>
 53. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*. 9th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2019. 1–416 p.
 54. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt - Fundamentos de Imunologia. 12 th. Roitt IM, editor. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. 552 p.
 55. Griffiths CEM, van der Walt JM, Ashcroft DM, Flohr C, Naldi L, Nijsten T, et al. The global state of psoriasis disease epidemiology: a workshop report. *Br J Dermatol*. 2017;177(1):e4–7.
 56. Organização Mundial da Saúde. Relatório global sobre a psoríase. Brasil; 2016. 48 p.
 57. Dermatologia SB De. Perfil nosológico das consultas dermatológicas no Brasil. 2006;81(6):549–58.
 58. Sociedade Brasileira de Dermatologia HA, Miot HA, Penna G de O, Ramos AMC, Penna MLF, Schmidt SM, et al. Profile of dermatological consultations in Brazil (2018). *An Bras Dermatol* [Internet]. 2018;93(6):916–28. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962018000600916&lng=en&tlng=en%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30484547%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC6256211
 59. Alves GB, Nunes DH, Ramos LDR. Prevalência das dermatoses no ambulatório de dermatologia da UNISUL. *ACM arq catarin med*. 2007;36(1):65–8.
 60. Brasil Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Psoríase [Internet]. Portaria n. 10 DOU 6 de setembro de 2019 Brasil: Comissão nacional de incorporação de tecnologias no SUS (CONITEC); 2019 p. 101. Available from:

- http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2019/Relatorio_PCDT-Psoriase_CP_22_2019.pdf
61. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA*. 2001;286(17):2136–42.
 62. Silveria MaE de B, Pelegrina Neto G, Regina Ferreira F. Perfil epidemiológico e qualidade de vida na psoríase [Internet]. Vol. 15, ARTIGO ORIGINAL Rev Soc Bras Clin Med. 2017 out-dez. 2017 [cited 2019 Apr 9]. Available from: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877082/154246-251.pdf>
 63. Lebwohl MG, Bachelez H, Barker J, Girolomoni G, Kavanaugh A, Langley RG, et al. Patient perspectives in the management of psoriasis: Results from the population-based Multinational Assessment of Psoriasis and Psoriatic Arthritis Survey. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2014 May;70(5):871-881.e30. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0190962214009773>
 64. Raghuveer C, Shivanand DR, Rajashekar N. A Clinico-histopathological Study of Psoriasis. *Int J Sci Study* [Internet]. 2015 [cited 2019 Apr 9];3(7):176–9. Available from: www.ijss-sn.com
 65. Park JH, Park YJ, Kim SK, Kwon JE, Kang HY, Lee ES, et al. Histopathological differential diagnosis of psoriasis and seborrheic dermatitis of the scalp. *Ann Dermatol*. 2016;28(4):427–32.
 66. Wagner EF, Schonthaler HB, Guinea-Viniegra J, Tschachler E. Psoriasis: What we have learned from mouse models. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2010;6(12):704–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2010.157>
 67. Oliveira M de FSP de, Rocha B de O, Duarte GV. Psoriasis: classical and emerging comorbidities. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2015 Feb;90(1):9–20. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962015000100009&lng=en&tlng=en
 68. Miguel P, Mesquita A, Fernando Pessoa U. Psoríase: fisiopatologia e terapêutica [dissertação] [Internet]. Faculdade de Ciências da Saúde; 2013. Available from: https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4486/1/PPG_10641.pdf
 69. Junior WB, Di Chiacchio N, Criado PR. Tratado de dermatologia [Internet]. 3rd ed. São Paulo: Atheneu Editora; 2014. 3360 p. Available from: https://www.americanas.com.br/produto/42583059/tratado-de-dermatologia?WT.srch=1&epar=bp_pl_00_go_liv_todas_geral_gmv&gclid=EAlaQobChMImZmM1tCL3glViYSzCh1P2wjzEAKYASABEgLONvD_BwE&opn=YSMESP&sellerId=15013754000153
 70. Jones JB. Psoriasis. In: *Medicine* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2013. p. 334–40. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-59963-2_4
 71. Rodrigues A, Teixeira R. Desvendando a psoríase. *Rev Bras Análises Clínicas* [Internet]. 2009;41(4):303–9. Available from: <http://qualis.capes.gov.br/>
 72. Denise M, Takahashi F, Romiti R. Sociedade brasileira de dermatologia. Consenso brasileiro de psoríase. consenso brasileiro de psoríase. Guias de avaliação e tratamento [Internet]. 2nd ed. Rio de Janeiro; 2012. 172 p.

- Available from:
www.sbd.org.br
www.sbd.org.br CONSENSO BRASILEIRO DE PSORÍASE 2012
73. Ruiz DG, de Azevedo MNL, da Rosa Santos OL. Psoriatic arthritis: A clinical entity distinct from psoriasis? *Rev Bras Reumatol.* 2012;52(4):630–8.
 74. Sociedade Brasileira de Dermatologia. Consenso Brasileiro de Psoríase. Consenso Brasileiro de Psoríase 2012 Guias de Avaliação e Tratamento. 2012. 172 p.
 75. Belge K, Brück J, Ghoreschi K. Advances in treating psoriasis. *Prime Reports.* 2014;6:2–9.
 76. Walsh JA, Jones H, Mallbris L, Callis Duffin K, Krueger GG, Clegg DO, et al. The Physician Global Assessment and Body Surface Area composite tool is a simple alternative to the Psoriasis Area and Severity Index for assessment of psoriasis: post hoc analysis from PRISTINE and PRESTA. *Psoriasis Targets Ther.* 2018;
 77. Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica.* 1978;157(4):238–44.
 78. Martins GA, Arruda L, Mugnaini ASB. Validation of life quality questionnaires for psoriasis patients. *An Bras Dermatol.* 2004;79(5):521–35.
 79. Stern RS, Nijsten T, Feldman SR, Margolis DJ, Rolstad T. Psoriasis Is Common, Carries a Substantial Burden Even When Not Extensive, and Is Associated with Widespread Treatment Dissatisfaction. *J Investig Dermatology Symp Proc [Internet].* 2004 Mar;9(2):136–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15530005>
 80. Takahashi M, Arnone M, Martins G. Consenso brasileiro de psoríase e guias de tratamento. *Soc Bras* 2006;53–60.
 81. Campos HS. Corticoterapia. 2018;2(3):324–34.
 82. Highton A, Quell J. Calcipotriene ointment 0.005% for psoriasis: A safety and efficacy study. *J Am Acad Dermatol.* 1995;32(1):67–72.
 83. McKenna KE, Stern RS. Photosensitivity associated with combined UV-B and calcipotriene therapy. *Arch Dermatol.* 1995;131(11):1305–7.
 84. De Lima Oliveira C, Ferro CDS, Oliveira CR, Longati K, Cunha SVS da, Honda T, et al. A evolução da molécula de vitamina A utilizada em formulações cosmecêuticas. *Brazilian J Nat Sci [Internet].* 2018 Feb 28;1(1):30. Available from: <http://www.bjns.com.br/index.php/bjns/article/view/13>
 85. Duvic M, Nagpal S, Asano AT, Chandraratna RAS. Molecular mechanisms of tazarotene action in psoriasis. In: *Journal of the American Academy of Dermatology.* 1997.
 86. Guenther LC. Topical tazarotene therapy for psoriasis, acne vulgaris, and photoaging. *Skin Therapy Lett.* 2002;7(3):1–4.
 87. Talpur R, Cox K, Duvic M. Efficacy and safety of topical tazarotene: a review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2009;5(2):195–210.
 88. Silverman A, Menter A, Hairston JL. Tars and anthralins. *Dermatol Clin.* 1995;13(4):817–33.
 89. Paghdal K V., Schwartz RA. Topical tar: Back to the future. Vol. 61, *Journal of*

