

**RUBENS BONFIGLIOLI**

**FREQUÊNCIA DOS ALELOS DO HLA-B27 EM PACIENTES  
BRASILEIROS COM ARTRITE PSORIÁSICA**

**Campinas**

**2009**

**RUBENS BONFIGLIOLI**

**FREQUÊNCIA DOS ALELOS DO HLA-B27 EM PACIENTES  
BRASILEIROS COM ARTRITE PSORIÁSICA**

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título  
de doutor. Área de Concentração: Clínica Médica

**ORIENTADOR :** Prof. Dr. Manoel Barros Bértolo

Campinas

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP  
Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

B641f Bonfiglioli, Rubens  
Frequência dos alelos do HLA-B27 em pacientes brasileiros com  
artrite psoriásica / Rubens Bonfiglioli. Campinas, SP : [s.n.], 2009.

Orientador : Manoel Barros Bértolo  
Tese ( Doutorado ) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade  
de Ciências Médicas.

1. Antígeno HLA-B27. 2. Antígenos de histocompatibilidade.  
3. Artrite psoriásica. I. Bértolo, Manoel Barros. II. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

**Título em inglês : Frequency of HLA-B27 alleles in Brazilian patients with psoriatic arthritis**

**Keywords:** • HLA-B27 antigen  
• Histocompatibility antigen  
• Psoriatic arthritis

*Titulação: Doutor em Clínica Médica*

**Área de concentração: Clínica Médica**

*Banca examinadora:*

**Prof. Dr. Manoel Barros Bértolo**

**Prof. Dr. Adil Muhib Samara**

**Profa. Dra. Lilian Tereza Lavras Costallat**

**Prof. Dr. José Roberto Provenza**

**Prof. Dr. Célio Roberto Gonçalves**

*Data da defesa: 15-09-2009*

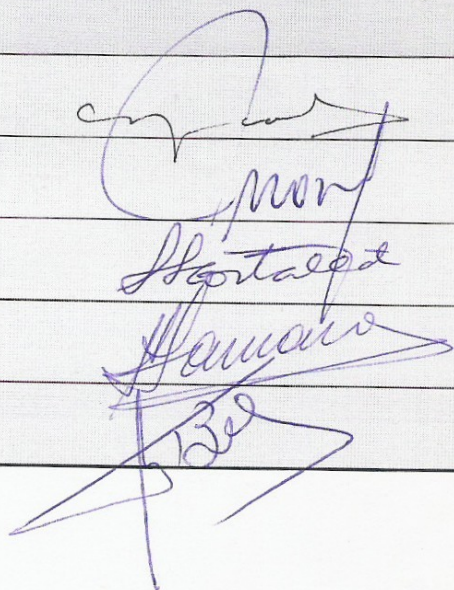
## Banca examinadora da tese de Doutorado

Rubens Bonfiglioli

Orientador: Prof. Dr. Manoel Barros Bertolo

### Membros:

1. Prof. Dr. Célio Roberto Gonçalves
2. Prof. Dr. José Roberto Provenza
3. Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lílian Tereza Lavras Costallat
4. Prof. Dr. Adil Muhib Samara
5. Prof. Dr. Manoel Barros Bertolo



Handwritten signatures in blue ink, corresponding to the members of the exam board listed on the left. The signatures are written over the lines of the list.

Curso de pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 15/09/2009

## **Agradecimentos**

A meu pai...

Que mesmo na ausência me deixou na memória a confiança que sempre teve em mim.

A minha mãe

Pela grande dedicação para que seus filhos pudessem aprender.

Ao meus filhos

Pela grande ajuda neste trabalho, corrigindo, ilustrando, por apoiarem e por existirem...

Ao meu grande amigo Manoel Barros Bertolo

Pela paciência, apoio e incentivo, sendo grande responsável por este trabalho.

Ao colega Percival

Pela grande colaboração na coleta dos dados.

A Rose

Pela enorme colaboração na coleta dos dados laboratoriais

**Para Telma**

**A mulher que me faz, cada dia, um homem melhor**

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| RESUMO .....   | XI |
| ABSTRACT .....   | XI |
| INTRODUÇÃO E HISTÓRICO .....                             | 13 |
| Epidemiologia da Psoríase e Atrapatia Psoriásica .....   | 14 |
| Psoríase .....   | 15 |
| Epidemiologia e Manifestações Clínicas .....             | 18 |
| Artrite Psoriásica .....                                 | 26 |
| - Etiologia .....  | 26 |
| - O HLA-B27 e a Artrite Psoriásica .....                 | 28 |
| - Subtipos do HLA-B27 e Artrite Psoriásica .....         | 31 |
| - Quadro Clínico .....                                   | 32 |
| Critérios para o Diagnóstico da Artrite Psoriásica ..... | 40 |
| OBJETIVO.....  | 47 |
| MATERIAL E MÉTODOS .....                                 | 47 |
| METODOLOGIA .....  | 47 |
| - Extração do DNA .....                                  | 48 |
| - Genotipagem .....                                      | 49 |
| Análise Estatística .....                                | 51 |
| RESULTADOS .....   | 51 |
| DISCUSSÃO.....   | 57 |
| CONCLUSÃO .....  | 60 |
| REFERÊNCIAS.....   | 61 |

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|  | <i>PÁG.</i> |
|--|-------------|
| <b>Fig. 1</b> Esquema com eventos imunopatogênicos na Psoríase                         | 17          |
| <b>Fig. 2</b> Lesões em placas na Psoríase   | 19          |
| <b>Fig. 3</b> Forma Gutata   | 20          |
| <b>Fig. 4</b> Forma Eritrodermica  | 21          |
| <b>Fig. 5</b> Forma Pustulosa  | 22          |
| <b>Fig. 6</b> Lesões Ungueais  | 23          |
| <b>Fog. 7</b> Forma Palmo-Plantar  | 24          |
| <b>Fig. 8</b> Forma Invertida  | 25          |
| <b>Fig. 9</b> Esquema mostrando relação HLA-B27 e o peptídeo antigênico                | 29          |
| <b>Fig. 10</b> Artrite predominante nas Interfalangeanas distais                       | 33          |
| <b>Fig. 11</b> Artrite Mutilante   | 34          |
| <b>Fig. 12</b> Poliartrite Simétrica   | 35          |
| <b>Fig. 13</b> Oligoartrite Assimétrica  | 36          |
| <b>Fig. 14</b> Envolvimento Axial  | 37          |
| <b>Tabela 1</b> Critérios de Bennet  | 42          |
| <b>Tabela 2</b> Critérios de Vasey e Espinoza  | 43          |
| <b>Tabela 3</b> Critérios do Grupo Europeu   | 44          |
| <b>Tabela 4</b> Critérios de Mc Gonagle  | 44          |
| <b>Tabela 5</b> Critérios de Fornié  | 45          |
| <b>Tabela 6</b> Critérios do grupo CASPAR  | 47          |
| <b>Tabela 7</b> Distribuição dos grupos e prevalência quanto ao sexo                   | 52          |
| <b>Tabela 8</b> Relação entre sexo e raça em pacientes co AP B27 positivos e negativos | 53          |
| <b>Tabela 9</b> Porcentagem encontrados alelos HLA-B27                                 | 53          |
| <b>Tab. 10</b> Prevalência dos alelos no grupo controle                                | 53          |
| <b>Tab. 11</b> Doenças Associadas  | 54          |
| <b>Gráfic. 1</b> Avaliação sobre prevalência dos subtipos do HLA-B27                   | 54          |



|                   |  |    |
|-------------------|--|----|
| <b>Gráfico. 2</b> | Avaliação agrupada dos subtipos do HLA-B27   | 55 |
| <b>Tab. 12</b>    | Relação entre formas clínicas e presença/ausência do B27   | 56 |
| <b>Tab. 13</b>    | Distribuição quanto a idade/tempo de doença dos pacientes com AP correlacionadas com a presença ou ausência do HLA-B27 | 56 |

## ABREVIATURAS

|                  |  |
|------------------|--|
| <b>AP</b>        | Artrite Psoriásica   |
| <b>CD4</b>       | “cluster of differentiation” células T auxiliares ou “helper”                            |
| <b>CD8</b>       | Células T citotóxica   |
| <b>CASPAR</b>    | CLASSification of Psoriatic ARthritis  |
| <b>DAS</b>       | Disease Activity Scale (Escala de atividade de doença)                                   |
| <b>E A</b>       | Espondilite Anquilosante   |
| <b>GM-CSF</b>    | 1. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor (Fator de crescimento de macrófagos) |
| <b>HAQ</b>       | Health Assessment Questionnaire (Questionário de qualidade de vida)                      |
| <b>HLA</b>       | Human Leukocyte Antigen (Antígeno Leucocitário Humano)                                   |
| <b>HLA-B27</b>   | Antígeno Leucocitário Humano B27   |
| <b>HSP70</b>     | 70 kilodalton heat shock proteins (proteínas de choque térmico)                          |
| <b>IBGE</b>      | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  |
| <b>ICAM</b>      | Inter-Cellular Adhesion Molecule (Moléculas de adesão intercelular)                      |
| <b>IL-1,IL-6</b> | Interleucinas 1, 6, 8...   |
| <b>IFD</b>       | Interfalangeanas distais   |
| <b>IFN gama</b>  | Interferon gama  |
| <b>IFP</b>       | Interfalangeanas proximais   |
| <b>MHC</b>       | Major Histocompatibility complex (Complexo Maior de Histocompatibilidade)                |
| <b>PCR</b>       | Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia da Polimerase)                               |
| <b>TNF alfa</b>  | 1. Tumoral Necrosis Factor (Fator de Necrose Tumoral alfa)                               |

## **RESUMO**

Este estudo prospectivo analisou a epidemiologia, clínica e perfil genético de 102 pacientes brasileiros com Artrite Psoriásica. A associação do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) de classe I, e os alelos do HLA-B27 com aquelas variáveis foram avaliados e comparados com sadios controles, HLA-B27 positivos, compondo um grupo de 111 indivíduos. A predominância foi do sexo masculino (59,8%), raça caucasóide (89,2%) e HLA-B27 negativos (79,4%). Oligoartrite assimétrica (62,7%) foi o subgrupo de Artrite Psoriásica mais observado, seguido pela forma espondilítica (16,7%) e poliarticular (15,7%). O sexo masculino e o subgrupo dos espondilíticos foram estatisticamente mais associados ao HLA-B27, e o subgrupo oligoarticular ao HLA-B27 negativo. Entre os 21 pacientes com Artrite Psoriásica e HLA-B27 positivos existiu uma significativa prevalência

do HLA-B\*2705 (90,5%), similar ao observado no grupo controle (80,2%); HLA-B\*2703 e HLA-B\*2707 foram estatisticamente associados ao grupo controle.

**PALAVRAS CHAVE** – Antígeno de Histocompatibilidade Humano HLA-B27, Alelos do B\*27, Artrite Psoriásica.

## **ABSTRACT**

This prospective study analyzed the epidemiologic, clinical and genetic profile of 102 Brazilian patients with psoriatic arthritis (PsA). The association of the major histocompatibility complex (MHC) class I and the HLA-B27 alleles with these variants was outlined, and compared to a control healthy HLA-B27 positive group of 111 individuals. There was a predominance of male gender (59.8%), Caucasian race (89.2%) and negative HLA-B27 (79.4%) patients. Asymmetric oligoarthritis (62.7%) was the most frequently observed clinical PsA subgroup, followed by spondylitis (16.7%) and polyarthritis (15.7%). Male gender and the spondylitis subgroup were statistically associated to the positive HLA-B27 and the oligoarthritis subgroup was associated to the negative HLA-B27. Among the 21 HLA-B27 positive PsA patients, there was a significant prevalence of the HLA-B\*2705

allele (90.5 %), similar to that observed in the control group (80.2%); HLA-B\*2703 and HLA-B\*2707 were statistically associated to the control group. Other antigens such as HLA-B07 (14 patients), HLA-B08 (14 patients) and HLA-B44 (13 patients) among others, were found in HLA-B27-negative patients.

**KEYWORDS:** B27- Human Histocompatibility Antigen, B\*27 alleles, Psoriatic Arth

## INTRODUÇÃO E HISTÓRICO

O acometimento do sistema músculo-esquelético em portadores de psoríase é variado, e atinge não só a membrana sinovial, como também enteses e periósteo. O termo “Artrite Psoriásica” é definido como uma artropatia inflamatória que acompanha uma parcela de portadores da doença proliferativa da pele, também com características inflamatórias e, freqüentemente, com fator reumatóide negativo. (1) Tal situação é resultado de fenômenos irregulares da resposta imune com caráter crônico.(2, 3, 4)

O pesquisador francês Alibert foi o primeiro a descrever a associação entre psoríase e inflamação articular em 1818, e Bazin (1860) introduziu o termo “Psoriasis Arthritique” (5). Bourdillon em 1888 apresentou a mais cuidadosa e detalhada descrição desta enfermidade. (1) A partir de 1950, a Artrite Psoriásica tem sido mais intensamente estudada. Wrigth (1959) observou que alguns pacientes com a doença cutânea apresentavam um certo tipo de artrite erosiva, com freqüência baixa para o fator reumatóide, que atingia as articulações interfalangeanas distais e sacroilíacas de forma assimétrica. (6)

A partir de 1964, a antiga Associação Americana de Reumatologia (ARA) passa a reconhecer a Artrite Psoriásica como uma enfermidade. (7) O conceito não é universalmente aceito, pois são poucos os achados patognomônicos e alguns pacientes podem ser diagnosticados com Artrite Reumatóide ou alguma outra espondiloartropatias, a depender do momento e do examinador que os veja. As formas heterogêneas de apresentação dos

envolvimentos osteoarticulares, algumas vezes sem lesão cutânea, fazem desta enfermidade ainda um desafio. (8)

## **EPIDEMIOLOGIA DA PSORÍASE E ARTROPATIA PSORIÁSICA**

Estimativas recentes apontam a prevalência da AP em torno de 0,04 a 0,1% da população. (9, 10,11) , A prevalência americana é de 0,67%. (79) Nos pacientes com psoríase a incidência da artrite psoriásica varia entre 6 a 39%. (86) A psoríase é uma doença cutânea mais comum entre os caucasóides (2 a 3% de prevalência), sendo a Noruega e Rússia os países com o maior número de casos (5 a 10%). É rara em pessoas de outra etnia, como negros e índios (0 a 0,3%). (12)

Em 1938, Danson e Tyson, observando pacientes com poliartropatia inflamatória, notaram psoríase em 2,6%, indicando uma prevalência maior da doença naquela condição que na população sem artropatia. (13) Von Romunde, em 1984, observou 5% de psoríase em pacientes com artrite inflamatória contra 2,2% da mesma patologia na população sem acometimento articular. (9) Quando se estuda o Fator Reumatóide em associação com psoríase e artropatia inflamatória constata-se que a grande maioria é soro negativo. (9, 10,11) Outro estudo aponta 30 a 35% de psoríase em pacientes com artropatia inflamatória e fator reumatóide negativo. (14) Estas altas estimativas podem refletir um maior cuidado na observação clínica, tanto axial quanto das articulações periféricas. Parece não haver dúvidas que artrite persistente e psoríase coexistem mais freqüentemente do que se poderia

esperar. Em outro trabalho, que avaliou 1285 pacientes portadores de psoríase, foram observados 483 indivíduos (38%) que sofriam de artrite ou entesite, incluindo 40 classificados como portadores de Artrite reumatóide (3%). 177 (14%) apresentavam uma artrite indiferenciada e 266 (21%) possuíam Artrite Psoriásica bem definida.<sup>(15)</sup>

Ao contrario da artrite reumatóide, na qual o sexo feminino predomina, a distribuição é de 1:1 entre homens e mulheres na AP. <sup>(16, 17,18)</sup> Dos pacientes, 67 a 80% desenvolvem lesão cutânea antes da artrite, e as duas condições podem ocorrer em um intervalo de até 12 meses em 16% dos casos.<sup>(17,19)</sup> Intrigante é o resultado de estudos onde pacientes com idade inferior a 40 anos com psoríase, e que a lesão de pele precedeu o início da artrite em até nove anos. Já em pacientes com mais de 40 anos, diagnosticados com psoríase e artropatia, o envolvimento cutâneo precedeu em, no máximo, um ano.<sup>(20,21)</sup>

## **PSORÍASE**

A Psoríase hoje é vista como uma alteração inflamatória, autorreativa, baseada em uma contínua resposta da célula T auxiliar (*helper*) na pele.<sup>(02, 04, 22,23,86)</sup> O conceito de uma doença imunologicamente mediada é o mais aceito.

A pele contém todos os elementos necessários para uma resposta imune competente, células apresentadoras de antígenos (CD1+, células de Langerhans), células macrofágicas perivasculares, células dendríticas, além dos queratinócitos que podem secretar diversas citocinas pró-inflamatórias com ou sem propriedades imunorreguladoras (interleucinas 1, 3,

6, 8 e o fator de necrose tumoral alfa). Para completar a derme possui o fator de crescimento de macrófagos (GM-CSF).(24, 25,26)

As modificações iniciais da psoríase consistem na dilatação e tortuosidade dos vasos da derme, com edema e separação das células endoteliais. Acompanha um infiltrado linfocitário, monócitos-macrófagos e neutrófilos. Estas são algumas modificações que apresentam similaridade com o envolvimento articular. O desenvolvimento das lesões cutâneas é caracterizado por hiperplasia da epiderme, papilomatose, espessamento da epiderme suprapapilar, hiperqueratose e paraqueratose. Na região suprapapilar existe a invasão leucocitária abaixo da epiderme, formando micro abscessos que contém neutrófilos. (27)

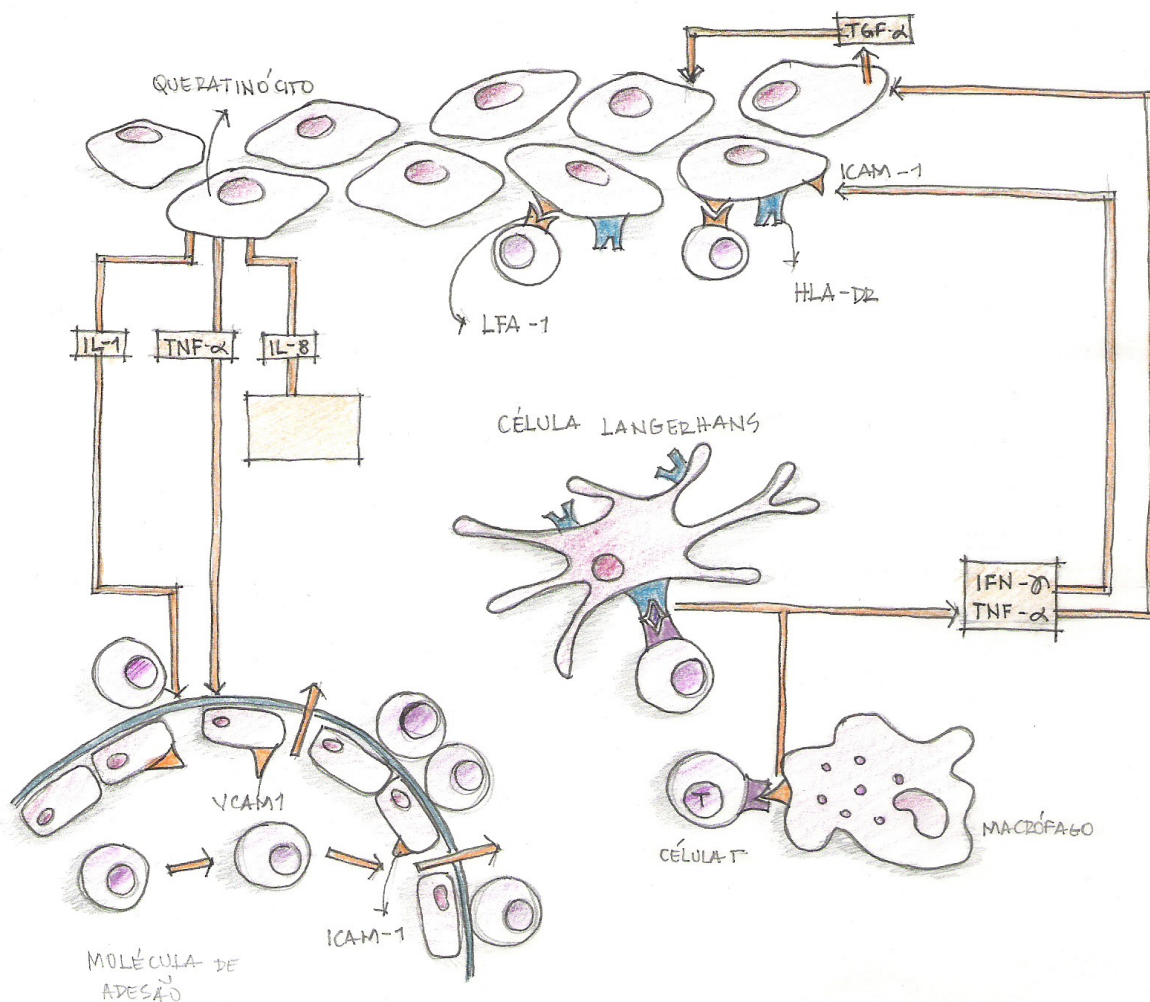
A resposta auto-imune na psoríase é explicada por três teorias: 1- A auto-reatividade poderia ser induzida pela presença de células T auxiliares auto-reativas. 2- Ausência do linfócito T supressor auto-regulador. 3- Maior reatividade contra antígenos estranhos (bactérias?).

O infiltrado na derme das lesões psoriásicas contém linfócito T e macrófagos. As células CD4+ são predominantes e, em porcentagem menor, CD8+.

A estimulação da célula T, que se segue à apresentação do antígeno (bactéria?) pelo macrófago e células de Langehans, resulta na formação de citocinas como TNF alfa e IFN gama, que induzem os queratinócitos a produzirem TGF alfa (fator de crescimento) conseqüentemente proliferando estas células. O interferon gama (IFN) provoca nos queratinócitos a expressão de HLA DR e de moléculas de adesão. Estas, por sua vez, induziriam uma maior produção de citocinas. Além disto, os queratinócitos também



produzem IL-1, IL-6, IL-8 e TNF alfa, os quais atuam nas células endoteliais na produção de mais moléculas de adesão (VCAM, ICAM). Em última análise, isso recrutaria na derme as células T de memória, perpetuando a reação inflamatória.(27) Fig.1



**Fig. 1 – Esquema mostrando os eventos imunopatogênicos da Psoríase. Legenda no texto.**

## **EPIDEMIOLOGIA**

Psoríase ocorre entre 2 a 3% da população mundial: surge em 60.4 por 100.000 pessoas/ano.(83,86) Pode afetar igualmente homens e mulheres, e freqüentemente tem início por volta da 3ª década de vida.

## **MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS**

Trata-se de patologia crônica com períodos de exacerbação e remissão. Apresenta uma forte influência emocional nos períodos agudos. As lesões cutâneas incluem placas eritematosas bem demarcadas, espessamento da pele e descamação fina. Há uma clara tendência em surgir em locais de traumas, conhecido como “fenômeno de Koebner”. O prurido é variável. Áreas como os cotovelos, joelhos, couro cabeludo, região lombar baixa, região interglútea e genitália são locais de mais freqüente incidência. As unhas podem ser envolvidas com pontos de depressão característicos e onicólise.