- the American Academy of Dermatology. 2009. p. 294–302.
90. Bulat V, Situm M, Dediol I, Ljubicić I, Bradić L. The mechanisms of action of phototherapy in the treatment of the most common dermatoses. *Coll Antropol*. 2011;
 91. Barreto J, Santos D, Ferreira S, De AA, De E, Majus T. Atividade antipsoriática de extratos de *tropaeolum majus* (tropaeolaceae) padronizados em antocianinas sobre lesões psoriasiformes induzidas em camundongos com imiquimode [dissertação] [Internet]. Universidade do sul de anta catarina programa de pós-graduação em ciências da saúde; 2018. Available from: https://riuni.unisul.br/bitstream/handle/12345/4656/Ferreira_dissertação_2018_versao_final_-_Copia_%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 92. Comissão nacional de incorporação de tecnologia ao SUS. Adalimumabe, etanercepte, infliximabe, secuquinumabe e ustequinumabe para psoríase moderada a grave [Internet]. 3rd ed. 2018. 135 p. Available from: <http://conitec.gov.br>
 93. Duarte I, Cunha JAJ da, Bedrikow RB, Lazzarini R. Qual é o tipo de fototerapia mais comumente indicada no tratamento da psoríase?: UVB banda estreita e PUVA: comportamento da prescrição. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2009 Jul;84(3):244–8. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962009000300005&lng=pt&tlng=pt
 94. Brownell J, Wang S, Tsoukas MM. Compliance and phototherapy. *Clin Dermatol* [Internet]. 2016 Sep;34(5):582–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.05.007>
 95. Lopez A, Almeida YD, Rodrigues JB, Sanchez FAV, Guzman LMP. Artigo Original Psoríase invertida infantil extensa - abordagem do manejo An approach to the management of childhood extensive inverse psoriasis. *Pediatr Mod*. 2014;50(1):33–6.
 96. Saúde M da SS de A à, PORTARIA. Portaria nº 1229, de 5 de novembro de 2013 aprova. 2013.
 97. Cather J, Menter A. Novel therapies for psoriasis. *Am J Clin Dermatol*. 2002;3(3):159–73.
 98. Anti SMA, Giorgi RDN, Chahade WH. Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. *Einstein (São Paulo)*. 2008;6(Supl 1):159–65.
 99. Gaies E, Jebabli N. Methotrexate Side Effects: Review Article. *J Drug Metab Toxicol*. 2012;3(4).
 100. Warren RB, Griffiths CEM. Systemic therapies for psoriasis: methotrexate, retinoids, and cyclosporine. *Clin Dermatol*. 2008;26(5):438–47.
 101. Chan ESL, Cronstein BN. Methotrexate—how does it really work? *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(3):175–8.
 102. Dalmarco EM. Análise da atividade antiinflamatória do metotrexato e da ciclosporina a, no modelo da pleurisia induzida pela carragenina, em camundongos. Universidade federal de santa catarina; 2003.
 103. Gisondi P, Del Giglio M, Girolomoni G. Treatment Approaches to Moderate to Severe Psoriasis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2017 [cited 2019 Apr 10];18(11):2427.

Available from: www.mdpi.com/journal/ijms

104. Martins GA. A acitretina na psoríase. 2009. 69–74 p.
105. Martins GA, Arruda L. Tratamento sistêmico da psoríase - Parte I: metotrexato e acitretina. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2004 May [cited 2019 Jan 10];79(3):263–78. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962004000300002&lng=pt&tlng=pt
106. Shalom G, Zisman D, Bitterman H, Harman-Boehm I, Greenberg-Dotan S, Dreihier J, et al. Systemic therapy for psoriasis and the risk of herpes zoster: A 500000 person-year study. In: *JAMA Dermatology*. 2015.
107. Tedesco D, Haragsim L. Cyclosporine: A Review. *J Transplant* [Internet]. 2012;2012:1–7. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jtrans/2012/230386/>
108. Carneiro S. Psoríase : mecanismos de doença e implicações terapêuticas. Vol. São Paulo. 2007.
109. Aydin F, Canturk T, Senturk N, Turanli AY. Methotrexate and ciclosporin combination for the treatment of severe psoriasis. *Clin Exp Dermatol* [Internet]. 2006 Jun [cited 2019 Jan 10];31(4):520–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16716153>
110. Taylor D. The pharmaceutical industry and the future of drug development. *Issues in Environmental Science and Technology*. 2016.
111. Blackstone EA, Fuhr JP. The economics of biosimilars. *Am Heal Drug Benefits*. 2013;6(8):469–77.
112. Ulhoa CJ, Silva R do N. Biotecnologia farmacêutica e seus desafios. *Rev UFG* [Internet]. 2017 Jul 31;9(1 SE-Artigos). Available from: <https://www.revistas.ufg.br/revistaufg/article/view/48161>
113. Robinson MP, Ke N, Lobstein J, Peterson C, Szkodny A, Mansell TJ, et al. Efficient expression of full-length antibodies in the cytoplasm of engineered bacteria. *Nat Commun*. 2015;6.
114. Piccirillo E, Amaral A. BUSCA VIRTUAL DE COMPOSTOS BIOATIVOS: CONCEITOS E APLICAÇÕES. *Quim Nova* [Internet]. 2018;41(6):662–77. Available from: http://quimicanova.s bq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=6762&nomeArquivo=RV20170483.pdf
115. Nagaich U. Recombinant DNA technology: A revolutionizing outlook. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*. 2015.
116. Mahmuda A, Bande F, Al-Zihiry KJK, Abdulhaleem N, Majid RA, Hamat RA, et al. Monoclonal antibodies: A review of therapeutic applications and future prospects. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2017.
117. Saurat JH, Stingl G, Dubertret L, Papp K, Langley RG, Ortonne JP, et al. Efficacy and safety results from the randomized controlled comparative study of adalimumab vs. methotrexate vs. placebo in patients with psoriasis (CHAMPION). *Br J Dermatol*. 2008;158(3):558–66.
118. Tying S, Gordon KB, Poulin Y, Langley RG, Gottlieb AB, Dunn M, et al. Long-