As formas de apresentação são:

**Placas** – é a forma mais comum de apresentação, também conhecida como Psoríase Vulgar. São placas eritemato-pápulo-descamativas, delimitadas, oligo ou assintomáticas, bilaterais e simétricas. Predileção por couro cabeludo e face extensora dos membros.



**Fig 2. – Lesões em placas ou psoríase vulgar**

**Gutata** – lesões de no máximo 2 cm, em placas eritematosas. Em alguns casos está associada a infecções pelo streptococcus do Grupo A. Geralmente ocorre em pacientes jovens. São eruptivas e muito numerosas, envolve tronco e parte proximal dos membros poupando mãos e pés.



**Fig. 3 – Forma Gutata (foto de arquivo pessoal)**

**Eritrodermica** – Eritema difuso, sem a clássica descamação fina. Pode apresentar algumas manifestações sistêmicas como diminuição nas proteínas plasmáticas, perda de temperatura e diminuição da água por via transepidermal. Acomete até 75 % da área corpórea.



**Fig. 4 – Forma eritrodermica**



**Pustulosa** – como o próprio nome diz, são formações com conteúdo líquido que se formam em palma de mãos e planta dos pés. Podem coalescer, quando numerosas, formando “lagos de pus”. Envolve principalmente paciente de meia-idade e idosos.



**Fig. 5 – Forma pustulosa**

**Ungueal** – envolve de 10 a 80% dos pacientes e pode estar associada a outras formas. Acomete preferencialmente as mãos e apresenta: 1- depressões cupuliformes. 2- estrias transversais ou longitudinais. 3 – hematomas filiformes subungueais.



**Fig 6 – Lesões ungueais**

**Palmo-plantar** – Acomete 12 % dos pacientes e é diagnóstico diferencial dos eczemas.



**Fig. 7 – Forma palmo-plantar ( aqui representada só o acometimento plantar)**



**Invertida** – Surge principalmente nas dobras e leva a maceração da pele. Envolve entre 2 a 6 % dos pacientes



**Fig. 8 – Forma invertida (regiões flexoras)**

## **ARTITE PSORIÁSICA**

### **ETIOLOGIA -**

A etiologia da Artrite Psoriásica não está clara, mas sabe-se que fatores genéticos, imunológicos, ambientais, estresse, trauma e infecções podem estar envolvidos no desenvolvimento da doença. Brewerton (1990) parte do princípio que os mecanismos básicos da AP são similares aos da Espondilite Anquilosante e Artrite Reumatóide. Na verdade, são descritos dez mecanismos relacionados ao MHC, entre eles o HLAB13, B37, B38, B39, B17, DR7, e a forte associação com o Cw6. Porém, chamam a atenção aqueles que envolvem o antígeno leucocitário humano (HLA), do complexo maior de histocompatibilidade (MHC).(28,29,80).

O sistema HLA divide-se em moléculas de antígenos de classe I (HLA-A,B, C), classe II (HLA-DR, DP) e de classe III. Esta última classe determina, entre outros, o fator de necrose tumoral (TNF) e proteínas de choque térmico.(HSP70)

Os antígenos de classe I são expressos sobre a superfície de quase todas as células, enquanto os antígenos de classe II são encontrados predominantemente sobre a superfície de linfócitos B, macrófagos e, após indução por interferon gama, sobre outros tipos de células, incluindo linfócitos T e células endoteliais.

Neste conjunto de moléculas, os antígenos de classe I do MHC vêm sendo envolvidos na patogênese da artrite psoriásica, mais especificamente o HLA-B27. (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36,37)

O HLA-B27 representa uma família de 31 proteínas (B2701 a B2731) (82). Os subtipos B27 diferem entre si de 1 a 7 mudanças na posição de aminoácidos localizados na bolsa C/F. Cada subtipo conhecido do HLA-B27 difere por aminoácidos únicos, que estão envolvidos como receptores para peptídeos antigênicos específicos.( Fig.9)

O B2705 é o subtipo mais prevalente, e está presente na maioria das populações do mundo. Dos subtipos identificados, e que estão mais associados com as Espondiloartropatias, especificamente a Espondilite anquilosante, temos: B2701, 02, 03, 04, 05, 07,10.(38,39)

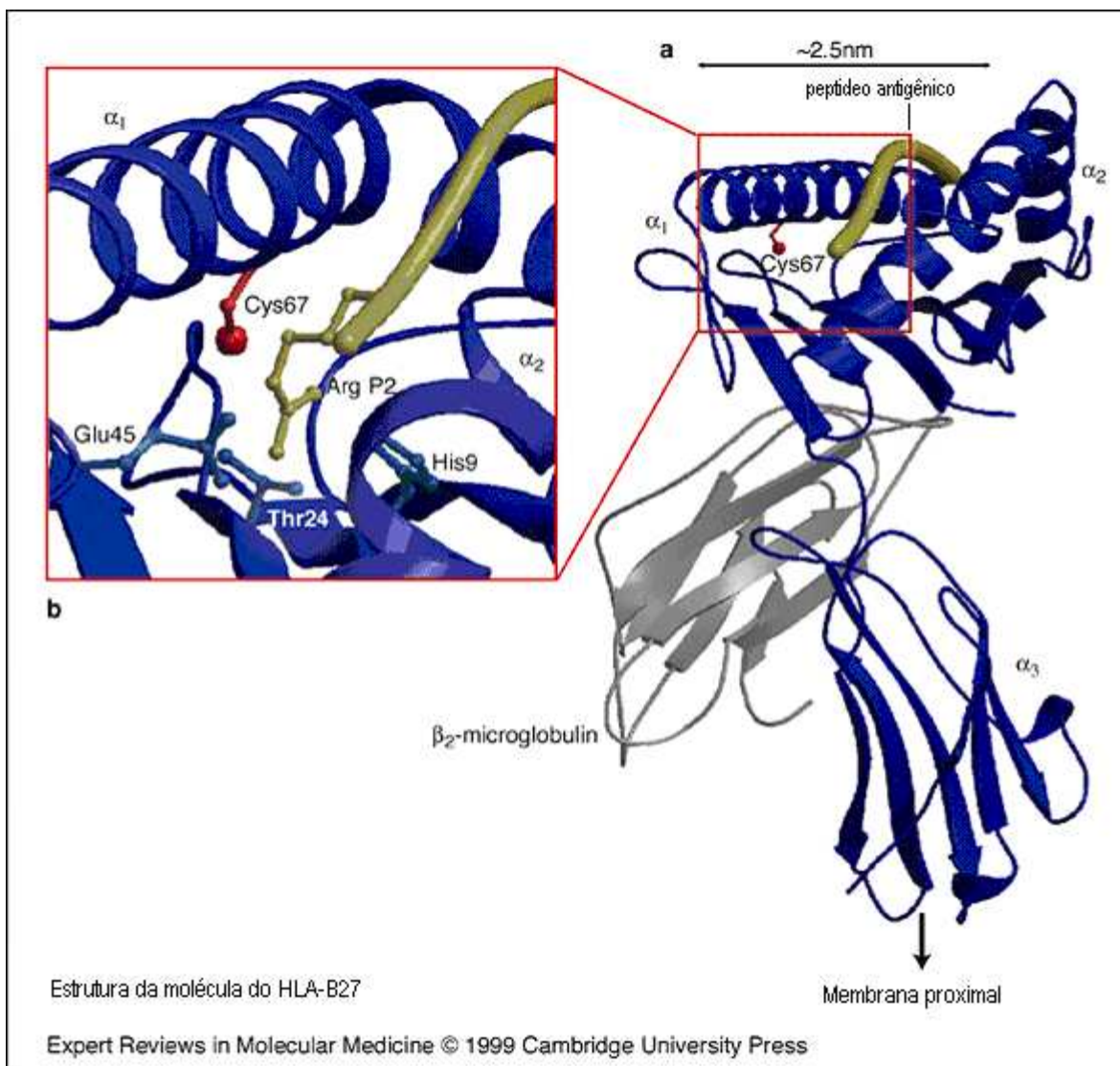
Estudos familiares em gêmeos sugerem que outros fatores genéticos determinam o aparecimento da doença (AP). Além de estímulos ambientais, alguns trabalhos observam uma incidência que pode chegar de 65% a 72% em monozigóticos comparados entre 15% a 30% em heterozigóticos.(40,41) Presume-se que o HLA-B27, por si só, não seja suficiente para determinar a severidade e o padrão de expressão genotípica da doença, porém está muito relacionado com as formas espondilíticas, e com envolvimento das sacroilíacas.

A forte associação com moléculas do MHC classe I sugere que a auto-reatividade das células T CD8 seria o fator inicial para a inflamação articular, pois estas células são observadas em áreas de entese de pacientes com espondiloartropatia e também predominam no líquido sinovial de pacientes com artrite psoriásica.(42, 43,44)

## **O HLA-B27 E A ARTRITE PSORIÁSICA**

A molécula HLA-B27 é uma glicoproteína de membrana e, como todos os outros antígenos de classe I, possuem uma cadeia Alfa e outra Beta.

A especificidade da molécula é atribuída aos domínios Alfa 1 e Alfa 2. Existem poucas posições dentro da cadeia pesada de classe I, onde se encontram resíduos de alta variabilidade nas seqüências de seus aminoácidos. Na molécula do B27 parece que o padrão de substituição nas posições dos resíduos 9, 45, 67, 70, 71 e 97 distingue a família do B27 a partir de outras moléculas de classe I, podendo ser de grande importância para as doenças.<sup>(45, 46, 47, 48, 49,50)</sup> (Fig.9)



Alguns trabalhos defendem a tese que antígenos HLA podem identificar pacientes com um particular padrão de Artrite Psoriásica. (29,51) Outros discutem o envolvimento das moléculas do HLA com a progressão da doença, defendendo assim que a presença ou

ausência de certas estruturas moleculares do B27 sirvam como fatores de prognóstico na evolução da patologia. (33, 34,35)

Estudos que correlacionam artrite psoriásica (AP) e HLA têm mostrado um envolvimento muito amplo de antígenos de classe I (A1, A9, B5, B16, B17, B22, B27, B38, CW1, CW6) e de classe II (DR2, DR4, DR7, DQW3). Entre estes o CW6 tem sido bastante associado com a doença. (52)

Krammer, 1979, utilizando 100 pacientes com AP, demonstrou grande relação de HLA-B27 nos indivíduos examinados. (37) Outros autores comprovam a significância do B27 na progressão da AP, correlacionando com os subtipos desta molécula. (36)

O trabalho de Gladman e col., que acompanhou 276 pacientes com AP por 14 anos, identificou que os antígenos HLA-B27 na presença do DR7, e os HLA DQW3 na ausência do DR7 são fatores prognósticos para a progressão da doença. (34) Outro estudo, utilizando um número maior de pacientes (292) e um tempo maior de acompanhamento (19 anos), confirmou a susceptibilidade do HLA-B27 na progressão da enfermidade. (35) Tais achados implicariam em uma maior agressividade na terapia em portadores de B27 e DR7.

## SUBTIPOS DO HLA-B27 E ARTRITE PSORIÁSICA

Até agora trinta e um subtipos diferentes do HLA-B27 já foram descritos: HLA-B\*2701 a B\*2731.<sup>(53)</sup> Sabe-se que alguns estão associados às Espondiloartropatias, <sup>(54)</sup> como os subtipos HLA-B\*2702, 04, 05, 06, observados na Espondilite Anquilosante, porém também encontrado na população normal B27 positiva.<sup>(55)</sup>

O subtipo HLA-B\*2705 é encontrado em quase todas as populações, embora a sua prevalência varie de região. É o mais encontrado na Europa, Norte da Índia, Polinésia e África Ocidental. Nos caucasóides europeus é possível encontrá-lo em até 96% dos HLA-B27 positivos. A sua distribuição diminui de Norte para Sul, talvez pela migração pelos povos do Norte da Europa e Ásia para o Sul. <sup>(84)</sup> O subtipo HLA-B2701 é raro, e observado em caucasóides, asiáticos, mestiços e afro-americanos. O B\*2702 predomina no Oriente Médio (judeus), caucasóides do norte da África e mestiços da América Central e Sul e encontrado nos ciganos espanhóis e, ao contrário do HLA-B\*2705, diminui de Leste para Oeste e de Sul para Norte.

O subtipo B\*2704 esta fortemente associado à Espondilite Anquilosante, é encontrado com muita frequência na população oriental e da Polinésia, com frequência elevada entre os chineses, japoneses, tailandeses e malaios.<sup>(85)</sup>

Lariz-Larrea et al. identificaram uma grande prevalência em espanhóis com HLA-B27 com CW1 em subgrupo de psoriásicos, provavelmente associados ao subtipo B2705, <sup>(36)</sup>.

Os trabalhos na literatura sobre os subtipos de HLA-B27 na Artrite Psoriásica são relativamente escassos, o que motivou a realização deste estudo, com ênfase na população brasileira.<sup>(89)</sup>

## **QUADRO CLÍNICO**

A artropatia psoriásica é classificada dentro do grupo das Espondiloartropatias, baseado nos trabalhos de Moll e Wrigth que demonstraram algumas associações entre esta entidade e outras condições daquele grupo, como as artrites reativas e a espondilite anquilosante. A inclusão da AP no grupo das espondiloartropatias é também referendada pelos critérios do Grupo Europeu de Estudo das Espondiloartropatias (ESSG).<sup>(56)</sup>

O padrão de acometimento articular é característico, com envolvimento das interfalangeanas distais, assimetria, dactilite, deformidades dos dedos, entesite e envolvimento axial. Pode haver um padrão similar à artrite reumatóide, porém formas extra-articulares e viscerais, bem como o fator reumatóide, estão ausentes. Segundo Moll e Wrigth, <sup>(1)</sup> a classificação da AP pode ser definida:



1 – Artrite predominante nas Interfalangeanas distais (foto distribuida pelo Colégio Americano de Reumatologia – ACR)



**Fig. 10 – Artrite das Interfalangeanas Distais**

2 – Artrite Mutilante (Arquivo pessoal)



**Fig.11 - Artrite Mutilante**

3 – Poliartrite simétrica (foto distribuída pelo Current Medicine)



**Fig. 12 – Poliartrite Simétrica**

#### 4 – Oligoartrite assimétrica



**Fig. 13 – Oligoartrite Assimétrica**

## 5 – Axial (Espondilite psoriásica) – Arquivo pessoal



**Fig. 14 – Envolvimento axial**

Muitos estudos e autores apresentam tentativas de modificar e rever esta classificação, mas, de uma forma geral, não têm sido aceites.<sup>(14)</sup> Existe um grande número de pacientes que apresentam sobreposições entre as categorias, e, na prática, esta classificação torna-se limitada. A forma axial, por exemplo, é dominante em uma minoria dos casos, porém o acometimento clínico e radiológico da coluna vertebral pode ser detectado em aproximadamente um terço dos pacientes.<sup>(17)</sup> O envolvimento exclusivo das

interfalangeanas distais é menos comum, porém acompanha o acometimento das artrites periféricas com frequência.<sup>(18)</sup>

A duração do tempo de doença tem significada relevância. Marsal encontrou uma média de duas articulações (0-8) no início da patologia, em comparação com uma média de dez articulações (2-19), após *follow-up* de oito anos.<sup>(58)</sup> Há uma tendência de envolvimento espinhal com o passar do tempo.<sup>(59,60)</sup> A artrite mutilante é também um achado mais freqüente com a doença prolongada.<sup>(18)</sup>

A assimetria é a característica mais comum da AP, principalmente no tipo oligoarticular. <sup>(1,6)</sup> Já o envolvimento simétrico e poliarticular não diferem da artrite reumatóide. <sup>(61)</sup>

O acometimento das interfalangeanas é considerado distinto. Estas articulações são envolvidas mais freqüentemente na AP do que nas artrites inflamatórias sem psoríase.<sup>(9)</sup> No estudo de Harrison, 1997, em pacientes com artrite inicial, observou-se 3,9% de envolvimento nos pacientes com psoríase, em contraste de 0,3% de pacientes sem psoríase. <sup>(62)</sup> O envolvimento das interfalangeanas distais (IFD) como parte da poliartrite da psoríase pode chegar a 54%, mas quando se avalia o envolvimento das IFD predominante, ou isolado, a proporção dos casos é muito pequena, em torno de 1 a 16%, podendo ser o primeiro acometimento, <sup>(1,57)</sup> e comumente está associado com dois outros significantes sinais clínicos, a dactilite e a distrofia ungueal.<sup>(6, 17,57)</sup> A forma oligoarticular é altamente variável em diferentes estudos, oscilando entre 11 a 70% <sup>(1,17)</sup> podendo chegar a 90%,<sup>(11)</sup> principalmente em membros inferiores. Afeta pequenas articulações das mãos e pés,



incluindo as interfalangeanas proximais (IFP) e distais (IFD), com predomínio no sexo masculino. É a forma mais comum de aparecimento da AP.<sup>(57)</sup>

A artrite mutilante não está claramente definida, apesar de ser comumente utilizada. Em geral é descrita como um fim de um estágio de artrite erosiva e destrutiva com desorganização da função articular, evoluindo para subluxação com aspecto em “telescopagem digital”, ou dedos em “binóculo de ópera”. A frequência está em torno de 5%,<sup>(1,18,57)</sup> e associada à doença de longa duração, com predomínio no sexo masculino.<sup>(18,58)</sup>

O acometimento isolado da coluna vertebral e sacroilíacas é incomum, e ocorre em aproximadamente 5% dos casos.<sup>(1,17)</sup> A observação clínica e radiológica cuidadosa revela envolvimento axial em 20 a 40% de todos os casos de AP,<sup>(17,57,31)</sup> podendo chegar a 50% com o acompanhamento de longo prazo.<sup>(59)</sup>

A artrite das sacroilíacas pode ser simétrica ou assimétrica, com forte associação ao HLA-B27.<sup>(31)</sup> A mobilidade espinhal é preservada mesmo com a evolução da doença, diferentemente da Espondilite Anquilosante.<sup>(59)</sup> Acometimento cervical pode acontecer com o tempo de doença.<sup>(63)</sup> Dois tipos de alterações são descritos: um tipo anquilosante, similar ao que é visto na Espondilite Anquilosante (EA), e um tipo inflamatório erosivo, que pode resultar em instabilidade ou subluxação atlânto-axial.<sup>(63,64)</sup> O envolvimento cervical pode ser silencioso, e as alterações radiológicas precedem as manifestações clínicas.<sup>(63)</sup>

## **ENTESITES**

Muitos estudos histológicos das áreas de inserções de ligamentos e tendões aos ossos (enteses) e de suas relações patológicas nas Espondiloartrites tem sido realizados,

porém o mais universalmente aceito é o de Ball, que demonstra a inflamação dos tecidos moles e a destruição óssea associada na região de inserção.<sup>(65)</sup> Alguns autores postulam que as lesões inflamatórias das enteses são o ponto central do processo patogênico nas espondiloartites.<sup>(66)</sup>

Entesite sintomática ocorre entre 20 a 40% dos pacientes com AP, <sup>(67,68)</sup> Os locais mais comuns são: o tendão de Aquiles, a inserção da fascia plantar no calcâneo e a inserção ligamentar nos ossos da pelve.

## **CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DA ARTRITE PSORIÁSICA**

Existem, até agora, pelo menos sete tentativas de classificar e propor critérios para o diagnóstico da AP. A falta de consenso mundial muito se deve às discrepâncias na literatura sobre a incidência e prevalência. Uma das razões seria a de que não são universalmente aceitos casos definidos de artrite psoriásica, pois até agora não há separações claras entre artrite reumatóide soro negativa, por exemplo, e AP, pelos autores que propõem critérios. Há um grande número de publicações, mas não há consenso de como melhor definir AP.

Os critérios originais de Moll e Wrigth são os mais simples e corriqueiramente usados em estudos clínicos: <sup>(1)</sup>

- Artrite periférica e/ou sacroileíte ou espondilite
- Psoríase
- Testes sorológicos para o fator reumatóide negativos



A utilização destes critérios levou os autores a definirem os cinco subtipos de AP já descritos: oligoarticular assimétrica, envolvimento exclusivo das interfalangeanas distais, poliartrite, espondilite e artrite mutilante. Algumas pequenas modificações foram feitas por Gladman e col, como a adição de uma lista de exclusões, <sup>(17)</sup> entre elas: nódulos subcutâneos, artrite induzida por cristais, osteoartrite grau IV, síndrome de Reiter (artrite reativa) e doença intestinal inflamatória.

Em 1979, Bennet propôs nova classificação e novos critérios,<sup>(69)</sup> combinando achados clínicos com características radiológicas e acrescentando análise do líquido sinovial e histopatológico da membrana sinovial. Tab.1

| CRITÉRIOS PARA ARTRITE PSORIÁSICA . PROPOSTO POR BENNETT  |   |
|---|---|
| <b>Mandatários:</b>   |   |
| ■   | Psoríase (cutânea e/ou ungueal)   |
| ■   | Dor e edema e/ou limitação de movimentos em uma ou mais articulações, observada por médico por seis ou mais semanas |
| <b>Complementares:</b>  |   |
| ■   | Dor e edema e/ou limitação de movimento em uma ou mais articulações, observadas por médico                          |
| ■   | Artrite da interfalangeana distal. Excluir nódulos de Heberden  |
| ■   | Dedos “em salsicha” nas mãos ou pés   |
| ■   | Assimetria das artrites nas mãos e pés  |
| ■   | Ausência dos nódulos sub cutâneos   |
| ■   | Fator reumatóide negativo   |
| ■   | Líquido sinovial inflamatório com aumento de C3 e C4, ausência de infecção e cristais                               |
| ■   | Hipertrofia sinovial com infiltrado mononuclear e ausência de granuloma ou tumor                                    |
| ■   | Raios-X com artrite erosiva de pequenas articulações e osteopenia. Excluir osteoartrite erosiva                     |
| ■   | Raios-X axial com sacroileíte, sindesmófito e ossificação paravertebral   |
| <b>Artrite Psoriásica Definida:</b> Presença dos mandatórios mais seis complementares<br><b>Artrite Psoriásica Provável:</b> Presença dos mandatórios mais quatro complementares<br><b>Artrite Psoriásica Possível:</b> Presença dos mandatórios mais dois complementares |   |

**Tab.1 – Critérios de Bennet**

Estes critérios não foram validados, e não têm sido utilizados a despeito de acrescentarem dados radiológicos, de análises do líquido e histologia sinovial.