- term safety and efficacy of 50 mg of etanercept twice weekly in patients with psoriasis. *Arch Dermatol*. 2007;143(6):719–26.
119. Reich K, Nestle FO, Papp K, Ortonne JP, Evans R, Guzzo C, et al. Infliximab induction and maintenance therapy for moderate-to-severe psoriasis: A phase III, multicentre, double-blind trial. *Lancet*. 2005;366(9494):1367–74.
 120. Gottlieb AB, Blauvelt A, Thaçi D, Leonardi CL, Poulin Y, Drew J, et al. Certolizumab pegol for the treatment of chronic plaque psoriasis: Results through 48 weeks from 2 phase 3, multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled studies (CIMPASI-1 and CIMPASI-2). *J Am Acad Dermatol*. 2018;79(2):302-314.e6.
 121. Maia C, Takahashi M, Romiti R. Consenso Brasileiro de Psoríase - Guias de avaliação e tratamento Sociedade Brasileira de Dermatologia. 2nd ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Dermatologia; 2012. 172 p.
 122. abbvie Pharma. Bula adamimumabe. Ravensburg - Alemanha; 2019.
 123. Leonardi CL, Kimball AB, Papp KA, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1). *Lancet*. 2008;371(9625):1665–74.
 124. López-Sánchez C, Puig L. Guselkumab in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis. *Immunotherapy* [Internet]. 2020 Apr 21 [cited 2020 Apr 27];imt-2020-0040. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/imt-2020-0040>
 125. Reich K, Papp KA, Blauvelt A, Tying SK, Sinclair R, Thaçi D, et al. Tildrakizumab versus placebo or etanercept for chronic plaque psoriasis (reSURFACE 1 and reSURFACE 2): results from two randomised controlled, phase 3 trials. *Lancet*. 2017;390(10091):276–88.
 126. Gordon KB, Strober B, Lebwohl M, Augustin M, Blauvelt A, Poulin Y, et al. Efficacy and safety of risankizumab in moderate-to-severe plaque psoriasis (UltIMMa-1 and UltIMMa-2): results from two double-blind, randomised, placebo-controlled and ustekinumab-controlled phase 3 trials. *Lancet*. 2018;392(10148):650–61.
 127. Janssen Pharma. Bula ustequinumabe. Schaffhausen - Suíça; 2019.
 128. Langley RG, Elewski BE, Lebwohl M, Reich K, Griffiths CEM, Papp K, et al. Secukinumab in plaque psoriasis - Results of two phase 3 trials. *N Engl J Med*. 2014;371(4):326–38.
 129. Gordon KB, Blauvelt A, Papp KA, Langley RG, Luger T, Ohtsuki M, et al. Phase 3 trials of ixekizumab in moderate-to-severe plaque psoriasis. *N Engl J Med*. 2016;375(4):345–56.
 130. Blair HA. Brodalumab: A Review in Moderate to Severe Plaque Psoriasis. *Drugs* [Internet]. 2018;78(4):495–504. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0888-4>
 131. novartis. Bula secuquinumabe. Stein - Suíça; 2019.
 132. da Mota LMH, Cruz BA, Brenol CV, Pollak DF, Pinheiro G da RC, Laurindo IMM, et al. Safe use of biological therapies for the treatment of rheumatoid

- arthritis and spondyloarthritis. *Rev Bras Reumatol* [Internet]. 2015;55(3):281–309. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2014.06.006>
133. Quartuccio L, Zabotti A, Del Zotto S, Zanier L, De Vita S, Valent F. Risk of serious infection among patients receiving biologics for chronic inflammatory diseases: Usefulness of administrative data. *J Adv Res* [Internet]. 2019 Jan;15:87–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S209012321830095X>
 134. Blauvelt A, Lebwohl MG, Bissonnette R. IL-23/IL-17A Dysfunction Phenotypes Inform Possible Clinical Effects from Anti-IL-17A Therapies. *Journal of Investigative Dermatology*. 2015.
 135. World Health Organization. EB133.R2 World Psoriasis Day. Proceedings of Sixty-Seventh World Health Assembly Geneva - Switzerland; 2014 p. 1–6.
 136. World Health Organization. Septuagésima Assembleia da Organização Mundial de Saúde - Agenda item 13.5. In: Psoriasis [Internet]. Genebra - Suíça; 2014. p. 2014. Available from: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA67/A67_R9-en.pdf
 137. Trust W, Control C, Analysis G, Consortium P, Tables S, Project G, et al. Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet*. 2012;44(12):1341–50.
 138. Bieber T. *Personalized Treatment Options in Dermatology*. 1st ed. Berlin Heidelberg-UK: Springer; 2015. 149 p.
 139. Guðjónsson JE, Valdimarsson H, Kárasón A, Antonsdóttir AA, Hjaltey Rúnarsdóttir E, Gulcher JR, et al. HLA-Cw6-positive and HLA-Cw6-negative patients with psoriasis vulgaris have distinct clinical features. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2002 [cited 2018 Nov 8];118(2):362–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11841557>
 140. Elder JT. PSORS1: Linking genetics and immunology. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2006;126(6):1205–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15329535>
 141. Mallon E, Bunce M, Savoie H, Rowe A, Newson R, Gotch F, et al. HLA-C and guttate psoriasis. *Br J Dermatol* [Internet]. 2000 [cited 2018 Nov 8];143(6):1177–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11122018>
 142. Diani M, Altomare G, Reali E. T Helper Cell Subsets in Clinical Manifestations of Psoriasis. *J Immunol Res*. 2016;3(1):1–7.
 143. Nestle F, M D, Kaplan D, M D, D P, D J. Mechanisms of disease psoriasis. *new Engl J Med Rev*. 2009;361(5):496–509.
 144. Song L, Schindler C. JAK-STAT Signaling. In: *Handbook of Cell Signaling* [Internet]. Second Edi. Elsevier; 2010. p. 2041–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374145-5.00249-7>
 145. Kim J, Krueger JG. The Immunopathogenesis of Psoriasis. *Dermatol Clin* [Internet]. 2015;33(1):13–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.det.2014.09.002>
 146. Schlapbach C, Gehad A, Yang C, Watanabe R, Guenova E, Teague JE, et al. Human TH9 Cells Are Skin-Tropic and Have Autocrine and Paracrine

- Proinflammatory Capacity. *Sci Transl Med* [Internet]. 2014 Jan 15;6(219):219ra8-219ra8. Available from: <http://stm.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/scitranslmed.3007828>
147. Xue G, Jin G, Fang J, Lu Y. IL-4 together with IL-1 β induces antitumor Th9 cell differentiation in the absence of TGF- β signaling. *Nat Commun* [Internet]. 2019 Dec 26;10(1):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-09401-9>
 148. Danilenko DM. Preclinical models of psoriasis. *Vet Pathol*. 2008;45(4):563–75.
 149. Van Belle AB, de Heusch M, Lemaire MM, Hendrickx E, Warnier G, Dunussi-Joannopoulos K, et al. IL-22 Is Required for Imiquimod-Induced Psoriasiform Skin Inflammation in Mice. *J Immunol* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2019 May 15];188(1):462–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22131335>
 150. Reich K, Iversen L, Bachelez H. Is complete skin clearance in psoriasis the answer ? *EMJ Dermatol*. 2018;6(1):53–61.
 151. Assadulah K, Sabat R, Friedrich M, Volk HD, Sterry W. Interleukin-10: An important immunoregulatory cytokine with major impact on psoriasis. *Current Drug Targets: Inflammation and Allergy*. 2004.
 152. (Concea) CNDCEA/ MDCTEI. Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos. *Vasa*. 2013;1–50.
 153. Nickoloff BJ, Wrone-Smith T. Injection of pre-psoriatic skin with CD4+ T cells induces psoriasis. *Am J Pathol*. 1999;155(1):145–58.
 154. Flutter B, Nestle FO. TLRs to cytokines: Mechanistic insights from the imiquimod mouse model of psoriasis. *Eur J Immunol*. 2013;43(12):3138–46.
 155. Gilliet M, Conrad C, Geiges M, Cozzio A, Thürlimann W, Burg G, et al. Psoriasis triggered by toll-like receptor 7 agonist imiquimod in the presence of dermal plasmacytoid dendritic cell precursors. *Arch Dermatol*. 2004;140(12):1490–5.
 156. Chi H, Li C, Zhao FS, Zhang L, Ng TB, Jin G, et al. Anti-tumor activity of toll-like receptor 7 agonists. *Front Pharmacol*. 2017;8(MAY):1–10.
 157. Butchi NB, Pourciau S, Du M, Morgan TW, Peterson KE. Analysis of the Neuroinflammatory Response to TLR7 Stimulation in the Brain: Comparison of Multiple TLR7 and/or TLR8 Agonists. *J Immunol* [Internet]. 2008 Jun 1 [cited 2019 Mar 12];180(11):7604–12. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/180/11/7604><http://www.jimmunol.org/content/180/11/7604.full#ref-list-1>
 158. Nerurkar L, McColl A, Graham G, Cavanagh J. The Systemic Response to Topical Aldara Treatment is Mediated Through Direct TLR7 Stimulation as Imiquimod Enters the Circulation. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-16707-5>
 159. Van der Fits L, Mourits S, Voerman JSA, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J Immunol* [Internet]. 2009;182(9):5836–45. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.0802999>
 160. Palamara F, Meindl S, Holcman M, Lühns P, Stingl G, Sibilio M. Identification