Um número de outras classificações tem sido proposto, por exemplo a de Vasey e Espinoza, <sup>(70)</sup> que simplifica a de Bennett: Tab. 2

| CRITÉRIOS PARA ARTRITE PSORIÁSICA . PROPOSTOS POR VASEY E ESPINOZA   |
|--|
| <b>Critério I:</b> Psoríase cutânea ou ungueal   |
| <b>Critério II:</b> Padrão periférico – 1. Dor e edema, com ou sem limitação de movimentos envolvendo interfalangeanas por até quatro semanas. 2. Dor e edema, com ou sem limitações de movimentos, envolvendo articulações periféricas, assimétrica, por até quatro semanas. Incluem os dedos “em salsicha”. 3. Artrite periférica simétrica por até quatro semanas, na ausência do fator reumatóide e nódulos sub cutâneos. 4. Deformidades em “ponta de lápis”, periostite e anquilose. |
| <b>Critério III:</b> Padrão Central – 1. Dor e rigidez com restrição de movimentos por até quatro semanas. 2. Sacroileíte simétrica grau 2, segundo os critérios radiológicos de Nova York. 3. Sacroileíte unilateral grau 3 ou 4, segundo critérios de N.Y.<br>Artrite Psoriásica é definida com o critério I mais o critério II ou III   |

**Tab. 2 – Critérios de Vasey e Espinoza**

O Grupo Europeu de Estudo das Espondiloartropatias (ESSG) derivou critérios de classificação após análise de diagnósticos feitos por reumatologistas em espondiloartropatias e controles com outras doenças reumáticas. Foi o primeiro reconhecimento da existência de artrite psoriásica na ausência de psoríase: (56) Tab. 3

| CRITÉRIOS MODIFICADOS DO GRUPO EUROPEU DE ESTUDO DAS ESPONDILO-ARTROPATIAS PARA ARTRITE PSORIÁSICA |  |
|--|--|
|  | ■ Dor espinhal inflamatória ou Sinovite (assimétrica, ou predominantemente nos membros inferiores) |
|  | ■ História familiar positiva para psoríase, ou Psoríase  |

**Tab.3 – Critérios do grupo Europeu**

A partir de 1999, McGonagle e col. propuseram uma definição de AP baseada nas entesopatias. Existe um grande problema com estes critérios, pois requerem a utilização de ressonância nuclear magnética, que os torna muito dispendiosos.<sup>(71)</sup> Tab. 4

| CRITÉRIOS DE MCGONAGLE MODIFICADOS PARA ARTRITE PSORIÁSICA |   |
|--|---|
|  | ■ Psoríase ou história familiar de psoríase   |
|  | <p><b>Acrescenta-se mais um de:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Entesite clínica</li> <li>■ Entesite radiológica (RNM)</li> <li>■ Envolvimento da interfalangeana distal</li> <li>■ Sacroileíte ou envolvimento espinhal</li> <li>■ Artrites incomuns (SAPHO, espondilodiscite, artrite mutilante, onico-paquidermo-periostite, osteomielite crônica multifocal recorrente)</li> <li>■ Dactilite</li> <li>■ Monoartrite</li> <li>■ Oligoartrite</li> </ul> |

**Tab. 4 – Critérios de McGonagle**

A única regra específica no diagnóstico da AP até agora foi desenvolvida por Fournié e col. Baseada em dados provenientes de pacientes, os itens foram ponderados e selecionados usando função discriminante e análises de regressão logística. Os dados foram obtidos de populações de pacientes diagnosticados por reumatologistas de uma única clínica, com Artrite Psoriásica, Espondilite Anquilosante e Artrite Reumatóide. Um escore de 11 pontos é necessário para o diagnóstico de AP, com sensibilidade de 95% e especificidade de 98%.<sup>(72)</sup> Tab. 5

| <b>CRITÉRIOS DE FORNIÉ e COL. PARA ARTRITE PSORIÁSICA</b>   |               |
|---|---------------|
| <b>Mínimo de 11 pontos</b>  |               |
| <b>Critérios</b>  | <b>Pontos</b> |
| Psoríase concomitante ou precedendo artrite   | <b>6</b>      |
| História familiar de psoríase (caso critério 1 negativo)  | <b>3</b>      |
| Artrite assimétrica das interfalangeanas distais  | <b>3</b>      |
| Mono ou oligoartrite assimétrica  | <b>1</b>      |
| Dor sacral, calcaneodinia, dor espontânea região anterior do tórax ou dor inflamatória em entese  | <b>2</b>      |
| <b>Radiológicos</b> (se um dos abaixo estiver presente)<br>Erosão da IFD<br>Osteólise<br>Anquilose<br>Periostite periarticular<br>Reabsorção das falanges | <b>5</b>      |
| <b>HLA – B16, B38, B39 ou B17</b>   | <b>6</b>      |
| <b>Fator reumatóide negativo</b>  | <b>4</b>      |

**Tab. 5 – Critérios de Fournié**

Em um recente estudo com 499 pacientes realizado em Bradford e Milão, todos estes critérios foram testados contra dados de pacientes coletados em prontuários, com

revisão radiológica.<sup>(73)</sup> Os mais sensíveis foram os de Vasey e Espinoza, McGonagle, e Gladman (99%), os outros foram menos sensíveis (56% e 94%). A especificidade foi alta e estatisticamente similar (entre 93% e 99%). Os critérios de Fournié foram os mais difíceis de utilizar, enquanto os de Vasey e Espinoza e os de Moll e Wrigth foram os mais fáceis.

O grupo CASPAR (CLASSification of Psoriatic ARthritis), fez coleta de dados clínicos prospectivos e radiológicos, envolvendo 29 reumatologistas em 12 países. O trabalho iniciou em Janeiro de 2002 e o término da coleta de dados foi em Julho de 2004. Os primeiros resultados apresentados demonstram que os critérios de Vasey e Espinoza parecem ser os mais apurados. Foram coletadas amostras de sangue para pesquisa de HLA e anticorpo anticitrulínico. O projeto pretende testar acurácia diagnóstica e as classificações existentes, e tem como outros objetivos responder a questão se Artrite Psoriásica é uma coincidência de doenças, ou uma doença com múltiplas manifestações. Foram avaliados 589 pacientes e 535 controles. A partir deste estudo, definiram-se os critérios de CASPAR.

<sup>(81)</sup>Tab.6

| <b>CRITÉRIOS CASPAR</b>   |
|---|
| <b>Estabelecida doença musculoesquelética inflamatória (articular, coluna e entese)</b> |
| <b>E mais 3 das seguintes:</b>  |
| 1. Evidência de psoríase (1 de A,B,C)   |
| A. Pele e couro cabeludo  |
| B. História de psoríase   |
| C. História familiar de psoríase  |
| 2. Distrofia ungueal  |
| 3. Fator Reumatóide negativo (ELISA ou nefelometria)                                    |
| 4. Dactilite (1 de A e B)   |
| A. Inflamação digital   |
| B. História de inflamação digital   |
| 5. Evidência radiológica  |

**Tab. 6 – Critérios do grupo CASPAR**

## **OBJETIVO**

O objetivo deste estudo foi verificar a presença do HLA-B27 e seus alelos em pacientes com Artrite Psoriásica, e correlacionar os resultados com dados epidemiológicos e clínicos em uma amostra da população brasileira na cidade de Campinas, utilizando um grupo controle de indivíduos sadios portadores do B27.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

**PACIENTES** - Foram avaliados 102 pacientes com AP, do ambulatório de reumatologia do HC-FCM-UNICAMP e Hospital e Maternidade Celso Pierro – PUCCAMP, e 111 controles sadios HLA-B27 positivos, doadores de sangue provenientes

do Laboratório de Imunologia molecular da Universidade de São Paulo de Riberão Preto. A presença do HLA-B27 foi observada através da análise molecular.

## **METODOLOGIA**

Os dados foram avaliados através de estatísticas descritivas como frequências simples (n) e relativa (%) ou média e desvio-padrão.

Para testar a homogeneidade dos grupos em relação ao sexo e à raça, e para verificar a associação do subtipo encontrado com os grupos, foi utilizado o teste exato de Fisher (devido ao tamanho da amostra em cada estudo). Para estudar a homogeneidade dos grupos em relação à idade e tempo de doença foi utilizado o teste de médias T de Student (ALTMAN). (90)

O nível de significância assumido no trabalho foi de 5%.

O software utilizado para análise foi o SAS versão 8.2. (91)

### **1.1-Extração do DNA**

#### **1.1.1-Obtenção dos leucócitos**

A partir de 5 ml de sangue periférico, colhido em frasco de vacutainer, com EDTA 15% como anticoagulante, foi realizada a lise das hemácias para a obtenção dos leucócitos das amostras da casuística.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 1.800 r.p.m., por 10 minutos. Depois, o plasma foi descartado e as hemácias lisadas com a mistura de uma solução 1:10 de cloreto de amônio  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (0,144M) e bicarbonato de amônio  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (0,01M), por 20 minutos,



em repouso, à temperatura ambiente. Na etapa seguinte, as amostras foram centrifugadas a 3600 rpm, por 15 minutos, sendo depois descartado o sobrenadante. O processo de lise foi repetido até que se obtivesse um “*pellet*” de leucócitos livres de hemácias.

### **1.1.2-Lise dos leucócitos e precipitação do DNA**

Ao “*pellet*” de leucócitos, foram adicionados 1ml de **DNAzol™ (Gibco BRL, Invitrogen)**. As amostras contendo o **DNAzol™** foram mantidas por 3 horas em repouso à temperatura ambiente, acrescentado 1ml de etanol absoluto gelado para a precipitação do DNA, que foi retirado com a ajuda de uma pipeta Pasteur e colocado em um eppendorf contendo 300ul de etanol 70% gelado. As amostras foram então centrifugadas a 14.000 rpm por 1 minuto, e o sobrenadante foi descartado. Para a diluição do DNA foi utilizado de 150 a 300ul de água destilada estéril, de acordo com o “*pellet*” de DNA obtido. Em seguida as amostras foram incubadas a 37°C *overnight* para a sua solubilização. A quantificação do DNA foi realizada pelo **High DNA Mass™ Ladder (Gibco BRL, Invitrogen)**, um marcador de massa molecular baseado na comparação da intensidade da banda da amostra de DNA teste com a intensidade das bandas do marcador. As amostras foram então estocadas a -20° C para posterior genotipagem.

## **1.2 – Genotipagem**

### **1.2.1 - Alelos do HLA-B**

A tipagem do HLA-B foi realizada através da técnica de amplificação pela reação em cadeia da polimerase, utilizando seqüências específicas de *primers* (**PCR-SSP HLA-B baixa resolução DYNAL, Biotech Ltd., UK**).<sup>(74)</sup> Para cada amostra de DNA dos pacientes, foram realizados os seguintes procedimentos: em placas de 48 *wells* contendo *primers* liofilizados (um par de *primers* do gene do crescimento humano de seqüência não alelica como controle interno da reação, e um par de *primers* específicos do HLA B), foram adicionados 10 µl de uma solução contendo tampão PCR, glicerol 5%, nucleotídeos dCTP, dGTP, dATP, dTTP, vermelho cresol, 102,6 µl da amostra do DNA (~50ng/µl) e 4,32µl de *TAQ Polymerase* (**GIBCO-BRL, Invitrogen**). Em seguida, a amplificação da PCR foi realizada em um Termociclador (**Progênie**), num total 30 ciclos com desnaturação inicial a 96°C durante dois minutos, seguida dos 10 primeiros ciclos com desnaturação a 96°C, por 10 segundos, pareamento e extensão a 65°C, por 60 segundos e após 20 ciclos com desnaturação a 96°C, por 10 segundos, anelamento a 61°C, por 50 segundos e extensão a 72°C, por 30 segundos (OLERUP 1994).

### 1.2.2 - Alelos do HLA-B27

A genotipagem do HLA-B27 foi realizada através da técnica de amplificação pela reação em cadeia da polimerase, utilizando seqüências específicas de *primers* (**PCR-SSP HLA-B27 alta resolução – HLA-B\*2701 - B\*2721, DYNAL, Biotech Ltd., UK**). Para cada amostra de DNA dos pacientes e controles HLA-B27 positivos, foram realizados os seguintes procedimentos: em placas de 16 *wells* contendo *primers* liofilizados (um par de *primers* do gene do crescimento humano de seqüência não alélica como controle interno da reação, e um par de *primers* específicos do HLA B27) , foi adicionado 10 µl de uma

solução contendo: tampão PCR, glicerol 5%, nucleotídeos dCTP, dGTP, dATP, dTTP, vermelho cresol, 34.5 µl da amostra do DNA (~50ng/µl) e 1,44µl de *Taq DNA Polymerase* (GIBCO-BRL, Invitrogen). Em seguida, a amplificação da PCR foi realizada em um Termociclador (**Progênie**), num total 30 ciclos com desnaturação inicial a 96°C durante dois minutos, seguida dos 10 primeiros ciclos com desnaturação a 96°C, por 10 segundos, pareamento e extensão a 65°C, por 60 segundos e após 20 ciclos com desnaturação a 96°C, por 10 segundos, anelamento a 61°C, por 50 segundos e extensão a 72°C, por 30 segundos (OLERUP 1994)

### **1.2.3 - Detecção dos Produtos Amplificados pela PCR.**

Após a reação de amplificação, 4µl do produto da PCR de cada *well* da placa, foram aplicados em uma cuba de eletroforese horizontal contendo gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo. Após 30 minutos de corrida, os produtos da PCR foram visualizados sob iluminação ultravioleta e o gel fotografado, utilizando o sistema Polaroid, para documentação e posterior análise dos resultados.