- and characterization of pDC-like cells in normal mouse skin and melanomas treated with imiquimod. *J Immunol*. 2004;173(5):3051–61.
161. van der Fits L, Mourits S, Voerman JSA, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice Is Mediated via the IL-23/IL-17 Axis. *J Immunol* [Internet]. 2009 May 1;182(9):5836–45. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.0802999>
 162. Barreto J, Santos DOS, Ferreira S. Atividade antipsoriática de extratos de *tropaeolum majus* (tropaeolaceae) padronizados em antocianinas sobre lesões psoriasiformes induzidas em camundongos com imiquimode [dissertação]. 2017.
 163. Moore K, Persaude T, Torchia M. *Embriologia Clínica*. 11th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2020. 1268 p.
 164. Kiecker C, Bates T, Bell E. Molecular specification of germ layers in vertebrate embryos. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(5):923–47.
 165. Technau U, Scholz CB. Origin and evolution of endoderm and mesoderm. *Int J Dev Biol*. 2003;47(7–8):531–9.
 166. Liu Y, Tang X. Depressive Syndromes in Autoimmune Disorders of the Nervous System: Prevalence, Etiology, and Influence. *Front Psychiatry* [Internet]. 2018 Sep 25;9(September):1–9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyt.2018.00451/full>
 167. Seiler A, Fagundes CP, Christian LM. The Impact of Everyday Stressors on the Immune System and Health. In: *Stress Challenges and Immunity in Space* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 71–92. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyt.2018.00451/full>
 168. Zhu TH, Nakamura M, Farahnik B, Abrouk M, Lee K, Singh R, et al. The Role of the Nervous System in the Pathophysiology of Psoriasis: A Review of Cases of Psoriasis Remission or Improvement Following Denervation Injury. *Am J Clin Dermatol*. 2016;17(3):257–63.
 169. Zhang X, He Y. The Role of Nociceptive Neurons in the Pathogenesis of Psoriasis. *Front Immunol*. 2020;11(September):1–8.
 170. Yang EJ, Beck KM, Koo J. Neuromodulation in Psoriasis and Psoriatic Arthritis. 2018;2(1):1–7.
 171. Sandoval-Talamantes AK, Gómez-González BA, Uriarte-Mayorga DF, Martínez-Guzman MA, Wheber-Hidalgo KA, Alvarado-Navarro A. Neurotransmitters, neuropeptides and their receptors interact with immune response in healthy and psoriatic skin. *Neuropeptides* [Internet]. 2020;79(December 2019):102004. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.npep.2019.102004>
 172. Martins AM, Ascenso A, Ribeiro HM, Marto J. The Brain–Skin Connection and the Pathogenesis of Psoriasis: A Review with a Focus on the Serotonergic System. *Cells*. 2020;9(4):796.
 173. Buddenkotte J, Steinhoff M. Pathophysiology and therapy of pruritus in allergic and atopic diseases. *Allergy* [Internet]. 2010 Apr 7;65(7):805–21. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2010.01995.x>
 174. Nattkemper LA, Tey HL, Valdes-Rodriguez R, Lee H, Mollanazar NK, Albornoz

- C, et al. The Genetics of Chronic Itch: Gene Expression in the Skin of Patients with Atopic Dermatitis and Psoriasis with Severe Itch. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2018 Jun;138(6):1311–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X18300046>
175. Zhou Y, Han D, Follansbee T, Wu X, Yu S, Wang B, et al. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) positively regulates imiquimod-induced, psoriasiform dermal inflammation in mice. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2019 Jul 21;23(7):4819–28. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jcmm.14392>
 176. Wang X-L, Cui L-W, Liu Z, Gao Y-M, Wang S, Li H, et al. Effects of TRPA1 activation and inhibition on TRPA1 and CGRP expression in dorsal root ganglion neurons. *Neural Regen Res* [Internet]. 2019;14(1):140. Available from: <http://www.nrroonline.org/text.asp?2019/14/1/140/243719>
 177. Parrado AC, Canellada A, Gentile T, Rey-Roldán EB. Dopamine Agonists Upregulate IL-6 and IL-8 Production in Human Keratinocytes. *Neuroimmunomodulation* [Internet]. 2012;19(6):359–66. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/342140>
 178. Fuziwara S, Suzuki A, Inoue K, Denda M. Dopamine D2-Like Receptor Agonists Accelerate Barrier Repair and Inhibit the Epidermal Hyperplasia Induced by Barrier Disruption. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2005 Oct;125(4):783–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15324520>
 179. Seiffert K, Hosoi J, Torii H, Ozawa H, Ding W, Campton K, et al. Catecholamines Inhibit the Antigen-Presenting Capability of Epidermal Langerhans Cells. *J Immunol* [Internet]. 2002 Jun 15;168(12):6128–35. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.168.12.6128>
 180. Thangam EB, Jemima EA, Singh H, Baig MS, Khan M, Mathias CB, et al. The Role of Histamine and Histamine Receptors in Mast Cell-Mediated Allergy and Inflammation: The Hunt for New Therapeutic Targets. *Front Immunol* [Internet]. 2018 Aug 13;9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.01873/full>
 181. Theoharides TC, Alysandratos K-D, Angelidou A, Delivanis D-A, Sismanopoulos N, Zhang B, et al. Mast cells and inflammation. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2012 Jan;1822(1):21–33. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443910002929>
 182. Wu H, Denna TH, Storkersen JN, Gerriets VA. Beyond a neurotransmitter: The role of serotonin in inflammation and immunity. *Pharmacol Res* [Internet]. 2019 Feb;140:100–14. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661818303013>
 183. Sandoval-Talamantes AK, Gómez-González BA, Uriarte-Mayorga DF, Martínez-Guzman MA, Wheber-Hidalgo KA, Alvarado-Navarro A. Neurotransmitters, neuropeptides and their receptors interact with immune response in healthy and psoriatic skin. *Neuropeptides* [Internet]. 2020;79(March 2019):102004. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.npep.2019.102004>

184. Zhang X, He Y. The Role of Nociceptive Neurons in the Pathogenesis of Psoriasis. *Front Immunol*. 2020;11(September):1–8.
185. Yadav M, Rosenbaum J, Goetzl EJ. Cutting Edge: Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) Induces Differentiation of Th17 Cells with a Distinctive Cytokine Profile. *J Immunol* [Internet]. 2008 Mar 1;180(5):2772–6. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.180.5.2772>
186. Li Z, You Y, Griffin N, Feng J, Shan F. Low-dose naltrexone (LDN): A promising treatment in immune-related diseases and cancer therapy. *Int Immunopharmacol*. 2018;61(36):178–84.
187. Patten DK, Schultz BG, Berlau DJ. The Safety and Efficacy of Low-Dose Naltrexone in the Management of Chronic Pain and Inflammation in Multiple Sclerosis, Fibromyalgia, Crohn's Disease, and Other Chronic Pain Disorders. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther* [Internet]. 2018 Mar;38(3):382–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/phar.2086>
188. Jaros J, Lio P. Low Dose Naltrexone in Dermatology. *J Drugs Dermatol*. 2019;18(3):235–8.
189. Sikora M, Rakowska A, Olszewska M, Rudnicka L. The Use of Naltrexone in Dermatology. Current Evidence and Future Directions. *Curr Drug Targets* [Internet]. 2019 Jul 12;20(10):1058–67. Available from: <http://www.eurekaselect.com/170794/article>
190. Frech T, Novak K, Revelo MP, Murtaugh M, Markewitz B, Hatton N, et al. Low-Dose Naltrexone for Pruritus in Systemic Sclerosis. *Int J Rheumatol* [Internet]. 2011;2011:1–5. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ijr/2011/804296/>
191. Strazzulla L, Avila L, Sicco L, Shapiro J. Novel Treatment Using Low-Dose Naltrexone for Lichen Planopilaris. *J Drugs Dermatol*. 2017;16(11):1140–1142.
192. Tran T, Chen A, Worswick S. Successful treatment of dermatomyositis with low-dose naltrexone. *Dermatol Ther* [Internet]. 2018 Nov;31(6):e12720. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/dth.12720>
193. Albers LN, Arbiser JL, Feldman RJ. Treatment of Hailey-Hailey disease with low-dose naltrexone. *JAMA Dermatology*. 2017;153(10):1018–20.
194. Goonoo N, Bhaw-Luximon A, Ujoodha R, Jhugroo A, Hulse GK, Jhurry D. Naltrexone: A review of existing sustained drug delivery systems and emerging nano-based systems. *J Control Release* [Internet]. 2014 Jun;183(1):154–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.046>
195. Brasil. Nota Técnica n. 100/2012 Anvisa. Nota técnica do Ministério da Saúde. 2012;1–6.
196. Cant R, Dalglish AG, Allen RL. Naltrexone inhibits IL-6 and TNF α production in human immune cell subsets following stimulation with ligands for intracellular toll-like receptors. *Front Immunol* [Internet]. 2017;22–44. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.00809/full>
197. Brown N, Panksepp J. Low-dose naltrexone for disease prevention and quality of life. *Med Hypotheses* [Internet]. 2009 Mar;72(3):333–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2008.06.048>
198. Moura FC De, Martins S, Soares PM, Anne G, Brito DC. Low-Dose Naltrexone

- in Diseases ' Treatment : Global Review. 2016;6(2):10–3.
199. Zagon IS, Donahue RN, Bonneau RH, McLaughlin PJ. B lymphocyte proliferation is suppressed by the opioid growth factor–opioid growth factor receptor axis: Implication for the treatment of autoimmune diseases. *Immunobiology* [Internet]. 2011 May;216(5):579–90. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0171298510001841>
 200. Zagon IS, Donahue RN, Bonneau RH, McLaughlin PJ. T lymphocyte proliferation is suppressed by the opioid growth factor ([Met5]-enkephalin)–opioid growth factor receptor axis: Implication for the treatment of autoimmune diseases. *Immunobiology* [Internet]. 2011 May;216(5):579–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2010.09.014>
 201. Zagon IS, Rahn KA, Turel AP, McLaughlin PJ. Endogenous Opioids Regulate Expression of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: A New Paradigm for the Treatment of Multiple Sclerosis. *Exp Biol Med* [Internet]. 2009 Nov;234(11):1383–92. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.3181/0906-RM-189>
 202. Younger J, Parkitny L, McLain D. The use of low-dose naltrexone (LDN) as a novel anti-inflammatory treatment for chronic pain. *Clin Rheumatol* [Internet]. 2014 Apr 15 [cited 2019 Feb 23];33(4):451–9. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962576/pdf/10067_2014_Article_2517.pdf
 203. Gendron L, Cahill CM, Zastrow M Von, Schiller PW, Pineyro G. Molecular Pharmacology of Opioid Receptors. *Pharmacol Rev*. 2016;3(68):631–700.
 204. McLaughlin PJ, McHugh DP, Magister MJ, Zagon IS. Endogenous opioid inhibition of proliferation of T and B cell subpopulations in response to immunization for experimental autoimmune encephalomyelitis. *BMC Immunol* [Internet]. 2015 Dec 24;16(1):24. Available from: ???
 205. Zagon IS, McLaughlin PJ. Intermittent blockade of OGF_R and treatment of autoimmune disorders. *Exp Biol Med* [Internet]. 2018 Dec 12;243(17–18):1323–30. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1535370218817746>
 206. Zagon IS, McLaughlin PJ. Opioid antagonist modulation of murine neuroblastoma: a profile of cell proliferation and opioid peptides and receptors. *Brain Res*. 1989;
 207. Donahue RN, McLaughlin PJ, Zagon IS. The opioid growth factor (OGF) and low dose naltrexone (LDN) suppress human ovarian cancer progression in mice. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2011;122(2):382–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2011.04.009>
 208. Mani D, Dhawan SS. SCIENTIFIC BASIS OF THERAPEUTIC USES OF OPIUM POPPY (PAPAVER SOMNIFERUM) IN AYURVEDA. *Acta Horti* [Internet]. 2014 May;1036(1036):175–80. Available from: https://www.actahort.org/books/1036/1036_20.htm
 209. MARTINS RT, ALMEIDA DB, MONTEIRO FM do R, KOWACS PA. Opioid receptors to date. *Rev Dor* [Internet]. 2012;13(1):75–9. Available from: http://www.scielo.br/pdf/rdor/v13n1/en_a14v13n1.pdf