### **1.2.4-Análise dos Resultados**

Através de uma tabela e um *software*, fornecidos pelo Kit Dynal, foram realizadas as interpretações dos produtos obtidos pela reação em cadeia da polimerase, identificando os alelos do antígeno HLA-B e HLA-27 (HLA-B\*2701-B\*2721), presentes nas amostras de DNA dos pacientes e controles.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

### RESULTADOS

As tabelas a seguir apresentam os principais achados epidemiológicos e a presença dos subtipos do HLA-B27 nos pacientes com Artrite Psoriásica, grupo controle sadios e B27 positivos. Foram envolvidos 213 indivíduos na pesquisa sendo que 102 pacientes com diagnóstico de artrite psoriásica, 81 negativos para o HLA-B27(38,03%) do total, e 21 positivos (9,85%). Os demais compunham o grupo controle, 111 indivíduos sadios (52,12%).

| Grupos                 | n          | %           |
|------------------------|------------|-------------|
| Controle               | 111        | 52,12%      |
| HLA B27 Negativos e AP | 81         | 38,03%      |
| HLA B27 Positivos e AP | 21         | 9,85%       |
| <b>Total</b>           | <b>213</b> | <b>100%</b> |

| Sexo      | n   | %     |
|-----------|-----|-------|
| Feminino  | 85  | 39,9% |
| Masculino | 128 | 60,1% |
|           |     |       |

**Tab. 7 – Distribuição dos grupos e prevalência quanto ao sexo.**

No grupo dos pacientes com artrite psoriásica os dados abaixo mostram: a relação entre sexo, onde predomina o masculino, raça, que tem os caucasóides como a grande maioria, e o subtipo B\*2705 o mais encontrado. (Tabelas 8 e 9) Observa-se que, em relação a raça, não houve informação em um paciente. Nos pacientes controle o subtipo B\*2705 também foi o mais observado, seguido pelo B\*2702 e B\*2703 conforme tabela 10. O único paciente da raça amarela HLA-B27 positivo apresentou o alelo B\*2704.

|                | GRUPO    |       |          |       |           |       |       |       |         |
|----------------|----------|-------|----------|-------|-----------|-------|-------|-------|---------|
|                | CONTROLE |       | NEGATIVO |       | POSITIVO  |       | TOTAL |       | VALOR-p |
| SEXO           | n        | %     | n        | %     | n         | %     | n     | %     | 0,0355  |
| Feminino       | 44       | 39,6% | 37       | 45,7% | 4         | 19,0% | 85    | 39,9% |         |
| Masculino      | 67       | 60,4% | 44       | 54,3% | 17        | 81,0% | 128   | 60,1% |         |
| RAÇA           |          |       |          |       |           |       |       |       |         |
| Sem Inf        |          |       | 1        |       |           |       | 1     |       | 0,1888  |
| Amarela        |          |       | 0        | 0,0%  | 1(B*2704) | 5,3%  | 1     | 1,5%  |         |
| Caucasóide     |          |       | 40       | 85,1% | 17        | 89,5% | 57    | 86,4% |         |
| Não Caucasóide |          |       | 7        | 14,9% | 1         | 5,3%  | 8     | 12,1% |         |

**Tab. 08 – Relação entre sexo e raça em pacientes com AP e HLA-B27 neg. ou posit.**

| Subtipo HLAB-27 + |    |       |
|-------------------|----|-------|
| B*2702            | 1  | 4,8%  |
| B*2704            | 1  | 4,8%  |
| B*2705            | 19 | 90,5% |

**Tab. 09 – Porcentagem encontrada dos alelos do HLA-B\*27 em pacientes com Artrite Psoriásica.**

| ALELOS | CAUCASÓIDES (94) | AFRO-BRASILEIROS (17) |
|--------|------------------|-----------------------|
| B*2702 | 10 (11%)         | 1 (6%)                |
| B*2703 | 3 (3%)           | 4 (23%)               |
| B*2705 | 78 (83%)         | 11 (65%)              |
| B*2707 | 2 (2%)           | 1 (6%)                |
| B*2713 | 1 (1%)           | -----                 |

**Tab. 10 – Prevalência dos alelos no grupo controle**

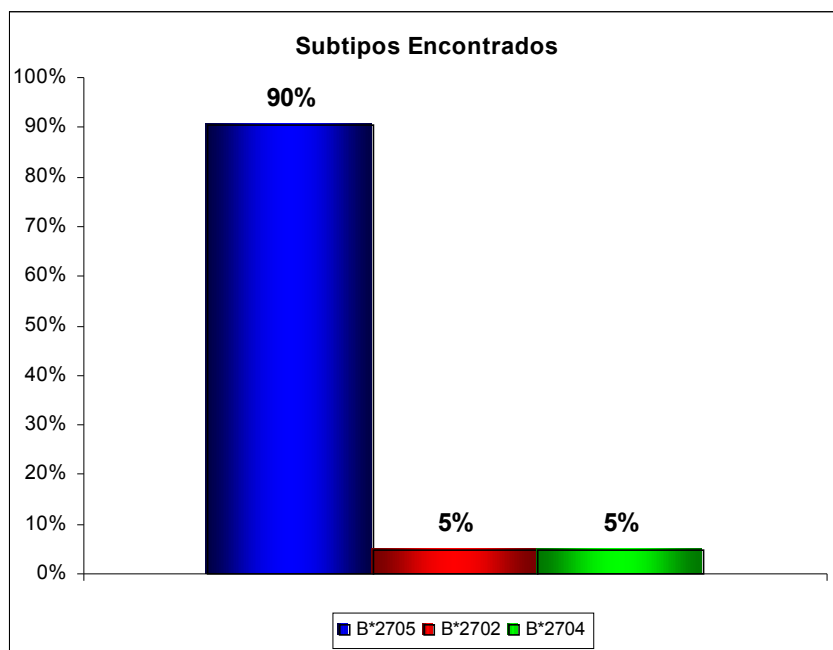
Em três pacientes houve dificuldades em excluir os diagnósticos de Espondilite Anquilosante e Artrite Psoriásica (2), e Síndrome de Reiter (1) com AP.

| DOENÇA | NEGATIVO |        | POSITIVO |        | TOTAL |        | 0,0077 |
|--------|----------|--------|----------|--------|-------|--------|--------|
|        | n        | %      | n        | %      | n     | %      |        |
| AP     | 81       | 100,0% | 18       | 85,71% | 99    | 97,06% |        |
| EA/AP  | 0        | 0,0%   | 2        | 9,52%  | 2     | 1,96%  |        |
| SR/AP  | 0        | 0,0%   | 1        | 4,76%  | 1     | 0,98%  |        |

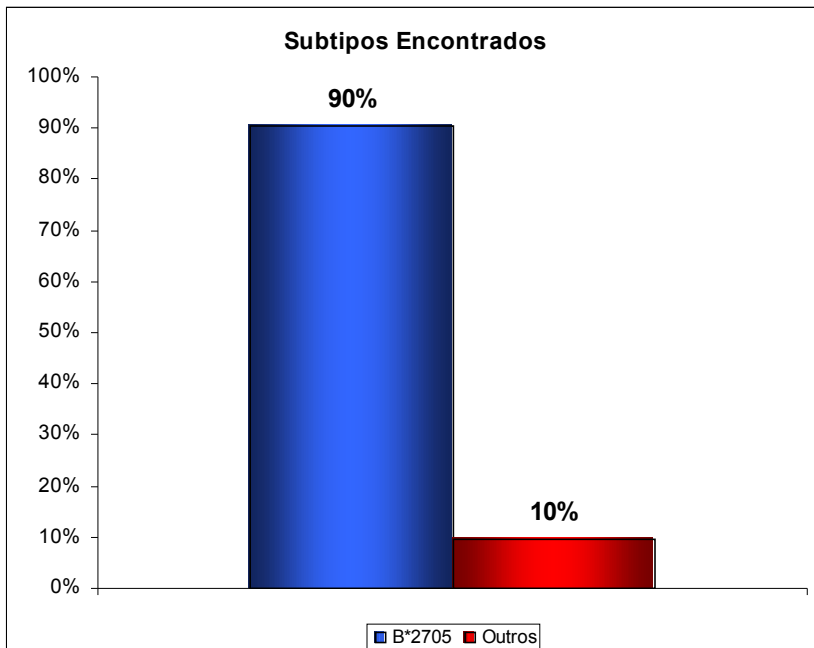
**AP** – Artrite Psoriásica. **EA** – Espondilite Anquilosante. **SR** – Síndrome de Reiter.

**Tab. 11 – Doenças associadas.**

Os gráficos abaixo dão uma visão geral sobre a grande prevalência do HLA-B\*2705 tanto quando se avaliam separadamente por subtipos ou agrupando-se aos outros de menor incidência.



**Gráfico 1 – Avaliação sobre prevalência dos subtipos do HLA-B27**



**Gráfico 2 – Avaliação agrupada dos subtipos do HLA-B27**

Os resultados correlacionam dados epidemiológicos com formas clínicas, onde se observa um predomínio do sexo masculino, principalmente nos portadores do HLA-B27, tanto nos pacientes quanto nos controles saudáveis. A raça caucasóide é a mais encontrada, bem como o envolvimento oligoarticular nos negativos. Nos pacientes positivos a forma espondilítica é a mais observada.

|                    | NEGATIVO  |              | POSITIVO |              | TOTAL     |              |          |
|--------------------|-----------|--------------|----------|--------------|-----------|--------------|----------|
| FORMAS CLÍNICAS    | n         | %            | n        | %            | n         | %            | < 0.0001 |
| ESP                | 6         | 7,4%         | 11       | 52,4%        | 17        | 16,7%        |          |
| MUTIL              | 1         | 1,2%         | 0        | 0,0%         | 1         | 1,0%         |          |
| Só OLIGO           | 59        | 72,8%        | 5        | 23,8%        | 64        | 62,7%        |          |
| OLIGO/ESP          | 1         | 1,2%         | 2        | 9,5%         | 3         | 2,9%         |          |
| <b>Total OLIGO</b> | <b>60</b> | <b>74,1%</b> | <b>7</b> | <b>33,3%</b> | <b>67</b> | <b>65,7%</b> |          |
| Só POLI            | 13        | 16,0%        | 3        | 14,3%        | 16        | 15,7%        |          |
| POLI/ESP           | 1         | 1,2%         | 0        | 0,0%         | 1         | 1,0%         |          |
| <b>Total POLI</b>  | <b>14</b> | <b>17,3%</b> | <b>3</b> | <b>14,3%</b> | <b>17</b> | <b>16,7%</b> |          |

### Teste exato de Fischer

**Tab. 12 – Relação entre formas clínicas e presença ou ausência do B27.**

Em relação ao tempo de doença observamos diferença significativa entre os B\*27 positivos para os negativos conforme tabela 11. Os pacientes HLA-B27 negativos tiveram o diagnóstico realizado mais tardiamente em relação aos positivos. Não houve alterações significativas quanto a idade.

| GRUPO            | n  | média | desvio - padrão | mínimo | mediana | máximo | Valor-p |
|------------------|----|-------|-----------------|--------|---------|--------|---------|
| Idade            |    |       |                 |        |         |        |         |
| HLA-B27 NEGATIVO | 81 | 50,7  | 10,7            | 30     | 50      | 74     | 0,8372  |
| HLA-B27 POSITIVO | 21 | 50,1  | 13,6            | 29     | 48      | 72     |         |
| Tempo de Doença  |    |       |                 |        |         |        |         |
| HLA-B27 NEGATIVO | 81 | 50,1  | 13,6            | 29     | 48      | 72     | 0,1819  |
| HLA-B27 POSITIVO | 21 | 13,8  | 10              | 3      | 12      | 38     |         |

**Tabela 13 – Distribuição quanto à idade e tempo de doença dos pacientes com AP correlacionadas com a presença ou ausência do alelo HLA-B27. (idade e tempo de doença em anos).**



## DISCUSSÃO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a frequência do HLA-B27 na população de pacientes com artropatia psoriásica e, sequencialmente, realizar a subtipagem daquele alelo nos positivos. Procurou-se também a correlação com a população normal que apresentava o B-27 e, ainda, a comparação com os achados de formas clínicas, tempo de doença, sexo e raça na população brasileira.

Fatores genéticos têm um papel importante tanto na Artrite Psoriásica quanto na Psoríase. Alguns estudos têm relacionado a presença de HLAB-27 com a progressão da doença em pacientes que apresentem manifestações osteoarticulares e cutâneas. (34,35)

Montserrat e col. referem que os subtipos HLA-B2702, B2704 e B2705 estão fortemente associados às espondiloartrites, (75) e, em outros artigos, menciona-se, além do HLAB-27, também o HLAB-7. (33, 76, 77) A relação com o B27 é particularmente forte em pacientes que apresentam sacroileíte e AP, conforme demonstra nossos achados, porém também é detectada em pacientes com envolvimento das interfalangeanas distais, sugerindo que a presença do HLAB-27 pode não ser um simples reflexo da co-existência de Espondilite e Psoríase. (76)

Os resultados de nosso trabalho apontam a presença de três subtipos B\*2705, B\*2704 e B\*2702 que, de acordo com dados internacionais, são os mais relacionados às espondiloartrites, incluindo-se o B\*2707, não observado nesta pesquisa. (88)

Observamos a presença do subtipo B\* 2705 com maior incidência que corresponde aos achados internacionais. Os estudos de Khan e Ball em 2002 referem que o subtipo mais encontrado mundialmente é o HLA-B\*2705 nas espondiloartrites.<sup>(78)</sup> Este dado também vem de encontro com os nossos achados nesta pesquisa.

O único paciente B\*2704 é da raça amarela, que corresponde aos dados de literatura que aponta este subtipo com maior incidência naquela etnia, também incidindo na Polinésia, Tailândia e nos Malaaios. <sup>(87)</sup>

A forma oligoarticular em diferentes estudos é altamente variável, oscilando entre 11 a 70% <sup>(1,17)</sup> e até 90%<sup>(11)</sup>, principalmente em membros inferiores, conforme já referido. Foi também o tipo de envolvimento mais encontrado na nossa casuística, principalmente nos pacientes HLA-B27 negativos. A predominância no sexo masculino, quando o B27 esteve presente, também se correlacionou com a forma espondiloartropática.

Acompanhando a literatura mundial, a raça mais observada foi a caucasóide, tanto nas formas positivas quanto nas negativas para o B27, porém como a psoríase também tem uma maior frequência em pacientes caucasóides, os achados eram esperados. Apesar da alta miscigenação em nosso meio, a prevalência foi maior dos pacientes que se declararam caucasóides ou brancos, e que foram também considerados assim pelo examinador que levou em conta as definições do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), que define as raças no Brasil em brancos, mulatos, negros, amarelos (orientais) e indígenas.

Em relação ao tempo de doença, observamos uma grande diferença entre os positivos e negativos, onde os primeiros apresentam um período menor de diagnóstico, segundo Queiro o B27 está associado à idade mais precoce, porém não determina a

gravidade da doença. (92) Em outros estudos os autores propõem que a presença do alelo predispõe o paciente a maiores alterações articulares no decorrer da doença. (34,35) Em nosso estudo não observamos clinicamente esta relação, apesar de não ter sido utilizado instrumentos mais apropriados como o DAS, HAQ etc.

Pretendeu-se, com este estudo, realçar a importância da molécula HLA-B27, e seus subtipos, no desenvolvimento da Artrite Psoriásica na população brasileira. No decorrer da pesquisa, verificamos a existência de um elevado número de estudos epidemiológicos efetuados em etnias específicas e geneticamente pouco explorados. Notamos que a presença do HLA-B27 é maior quando há envolvimento axial e em homens, com uma relação direta com a presença do subtipo B\*2705. A forma oligoarticular foi a mais evidente manifestação de envolvimento inicial da patologia. Os caucasóides são os mais atingidos pela Artrite Psoriásica em nosso meio.

Apesar dos avanços verificados, os mecanismos implicados na patogênese desta enfermidade continuam obscuros.

Há estudos que apontam para a existência de outros genes candidatos que interagiriam com o HLA-B27 contribuindo para a patogênese da doença. (36) Sendo assim, é de relevante importância o estudo e caracterização genética desta doença, e a necessidade de identificar precocemente os pacientes com Artrite Psoriásica positivos para o HLA-B27, com subtipo B\*2705, que, conforme os dados mais atuais poderão evoluir para envolvimento axial.

No estudo encontrou-se um paciente com a forma mutilante, estatisticamente uma das menos frequente assim como o envolvimento das interfalangeanas distais isolado, que não foi observado no trabalho. Um paciente apresentou a forma espondilítica e poliarticular, e outro a associação de oligoartrite com espondilite. Na literatura observa-se com mais

frequência as associações de formas clínicas, principalmente com a forma espondilítica e quando se estuda a evolução clínica da artrite psoriásica. (17,31,57,59) Este estudo não foi de seguimento e sim uma avaliação pontual, o que leva a maior chance de encontrar uma forma isolada ou predominante.

## **CONCLUSÃO**

O estudo concluiu que, o HLA-B27 está presente em 21 pacientes (9,85%) da população de pacientes brasileiros com Artrite Psoriásica estudada, onde a incidência maior foi de caucasóides, a maioria foi do sexo masculino no total e estatisticamente mais importante nos B27 positivos, os quais tinham mais chances de envolvimento axial.

O alelo mais encontrado do B\*27 foi o HLA-B\*2705, tanto nos pacientes com artrite psoriásica quanto no grupo controle, coincidindo com os dados da literatura. I

Este trabalho foi o primeiro estudo no Brasil onde se pesquisou os alelos do B\*27 e correlacionou-se com dados epidemiológicos e formas clínicas desta patologia.

O alto grau de miscigenação em nosso meio parece não ter influenciado nossos resultados, porém a presença de poucos pacientes não caucasóides pode interferir nas conclusões de estudos futuros.

## REFERÊNCIAS

- 1 – Moll J M H, Wright V: Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 1973; 3:55-78
- 2 – Breathnach S M: The skin immune system and psoriasis. *Clin Exp Immunol* 1993; 91:343-5
- 3 – Christophers E: The immunopathology of psoriasis. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 110:199-206
- 4 – Griffiths C. E. M., Voorhees J.J. Psoriasis, T cells and autoimmunity. *J.R. Soc. Med.* 1996; 89:315-9
- 5 – Alibert J.L: Précis theorique et pratique sur les maladies de la peau. Paris Caille et Ravier. 1818
- 6 – Wright V., Rheumatism and psoriasis. A re-evaluation. *Am.J.Med* 1959; 27:454-462
- 7 – Blumberg B.S., Bunim J.J., Calkins E. et al. ARA nomenclature and classification of arthritis and rheumatism (tentative) *Arthritis Rheum.* 1964; 7:93-97.
- 8 – Berthelot J.M. Psoriatic arthritis as a mountain. *Reumatismo* 2003; 136:896-907
- 9 – Van Romunde L.K.J., Valkenburg H.A., Swart-Bruinsma W. et al. Psoriasis and arthritis: a population study. *Rheumatol. Int.* 1984; 4: 55-60
- 10 – Lomholt G. Psoriasis. Prevalence spontaneous course and genetics. A census study of the prevalence of skin disease on the Faroe Island. *GECGAD*, Copenhagen. 1963
- 11 – Shbeeb M., Uramoto K.M., Gibson L.E. et al. The epidemiology of psoriatic arthritis in Olmsted Coutry, Minnesota, USA. 1982-1991, *J. Rheumatolog.* 2000; 27:1247-1250.
- 12 – Khan M.A. Update on Spondyloarthropathies, *Ann. Intern. Med.* 2002; 136:896-907.
- 13 – Dawson M.H. Tyson T.L. Psoriasis Arthropatical, with observations on certain features common to psoriasis and rheumatoid arthritis. *Trans. Assoc. Am. Physicians* 1938; 53:303-309.
- 14 – Bruce I. N. Psoriatic arthritis: clinical features. *Rheumatology.* 3<sup>rd</sup> Edition. Mosby. 2003; 110.

- 15 – Stern R.S. the epidemiology of joint complains in patient with psoriasis. *J. Rheumatol.* 1985; 12:315-20.
- 16 – Barrett E.M. et al. Presence of psoriasis does not influence the presentation or short term outcome of patients with early inflammatory polyarthritis. *J. Rheumatology.* 1997; 24:1744-1749.
- 17 – Gladman D.D. Shuckett R. Russel L.L.M.L. Psoriatic Arthritis – an Analysis of 220 patients. *Q.J. Med.* 1987; 62:127-141.
- 18 – Jones S.M. Armas J. Cohen M. et al. Psoriatic arthritis: outcome of disease subset and relationship of join disease to nail and skin disease. *Br.J. Rheumatol.* 1994; 33:834-839.
- 19 – Scarpa R. Oriente P. Pucino A. et al. Psoriatic Arthritis in psoriatic patients. *Br. J. Rheumatol.* 1984; 23: 246-250.
- 20 – Rahman P. Schentag C.T. Gladman D.D. Immunogenetic profile of patients with psoriatic arthritis varies according to the age at onset of psoriasis. *Arthritis and Rheumat.* 1999; 42:822-823.
- 21 – Brockbank J. Gladman D.D. Diagnosis and management of psoriatic arthritis. *Drugs.* 2002; 62(17):2447-57.
- 22 - Uyemura K, Yamamura M, Fivenson DF, Modlin RL. Nickoloff BJ. The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin in characterized by a T helper type 1 cell-mediated response. *J Invest Dermatol* 1993;101; 701-5.
- 23 – Schlaak JF, Buslau M, Jochum W, et al. T cells involved in psoriasis vulgaria belong to the Th1 subset. *J Invest Dermatol* 1994; 102; 145-9.
- 24 – Bos. JD, ed. Skin immune system (SIS). Boca. Raton: CRC Press; 1990.
- 25 – Schuler G, ed. Epidermal Langerhans cells. Boca Raton: CRC Press; 1991.
- 26 – Barker JNWN, Mitra RS, Griffiths CEM, Dixit VM. Nickoloff BJ. Keratinocytes as initiators of inflammation. *Lancet.* 1991; 337:211-14.
- 27 – Breathnach SM. Psoriatic Arthritis: Etiology and pathogenesis. *Rheumatology.* 2a Edition. Mosby. 1999; 22:22.1-22.4.
- 28 – Brewerton DA. Introduction: B27 associated disease. *Scand. J Rheumatology.* Supply 87; 108-110. 1990
- 29 – Espinoza LR. Psoriatic Arthritis: Further epidemiologic and genetic considerations in psoriatic arthritis. Edited by LH Gerber, LR Espinoza. Orlando. Grune & Stratton. 1985.
- 30 – Veys EM, Mielants H. Current concepts in psoriatics arthritis. *Dermatology* 1994; 189(supp12):34-41.

- 31 – Torre Alonso JC, Rodriguez-Perez A, Arribas Castilho JM, Ballina Garcia J, Riestra Noiega JL, Lopez Larrea C. Psoriatic Arthritis (PA): A clinical, immunological and radiological study of 180 patients. *Br. J Rheumatol* 1991; 30:245-250.
- 32 – Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M, Gyselbrecht L, Schattermann . Gut inflammation in psoriatic arthritis: A prospective ileocolonoscopy study (unpublished data)
- 33 – Gladman DD, Anhorn K AB, Scachater RK, Mervart H. HLA antigens in psoriatic arthritis *J Rheumatol*. 1986; 13:586-592.
- 34 – Gladman DD and Farewell VT. The role of HLA antigens as indications of disease progression in psoriatic arthritis. *Arthritis and Rheumt*. 1995; vol 33:845-850
- 35 – Gladman DD, Farewell VT, Kopciuk KA and Cook RJ. Hla markers and progression in psoriatic arthritis. *J of Rheumatol* 1998; 24:4.
- 36 – Lopez Larrea C, Torre Alonso JC, Perez RA, Coto E. Hla antigens in psoriatic arthritis subtypes of a Spanish population. *Annals of Rheumatic Disease* 1990; 49:318-319.
- 37 – Krammer GM, Sotern A, Gibson DJ, Schur PH. Psoriatic arthritis: a clinical immunologic and Hla study of 100 patients. *Sem Arthritis Rheum* 1979; 9:75-97.
- 38 – Khan MA. A worldwide overview: the epidemiology of HLAB27 and associates spondyloarthroarthritides. *The Spondyloarthroarthritides*. Edited by Calin A. and Taurog JD. Oxford Up 1998: 17-26.
- 39 – Gonzalez-Roces S, Alvarez MV, Gonzales S, Deye A, Makni H, Woodfield L, HousanL, Konekov V, Abbadi MC, Grunnet N, Coto E, Lopez-Larea C. HLAB27 polymorphism and world wise susceptibility to ankylosing spondylitis tissue antigens 1997;49:116-123.
- 40 – Camp RDR. Psoriasis. In: Champion R, Burton J, Ebling FGJ. Eds. *Textbook of Dermatology*, E Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1992:1391-457.
- 41 – Elder JT, Naiv Rp, Voorhees JJ, Epidemiology and the genetics of psoriasis. *J Invest. Dermatol*. 1994; 102:24s-27s
- 42 – Costello P, Bresnihan B, O'Farrelly C, et al. Predominance of CD8+ T lymphocytes in psoriatic arthritis *J Rheumat* 1999; 26:1117-1124.
- 43 – Laloux L Voisin MC, Allain J, et al. Immunohistological study of enthuses in spondyloarthropathies: comparison in rheumatoid arthritis and osteo arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60:316-321.

- 44 – Costello PJ, Winchester RJ, Curran SA et al. Psoriatic arthritis joint fluids are characterized by CD8 and CD4 T cell clonal expansions appear antigen driven J Immunol. 2001; 166:2878-2886.
- 45 – Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennet WS, Strominger JL, Wiley DC. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens, Nature 1987; 329:512-8
- 46 – Wu TT, Kabat EA, An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity. J Exp Med 1970; 132:211-50
- 47 – Parham P, Lomen CE, Lawlor DA et al. The nature of polymorphism in HLA- A, B, C molecules. Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85:4005-9
- 48 – Benjamin RJ, Parham P. Gut by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. Immunol Today 1990; 11; 137-42
- 49 – Keat A: Is spondylitis caused by Klebsiella? Immunol Today 1986; 7: 144-9
- 50 – Lopez de Castro JA. HLA B27 and HLA A2 subtypes: Structure, evolution and function. Immunol Today 1989; 10:239-46
- 51 – Salvarani C, Macchioni PL, Zizzi F, Mantovani W, Rossi F, Baricchi R, Ghirelli L, Frizziero L, Portioli I. Clinical subgroups in Italian patients with psoriatic arthritis. Clin Exp Rheumatol 1989; 7:391-396
- 52 – Tillikainen A, Lassus A, Karvonen J, Vartainen P, Julin M. Psoriasis and HLA-CW6. Br J Dermatol 1980; 102:179-84
- 53 – López de Castro JA. HLA-B27 and HLA-B73 polymorphism and its role on antigenicity, peptide presentation and disease susceptibility. Clin Rheumatol 1996;(suppl ) 15:67-71
- 54 – Nasution AR, Mardjuadi A, Kunmartini S, Suryadyadhana NG, Setyohadi B, Sudarsono D, Lardy NM and Feltkamp TEW. HLA-B27 subtypes positively and negatively associated with spondyloarthropathy. J Rheumatol 1997; 24:111-4
- 55 – Breur-Vriesendorp BS, Dekker-Saeys AJ, Ivanyl P. Distribution of HLA-B27 subtypes in patients with ankylosing spondylitis: the disease is associated with a common determinant of the various B27 molecules. Ann Rheum Dis 1987; 46:353-6
- 56 – Dougados M, Van Der Linden S, Juhlin R, Hultfeldt B, Amor B, Callin A, Cats A, Dijkmans B, Pasero G, and the European Spondyloarthropathy study group: the European Spondyloarthropathy study group preliminary criteria for the classification of spondyloarthropathy. Arthritis Rheum. 1991, 34: 1218-1227



- 57 – Veale D, Rodgers S, Fitzgerald O. Classification of clinical subsets in psoriatic arthritis. *Br.J. Rheumatol.* 1994; 33:133-138
- 58 – Marsal S, Armadans-Gil L, Martinez M et al. Clinical radiographic and Hla associations as markers for different patterns of psoriatic arthritis. *Br J Rheumatol.* 1999; 38:332-337
- 59 – Gladman DD, Brubacher B, Buskila D et al. Psoriatic spondyloarthropathy in men and woman: a clinical, radiographic and Hla study. *Clin Invest Med* 1992; 15:371-375
- 60 – Helliwel P, Marchesoni A, Peters M et al. A re-evaluation of the osteoarticular manifestations of psoriasis. *Br J Rheumatol.* 1991; 30:339-345.
- 61 – Helliwel P, Hetthen J, Sokoll K et al. Joint symmetry in early and late rheumatoid and psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 865-871.
- 62 – Harrison BJ, Barret EM, Scott DG, Symmons DP. Presence of psoriasis does not influence the presentation or short-time outcome of patients with early inflammatory polyarthritis PMID; *J Rheumatol.* 1997 Sep;24(9):1744-9. 9292798 (PubMed- indexed for Medline)
- 63 – Jenkinson T, Armas J, Evison G et al. The cervical spine in psoriatic arthritis: a clinical e radiological study. *Br J Rheumatol.* 1994;33:255-259.
- 64 – Salvarani C, Macchioni P, Cremonesi T. et al. The cervical spine in patients with psoriatic arthritis: a clinical, radiological and immunogenetic study. *Ann Rheum Dis* 1992;51:73-77.
- 65 – Ball J.: Enthesopathy of rheumatoid and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 1971;30:213-223.
- 66 – Mc Gonagle D, Gibbon W. Classification of inflammatory arthritis by entesite. *Lancet.*1998;352:1137-1140.
- 67 – Scarpa R, Peripheral enthesopathies in psoriatic arthritis. *J Rheumatol* 1998; 25:2259-2290.
- 68 – Cantini F, Salvarani C, Olivieri I. et al Distal extremity swelling with pitting edema in psoriatic arthritis: a case-control study. *Clin Exp Rheumatol.* 2001; 19:291-296.
- 69 – Bennet RM. Psoriatic arthritis. In: McCarty DJ, ed. *Arthritis and Related Conditions.* Philadelphia: Lea & Febiger, 1979:645.
- 70 – Vasey FB, Espinoza LR. Psoriatic arthritis. In: Calin A ed. *Spondyloarthropathies.* Orlando: Grune and Stratton. 1984:151-85

- 71- McGonagle D, Conaghan PG, Emery P. Psoriatic arthritis: a unified concept twenty years on. *Arthritis Rheum* 1999;42: 1080-6.
- 72 – Fournie B, Crognier L, Arnaud C, Zabraniecki L, Lascaux-Lefebvre. Proposed classification criteria of psoriatic arthritis. A preliminary study in 260 patients. *Rev Rhum Engl Ed* 1999;66:446-56.
- 73 – Taylor WJ, Marchesoni A, Arreghini M, Sokol K, Helliwell Ps. A comparison of the performance characteristics of classification criteria for the diagnosis of psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum*, 2005 (in press).
- 74 - OLERUP, O. HLA-B27 typing by a group-specific PCR amplification. *Tissue Antigens*, 43:253-6, 1994.
- 75 – Montserrat V, Marti M, Lopez de Castro JA. Allospecific T cell epitope sharing reveals extensive conservation of the antigenic features of peptide ligands among HLA-B27 subtypes differentially associated with spondyloarthritis. *J Immunol*. 2003 Jun 1; 170(11): 5778-85.
- 76 – Armstrong RD, Panayi GS, Welsh KI: Histocompatibility antigens in psoriasis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 1983, 42:142-146
- 77 – O'Donnell BF, O'Loughlin S, Codd MB, Powell FC: HLA typing in Irish psoriatics. *Irish Med. J.* 1993, 86:65-67
- 78 – Khan MA, Ball EJ.: Genetic aspects of ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2002 Sep;16(4):675-690
- 79 – Lawrence RC, Hochberg , Kelsey JL, et al.: Estimate of the prevalence of selected arthritis and musculoskeletal diseases in the United States. *J Rheumatol* 1989, 16:427-41.
- 80 – Sakkas LI, Loquemann N, Bird H, Vaughan RW, Welsh KI, Panayi GS: HLA Class II and T cell receptor gene polymorphism in psoriatic arthritis and psoriasis. *J Rheumatol* 1990, 17:1487-90.
- 81 – Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H, CASPAR Study Group: Classification criteria for psoriatic arthritis: Development of new criteria from a large international study. *Arthritis & Rheumatism*. Agosto 2006, V.54;8:2665-2673.
- 82 – Lopez-Larrea C, Blanco-Gelaz MA, Torre-Alonso JC, Armas JB, Suarez-Alvarez B, Pruneda L, Couto AR, Gonzalez S, Lopez-Vázquez A, Martinez-Borra J. Research article: [Contribution of KIR3DL1/3DS1 to ankylosing spondylitis in human leukocyte antigen-B27 Caucasian populations. \*Arthritis Research & Therapy\* 2006, 8:R101 \(28 June 2006\)](#)

- 83 - [Plunkett A](#), [Marks R](#). A review of the epidemiology of psoriasis vulgaris in the community. *Australas J Dermatol*. 1998 Nov; 39(4): 225-32.
- 84 - M. J. Peixoto, T. Gonzales, H. Spinola, A. R. Couto, M. Gantes Mora, A. Brehm, M. R. Santos, F. Garret, J. Bruges Armas. Polimorfismo do alelo HLA-B27 no desenvolvimento das espondiloartropatias. *Acta Méd Port* 2005; 18: 283-294
- 85 - Gonzalez Rocas S, Lopez-Larrea C: Contribution of HLA-B27 polymorphism to AS development In: López-Larrea C, editor. HLA-B27 in the development of Spondyloarthropathies. Austin: R.G. Landes Company 1997;p. 113-133
- 86 – Mease P, Psoriatic Arthritis Update. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases • Volume 64, Numbers 1 & 2, 2006*
- 87 - Dhaliwal JS, Too CL, Lisut M, Lee YY, Murad S:HLA-B27 polymorphism in the Malays. *Tissue Antigens* 2003;62(4):330-2
- 88 - Wucherpfennig KW: Presentation of a Self-peptide in Two Distinct Conformations by a Disease-associated HLA-B27 Subtype. *J Exp Med* 2004;199(2):151-4
- 89 - Felix José Trentin Filho, Ekkehard Genth e Carlos Alberto von Mühlen: Artrite psoriásica: manifestações clínicas e associações com o locus B do sistema HLA\*. *Rev Bras Reumatol* 1999; Vol. 39(5):263-8.