210. Schiff PL. Opium and its alkaloids. American Journal of Pharmaceutical Education. 2002.
211. Brownstein MJ. A brief history of opiates, opioid peptides, and opioid receptors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1993.
212. Baraka A. Historical aspects of opium. Middle East J Anesthesiol. 1982;15(4):423–36.
213. Frick S, Kramell R, Schmidt J, Fist AJ, Kutchan TM. Comparative Qualitative and Quantitative Determination of Alkaloids in Narcotic and Condiment *Papaver somniferum* Cultivars. J Nat Prod [Internet]. 2005 May;68(5):666–73. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np0496643>
214. Kraychete DC, Garcia JBS, Siqueira JTT de. Recommendations for the use of opioids in Brazil: Part IV. Adverse opioid effects. Rev Dor [Internet]. 2014;15(3):215–23. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1806-0013.20140047>
215. Toubia T, Khalife T. The Endogenous Opioid System: Role and Dysfunction Caused by Opioid Therapy. Clin Obstet Gynecol. 2019;62(1):3–10.
216. Posso IP, Oliveira JOJ. Os opioides e a legislação. Rev Dor. 2009;10(4):355–69.
217. Kreutzmann H. Afghan Poppy Production for the World: Dynamics and Entanglements. Brown J World Aff [Internet]. 2019;25(2):145–55. Available from: <https://search-proquest-com.ezproxy2.apus.edu/docview/2244553784/fulltextPDF/30FDE1799BA4F25PQ/1?accountid=8289>
218. Martins RT, Almeida DB De, Marques F, André P, Ramina R. Opioid receptors to date * Receptores opioides até o contexto atual. 2012;13(1):75–9.
219. Nature Gate. Opium Poppy - *Papaver somniferum* [Internet]. Plants. 2020 [cited 2020 Jul 30]. p. 1. Available from: <http://www.luontoportti.com/suomi/en/kukkakasvit/opium-poppy>
220. Grieve M. *Papaver somniferum* [Internet]. Botanical. 2020 [cited 2020 Aug 4]. Available from: <https://botanical.com>
221. Jhon B. Natural, medicinal herbs - *Papoula* [Internet]. Medicinal herbs. 2020. p. 1. Available from: <http://www.naturalmedicinalherbs.net>
222. Cavalcanti IL, Carvalho ACG de, Musauer MG, Rodrigues VS, Migon RN, Figueiredo NV, et al. Safety and tolerability of controlled-release oxycodone on postoperative pain in patients submitted to the oncologic head and neck surgery. Rev Col Bras Cir [Internet]. 2014 Dec;41(6):393–9. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912014000600393&lng=en&tlng=en
223. Haidary AS. Socioeconomic factors associated with opioid drug use among the youth in Kabul , Afghanistan. Ritsumeikan J Asia Pacific Stud. 2015;34(September):93–105.
224. Saad H-EA, Badria FA, El-Neketi M. Bioorganic & Organic Chemistry Current Research in Forensic Analysis of a Confiscated Illicit Heroin Sample. Curr Res Bioorganic Org Chem. 2018;2018(978):1–19.

225. Duarte DF. Uma breve história do ópio e dos opióides. *Rev Bras Anesthesiol*. 2005;
226. Pathan H, Williams J. Basic opioid pharmacology: an update. *Br J Pain* [Internet]. 2016 Feb;6(1):11–6. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2049463712438493>
227. Kopecky EA. Opioid Pharmacology. *Clin J Pain* [Internet]. 2019 Jun;35(6):481–6. Available from: <http://journals.lww.com/00002508-201906000-00005>
228. Benarroch EE. Endogenous opioid systems: Current concepts and clinical correlations. *Neurology*. 2012;79(8):807–14.
229. Hall John E. Guyton e Hall. Tratado de fisiologia médica [Internet]. 13th ed. Rio de Janeiro; 2016. 1176 p. Available from: https://www.amazon.com.br/Guyton-Hall-Tratado-Fisiologia-Médica/dp/8535262857?__mk_pt_BR=ÅŽÕÑ&keywords=guyton&qid=1539712410&s=STRING%28br-books-storename%29&sr=1-1&ref=sr_1_1
230. Marzvanyan A, Alhawaj AF. Physiology, Sensory Receptors. *StatPearls* [Internet]. 2019;1(2019). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30969683>
231. Snyder SH, Pasternak GW. Historical review: Opioid receptors. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2003 Apr;24(4):198–205. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016561470300066X>
232. Merck. Anti-Mu Opioid Receptor Antibody [Internet]. Datasheet Cat. AB1580-I. 2020 [cited 2020 Aug 18]. p. 1. Available from: https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Anti-Mu-Opioid-Receptor-Antibody,MM_NF-AB1580-l#anchor_BiologicalInformationhttps://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Anti-Mu-Opioid-Receptor-Antibody,MM_NF-AB1580-l%23anchor_BiologicalInformation
233. Dhawan BN, Cesselin F, Raghubir R, Reisine T, Bradley PB, Portoghese PS, et al. International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacological Reviews*. 1996.
234. Bicca C, Ramos F, Campos V, Assis F, Pulchinelli Jr A. Abuso e Dependência dos Opióides e Opiáceos. *Assoc Bras Psiquiatr*. 2012;1–30.
235. Garcia JBS, Cardoso MG de M, Dos-Santos MC. Opioids and the Immune System: Clinical Relevance. *Brazilian J Anesthesiol* [Internet]. 2012 Sep;62(5):709–18. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034709412701691>
236. LASAGNA L, BEECHER HK. The analgesic effectiveness of nalorphine and nalorphine-morphine combinations in man. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 1954 Nov;112(3):356–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13212647>
237. Benseñor FEM, Cicarelli DD. Sedação e analgesia em terapia intensiva. *Rev Bras Anesthesiol* [Internet]. 2003 Sep;53(5):680–93. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-70942003000500016&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt
238. Foldes FF. The Human Pharmacology and Clinical Use of Narcotic Antagonists. *Med Clin North Am* [Internet]. 1964 Mar;48(2):421–43. Available

- from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)33474-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7125(16)33474-5)
239. Gharagozlou P, Hashemi E, DeLorey TM, Clark JD, Lameh J. Pharmacological profiles of opioid ligands at Kappa opioid receptors. *BMC Pharmacol* [Internet]. 2006;6(1):1–7. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-70942003000500016&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt
 240. Chen C, Farooqui M, Gupta K. Morphine Stimulates Vascular Endothelial Growth Factor-Like Signaling in Mouse Retinal Endothelial Cells. *Curr Neurovasc Res* [Internet]. 2006 Aug 1;3(3):171–80. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1567-2026&volume=3&issue=3&spage=171>
 241. Romero A, Planas E, Poveda R, Sánchez S, Pol O, Puig MM. Anti-exudative effects of opioid receptor agonists in a rat model of carrageenan-induced acute inflammation of the paw. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2005 Mar;511(2–3):207–17. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299905001354>
 242. Pradhan AAA, Walwyn W, Nozaki C, Filliol D, Erbs E, Matifas A, et al. Ligand-Directed Trafficking of the μ -Opioid Receptor In Vivo: Two Paths Toward Analgesic Tolerance. *J Neurosci* [Internet]. 2010 Dec 8;30(49):16459–68. Available from: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.3748-10.2010>
 243. Bigliardi PL, Bigliardi-qi M, Buechner S, Rufli T. Expression of μ -Opiate Receptor in Human Epidermis and Keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 1998;111(2):297–301.
 244. Reich A, C. Szepietowski J. Non-Analgesic Effects of Opioids: Peripheral Opioid Receptors as Promising Targets for Future Anti-Pruritic Therapies. *Curr Pharm Des*. 2012;18(37):6021–4.
 245. Eisenstein TK. The Role of Opioid Receptors in Immune System Function. *Front Immunol* [Internet]. 2019 Dec 20;10(December):1–20. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.02904/full>
 246. Celik MÖ, Labuz D, Henning K, Busch-Dienstfertig M, Gaveriaux-Ruff C, Kieffer BL, et al. Leukocyte opioid receptors mediate analgesia via Ca^{2+} -regulated release of opioid peptides. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2016 Oct;57:227–42. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088915911630109X>
 247. Sauer R-S, Hackel D, Morschel L, Sahlbach H, Wang Y, Mousa SA, et al. Toll like Receptor (TLR)-4 as a Regulator of Peripheral Endogenous Opioid-Mediated Analgesia in Inflammation. *Mol Pain* [Internet]. 2014 Jan;10:1744-8069-10–10. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1186/1744-8069-10-10>
 248. Rittner HL, Hackel D, Yamdeu R-S, Mousa SA, Stein C, Schäfer M, et al. Antinociception by neutrophil-derived opioid peptides in noninflamed tissue—Role of hypertonicity and the perineurium. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2009 May;23(4):548–57. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088915910900052X>
 249. Labuz D, Schreiter A, Schmidt Y, Brack A, Machelska H. T lymphocytes

- containing β -endorphin ameliorate mechanical hypersensitivity following nerve injury. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2010 Oct;24(7):1045–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159110000905>
250. Boué J, Blanpied C, Djata-Cabral M, Pelletier L, Vergnolle N, Dietrich G. Immune conditions associated with CD4+ T effector-induced opioid release and analgesia. *Pain* [Internet]. 2012 Feb;153(2):485–93. Available from: <http://journals.lww.com/00006396-201202000-00031>
 251. Plein LM, Rittner HL. Opioids and the immune system – friend or foe. *Br J Pharmacol*. 2018;175(14):2717–25.
 252. Li M-C, Yu J-H, Yu S-S, Chi Y-Y, Xiang Y-B. MicroRNA-873 Inhibits Morphine-Induced Macrophage Apoptosis by Elevating A20 Expression. *Pain Med* [Internet]. 2015 Oct 1;16(10):1993–9. Available from: <https://academic.oup.com/painmedicine/article-lookup/doi/10.1111/pme.12784>
 253. Tomassini N, Renaud F, Roy S, Loh HH. Morphine inhibits Fc-mediated phagocytosis through mu and delta opioid receptors. *J Neuroimmunol* [Internet]. 2004 Feb;147(1–2):131–3. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016557280300451X>
 254. Ninković J, Roy S. Role of the mu-opioid receptor in opioid modulation of immune function. *Amino Acids* [Internet]. 2013 Jul 15;45(1):9–24. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00726-011-1163-0>
 255. Long X, Li Y, Qiu S, Liu J, He L, Peng Y. MiR-582-5p/miR-590-5p targeted CREB1/CREB5–NF- κ B signaling and caused opioid-induced immunosuppression in human monocytes. *Transl Psychiatry* [Internet]. 2016 Mar 15;6(3):e757–e757. Available from: <http://www.nature.com/articles/tp20164>
 256. Roy S, Ninkovic J, Banerjee S, Charboneau RG, Das S, Dutta R, et al. Opioid Drug Abuse and Modulation of Immune Function: Consequences in the Susceptibility to Opportunistic Infections. *J Neuroimmune Pharmacol* [Internet]. 2011 Dec 26;6(4):442–65. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11481-011-9292-5>
 257. Meng J, Yu H, Ma J, Wang J, Banerjee S, Charboneau R, et al. Morphine Induces Bacterial Translocation in Mice by Compromising Intestinal Barrier Function in a TLR-Dependent Manner. *Buch SJ, editor. PLoS One* [Internet]. 2013 Jan 18;8(1):e54040. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0054040>
 258. Shavit Y, Martin FC, Yirmiya R, Ben-Eliyahu S, Terman GW, Weiner H, et al. Effects of a single administration of morphine or footshock stress on natural killer cell cytotoxicity. *Brain Behav Immun* [Internet]. 1987 Dec;1(4):318–28. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0889159187900341>
 259. Weber R, Pert A. The periaqueductal gray matter mediates opiate-induced immunosuppression. *Science (80-)* [Internet]. 1989 Jul 14;245(4914):188–90. Available from: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.2749256>
 260. Yeager MP, Thomas AC. Morphine Inhibits Spontaneous and Cytokine-enhanced Natural Killer Cell Cytotoxicity in Volunteers. *Anesthesiology*. 1995;31(4):305–9.

261. Wang J, Ma J, Charboneau R, Barke R, Roy S. Morphine Inhibits Murine Dendritic Cell IL-23 Production by Modulating Toll-like Receptor 2 and Nod2 Signaling. *J Biol Chem* [Internet]. 2011 Mar 25;286(12):10225–32. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M110.188680>
262. Molina-Martínez LM, González-Espinosa C, Cruz SL. Dissociation of immunosuppressive and nociceptive effects of fentanyl, but not morphine, after repeated administration in mice: Fentanyl-induced sensitization to LPS. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2014 Nov;42(1):60–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.011>
263. Bidlack JM, Khimich M, Parkhill AL, Sumagin S, Sun B, Tipton CM. Opioid Receptors and Signaling on Cells from the Immune System. *J Neuroimmune Pharmacol* [Internet]. 2006 Sep 8;1(3):260–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11481-006-9026-2>
264. Vassou D, Bakogeorgou E, Kampa M, Dimitriou H, Hatzoglou A, Castanas E. Opioids modulate constitutive B-lymphocyte secretion. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2008 May;8(5):634–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576908000064>
265. Zhang E, Xiong J, Parker B, Chen A, Fields P, Ma X, et al. Depletion and recovery of lymphoid subsets following morphine administration. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2011 Dec;164(7):1829–44. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5381.2011.01475.x>
266. Roy S, Balasubramanian S, Sumandeep S, Charboneau R, Wang J, Melnyk D, et al. Morphine directs T cells toward Th2 differentiation. *Surgery* [Internet]. 2001 Aug;130(2):304–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039606001578484>
267. Yin D, Mufson RA, Shi RW. Fas-mediated cell death promoted by opioids. *Nature*. 1999;397(January):1999–1999.
268. Campana G, Sarti D, Spampinato S, Raffaelli W. Long-term intrathecal morphine and bupivacaine upregulate MOR gene expression in lymphocytes. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2010 Sep;10(9):1149–52. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576910002031>
269. Ohmori H, Fujii K, Sasahira T, Luo Y, Isobe M, Tatsumoto N, et al. Methionine-enkephalin secreted by human colorectal cancer cells suppresses T lymphocytes. *Cancer Sci* [Internet]. 2009 Mar;100(3):497–502. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1349-7006.2008.01073.x>
270. Poonawala T, Levay-Young BK, Hebbel RP, Gupta K. Opioids heal ischemic wounds in the rat. *Wound Repair Regen* [Internet]. 2005 Mar;13(2):165–74. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1067-1927.2005.130207.x>
271. Bigliardi-Qi M, Gaveriaux-Ruff C, Zhou H, Hell C, Bady P, Ruffli T, et al. Deletion of δ -opioid receptor in mice alters skin differentiation and delays wound healing. *Differentiation* [Internet]. 2006 Apr;74(4):174–85. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301468109602073>
272. Salemi S, Aeschlimann A, Reisch N, Jüngel A, Gay RE, Heppner FL, et al. Detection of kappa and delta opioid receptors in skin - Outside the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338(2):1012–7.

273. Charbaji N, Rosenthal P, Schäfer-Korting M, Küchler S. Cytoprotective effects of opioids on irradiated oral epithelial cells. *Wound Repair Regen*. 2013;21(6):883–9.
274. Bigliardi PL, Dancik Y, Neumann C, Bigliardi-qi M. Opioids and skin homeostasis , regeneration and ageing – What ’ s the evidence ? 2016;586–91.
275. Cabot P. Immune-Derived Opioids And Peripheral Antinociception. *Clin Exp Pharmacol Physiol* [Internet]. 2001 Mar 5;28(3):230–2. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1440-1681.2001.03425.x>
276. Sharp BM, Roy S, Bidlack JM. Evidence for opioid receptors on cells involved in host defense and the immune system. *J Neuroimmunol* [Internet]. 1998 Mar;83(1–2):45–56. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165572897002208>
277. Ji R, Zhang Q, Law P, Low H, Elde R, Hokfelt T. Expression of mu, delta, and kappa opioid receptor-like immunoreactivities in rat dorsal root ganglia after carrageenan-induced inflammation. *J Neurosci* [Internet]. 1995 Dec 1;15(12):8156–66. Available from: <http://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.15-12-08156.1995>
278. Takeba Y, Suzuki N, Kaneko A, Asai T, Sakane T. Endorphin and enkephalin ameliorate excessive synovial cell functions in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* [Internet]. 2001 Oct;28(10):2176–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11669152>
279. Saeed RW, Stefano GB, Murga JD, Short TW, Qi F, Bilfinger T V., et al. Expression of functional delta opioid receptors in vascular smooth muscle. *Int J Mol Med*. 2000;6(6):673–7.
280. Holzer P. Opioid receptors in the gastrointestinal tract. *Regul Pept*. 2011;155(3):11–7.
281. Imbeloni LE. Artigo de Revisão Naloxona : Estado Atual. *Rev Bras Anesthesiol*. 1989;39(SKF 10047):133–41.
282. Soiza RL, Donaldson AIC, Myint PK. Vaccine against arteriosclerosis: an update. *Ther Adv Vaccines*. 2018;9(6):259–61.
283. Shaw LV, Moe J, Purssell R, Buxton JA, Godwin J, Doyle-Waters MM, et al. Vaccine against arteriosclerosis: an update. *Syst Rev*. 2019;8(1):1–9.
284. Tobin SJ, Wakefield DL, Terenius L, Vukojević V, Jovanović-Talisman T. Ethanol and Naltrexone Have Distinct Effects on the Lateral Nano-organization of Mu and Kappa Opioid Receptors in the Plasma Membrane. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10(1):667–76.
285. Brasil M da CT e I do. Diretriz Brasileira para o Cuidado e Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica DBCA. Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação do Brasil2 Brasil: Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação do Brasil; 2016.
286. Daniel WW. Biostatics: a foundation for analysis in health sciences. 10th ed. Wiley, editor. New York: John Wiley & Sons; 2008. 960 p.
287. Barbosa DF, Lima CF de. Efeitos do exercício físico em comportamentos relacionados com a ansiedade em ratos. *Rev Bras Med do Esporte*. 2016;22(2):122–5.

288. Aiello R, Crupi R, Leo A, Chimirri S, Rispoli V, Marra R, et al. Long-term betamethasone 21-phosphate disodium treatment has distinct effects in CD1 and DBA/2 mice on animal behavior accompanied by opposite effects on neurogenesis. *Behav Brain Res* [Internet]. 2015 Feb;278:155–66. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432814006408>
289. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J*. 2008;22(3):659–61.
290. Trust LR. Low-dose Naltrexone (LDN) Fact Sheet 2016. Res LDN. 2016;2(b):1–8.
291. Dutta S, Sengupta P. Men and mice: Relating their ages. *Life Sci* [Internet]. 2016 May;152:244–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320515300527>
292. Tawfik DI, Osman AS, Tolba HM, Khattab A, Abdel-Salam LO, Kamel MM. Evaluation of therapeutic effect of low dose naltrexone in experimentally-induced Crohn's disease in rats. *Neuropeptides* [Internet]. 2016;59:39–45. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143417916300348>
293. Gomes NM, Rezende CM, Fontes SP, Matheus ME, Fernandes PD. Antinociceptive activity of Amazonian Copaiba oils. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2007 Feb;109(3):486–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874106004168>
294. Lee YS, Lee M-H, Kim H-J, Won H-R, Kim C-H. Non-thermal atmospheric plasma ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice through inhibition of immune responses and up-regulation of PD-L1 expression. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 14;7(1):15564. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-15725-7>
295. Yuan B, Wang X, Wang Z, Wei J, Qing C, Lu S. Comparison of fibrogenesis caused by dermal and adipose tissue injury in an experimental model. *Wound Repair Regen*. 2010;18(2):202–10.
296. Cardiff RD, Miller CH, Munn RJ. Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. *Cold Spring Harb Protoc*. 2014;6:665–8.
297. Fraki J, Briggaman R, Lazarus G. Transplantation of psoriatic skin onto nude mice. *J Invest Dermat*. 1983;80:31s-35s.
298. Fernández I, Peña A, Del Teso N, Pérez V, Rodríguez-Cuesta J. Clinical biochemistry parameters in C57BL/6J mice after blood collection from the submandibular vein and retroorbital plexus. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2010;49(2):202–6.
299. Han BG, Hao C-M, Tchekneva EE, Wang Y-Y, Lee CA, Ebrahim B, et al. Markers of glycemic control in the mouse: comparisons of 6-h- and overnight-fasted blood glucoses to Hb A1c. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295(4):E981-6.
300. Rowley PT. Williams Hematology. In: American journal of human genetics. 1995. p. 514.
301. Dyer SM, Cervasio EL. An Overview of Restraint and Blood Collection Techniques in Exotic Pet Practice. Vol. 11, *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*. 2008. p. 423–43.

302. Failace R. Hemograma: Manual de Interpretação. 5th ed. Porto Alegre: Artmed; 2009. 425 p.
303. Ministério da Ciência T e I do B. Diretrizes da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle na Experimentação Animal. 2013 p. 2–8.
304. De Mello FB, Langeloh A, De Mello JRB. Toxicidade pré-clínica de fitoterápico contendo *Passiflora alata*, *Erythrina mulungu*, *Leptolobium elegans* e *Adonis vernalis*. *Lat Am J Pharm*. 2007;26(2):191–200.
305. Fernandes F de S. Estudo pré-clínico de toxicidade do extrato acetato de etila do fruto de *Dillenia indica* padronizado em ácido betulínico e administrado topicamente em camundongos [dissertação]. Universidade do Sul de Santa Catarina; 2017.
306. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *J Vis Exp* [Internet]. 2015 Feb 6 [cited 2019 Mar 6];(96):1–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25742564>
307. Labtest B, Wilke F, Basques A, Santa L. Guia técnico - bioquímica Labtest. Lagoa Santana; 2016. 145 p.
308. David IMB, de Souza Fernandes F, dos Santos Silva Ferreira JB, Lüdtke DD, Martins DF, Bobinski F, et al. Dietary supplementation with procyanidin-rich *Pinus pinaster* extract is associated with attenuated Ehrlich tumor development in mice. *Nutr Res*. 2019;62:41–50.
309. Bobinski F, Martins DF, Bratti T, Mazzardo-Martins L, Winkelmann-Duarte EC, Guglielmo LGA, et al. Neuroprotective and neuroregenerative effects of low-intensity aerobic exercise on sciatic nerve crush injury in mice. *Neuroscience*. 2011;194:337–48.
310. Hammond JB, Kruger NJ. The bradford method for protein quantitation. *Methods Mol Biol*. 1988;3:25–32.

ANEXO A - Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais



Pró Reitoria de Ensino, Pesquisa, Pós-Graduação, Extensão e Inovação
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 1 de abril de 2019
Registro na CEUA (código): 19.009.4.01.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Maicon Roberto Kviecinski

Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Naltrexona em baixas doses no tratamento de lesões psoriasiformes: Relação mecanística com receptores toll-like e opioides localizados na pele de camundongos", registrada com o 19.009.4.01.IV, sob a responsabilidade de Maicon Roberto Kviecinski - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 9 de abril de 2019.

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,



Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão