



Dermatite atópica e filagrina: restaurando barreiras para o controle da doença

Atopic dermatitis and filaggrin: restoring barriers to control the disease

Renata N. Cardili¹, Janaina M.L. Melo¹, Ana M. Roselino¹, Adriana S. Moreno¹, Ana Paula M. Castro², L. Karla Arruda¹

A dermatite atópica (DA) é elencada como uma das dermatoses inflamatórias mais comuns, com prevalência mundial variando entre 1% e 20%¹. Na América Latina, incluindo o Brasil, a prevalência média da DA entre adolescentes e crianças, avaliada pelo *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (ISAAC), está entre 10,6% e 11,3%, respectivamente². O impacto desta doença na qualidade de vida dos pacientes e suas famílias é marcante¹.

Defeitos na barreira cutânea em pacientes com DA, que poderiam constituir a alteração primária na doença, tem sido identificados em estudos recentes. Esses defeitos levariam à maior penetração de alérgenos, micro-organismos, particularmente *Staphylococcus aureus* e substâncias irritantes, que por sua vez estimulariam a resposta imune na direção de um perfil Th2. Suporte para esta teoria vem da descoberta da associação da DA com mutações no gene da Filagrina (*Filaggrin, filament-aggregating protein/FLG*), proteína essencial para a formação e manutenção da integridade da barreira cutânea³.

Muitos dos defeitos da barreira cutânea que têm sido descritos na DA têm origem no estrato córneo. Neste contexto, é importante ressaltar que a epiderme apresenta estruturação altamente organizada, cuja proliferação celular se inicia na camada basal, com progressão ascendente para originar o estrato córneo, configurando as camadas intermediárias – espinhosa e granulosa. As células na camada granulosa liberam precursores lipídicos incluindo glicosilceramida, esfingomielina e fosfolípidos, que são processados enzimaticamente para formarem colesterol, ácidos graxos e principalmente ceramidas, os lipídeos predominantes na pele humana. As células então perdem o seu núcleo, para constituir lamelas ricas em lipídeos e proteínas, que, organizadamente, serão empilhadas para constituir o estrato córneo. Lipídios hidrofóbicos em dupla camada fortalecem a integridade do estrato córneo e auxiliam na manutenção da hidratação na pele eutrófica⁴ (Figura 1). Pelo menos 60 genes presentes em um cluster no cromossomo 1q21 designado como *Epidermal differentiation complex* (EDC) foram identificados, os quais codificam proteínas importantes para a diferenciação terminal da pele. Dentre estas proteínas, destaca-se a Filagrina, além de outras proteínas incluindo *Serine protease inhibitor*, *Kazal type 5* (SPINK5), *Loricrina* (LOR), e *Involucrina*^{3,5}.

A patogênese da DA inclui ativação de linfócitos de perfil Th2, e produção de citocinas IL-4, IL-5, IL-13, e IL-31, particularmente nas fases iniciais e exacer-

¹ Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, FMRP-USP.

² Instituto da Criança, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, IC-FMUSP.

Correspondência para:
Luisa Karla Arruda
E-mail: karla@fmrp.usp.br

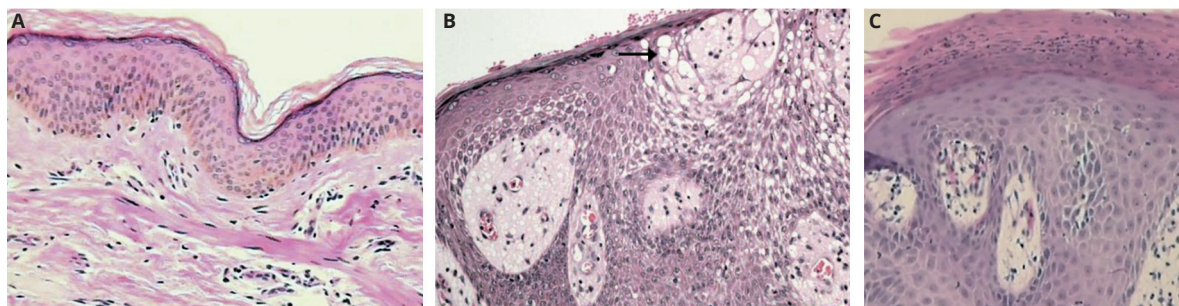


Figura 1 A) Fotomicrografia de biópsia de pele normal, demonstrando a organização da epiderme em camadas basal, espinhosa, granulosa e estrato córneo. B) Biópsia de lesão de dermatite atópica aguda, mostrando dermatite espongíotica acentuada e formação de vesículas (seta) na epiderme. C) Corte de pele com psoríase revelando acantose regular, paraceratose, presença de debris neutrofilicos na camada córnea (microabscessos) e dilatação das papilas dérmicas. Coloração por hematoxilina eosina (X100). Histopatologia e imagens por Dr. Marcus Vinícius de Castro Barros, médico assistente do Serviço de Patologia do Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

bações da doença. Resposta Th1 tem sido também identificada nas fases crônicas, em conjunto com a resposta Th2. A produção de citocinas por queratinócitos, particularmente TSLP (*Thymus stromal lymphopoietin*) e IL-33, contribuem para a patogênese da doença^{5,6}. Está bem estabelecido que a inflamação crônica tem papel importante em desencadear as manifestações clínicas, incluindo prurido e lesões cutâneas características da DA, e em promover alterações na barreira cutânea⁶.

Estudo recente avaliou a eficácia do Dupilumabe em pacientes adultos com DA moderada a grave⁷. O Dupilumabe é um anticorpo monoclonal humanizado que bloqueia a cadeia alfa do receptor da IL-4 compartilhada com IL-13, e dessa forma leva à supressão da sinalização intracelular por IL-4 e IL-13. O bloqueio da ação de IL-4 e IL-13 por Dupilumabe, prescrito por 4 ou 12 semanas, resultou em melhora marcante das lesões cutâneas e na redução substancial do prurido em pacientes com DA. A melhora clínica foi acompanhada da redução nos níveis de biomarcadores de ativação Th2, como TARC (*Thymus and activation-regulated chemokine*) e IgE total, e de proliferação como Queratina-16, além de melhora do transcriptoma nas lesões cutâneas. Os resultados expandem o benefício potencial desta nova terapia biológica além da asma, para uma segunda doença alérgica, a DA. Estudo prévio demonstrou a eficácia do Dupilumabe em pacientes com asma moderada a grave, com níveis elevados de eosinófilos⁸.

A contribuição relativa da disfunção de barreira e da desregulação imunológica para o fenótipo de DA permanece em debate⁶. Mutações no gene da Filagrina estão associadas à formação do estrato córneo desorganizado, com estrutura errática e arquitetura anormal da dupla camada; à alteração no perfil de distribuição de

lipídeos; a aumento do pH cutâneo, da proteólise e da perda transepitelial de água; e à maior susceptibilidade a infecções por bactérias, vírus e fungos³. De forma interessante, em modelos de pele humana e culturas de queratinócitos foi demonstrado que histamina e uma variedade de citocinas, incluindo IL-4, IL-17, IL-22, IL-25 e IL-31, têm a capacidade de diminuir a produção de Filagrina ou mesmo reprimir a expressão do gene da Filagrina⁵, sugerindo um papel integrado desses mecanismos no desenvolvimento da doença.

Na pele normal, a Filagrina é sintetizada como uma pro-proteína (pro-filagrina) de alto peso molecular, com aproximadamente 400 kDa, nas células da camada granulosa. Sua estrutura é composta de 10 a 12 monômeros repetitivos de peso molecular de 37 kDa, além de uma porção N-terminal que contém domínio de ligação ao cálcio S-100, e uma porção C-terminal de função desconhecida. Como pro-proteína, não tem atividade biológica, entretanto, um processo de defosforilação causa liberação dos monômeros individuais, que são a forma ativa da proteína. Monômeros da Filagrina têm importante ação no agrupamento das lamelas que constituirão a camada córnea, de forma que elas fiquem organizadas de maneira paralela e compacta. Após realizarem esta função, os monômeros são posteriormente degradados por cisteína-peptidases, gerando *Natural Moisturizing Factors* (NMFs), que incluem aminoácidos livres, ácido urocânico (UCA) e ácido pirrolidônico carboxílico (PCA). Os NMFs promovem captação e aprisionamento da água, e manutenção do pH ácido da pele, essencial para prevenir a adesão e penetração de micro-organismos³.

Pelo menos 47 mutações com perda de função já foram identificadas no gene que codifica a Filagrina em

pacientes com DA. As duas mutações originalmente descritas, R501X e 2282del4, mostraram frequência de 80% em pacientes irlandeses com DA, entretanto perfis distintos de mutações foram identificados em pacientes da Europa e da Ásia³. Não há estudos publicados descrevendo mutações no gene da Filagrina em amostragem brasileira de indivíduos saudáveis ou em pacientes com DA. Embora a descoberta de mutações no gene da Filagrina represente um grande avanço no entendimento da DA, ela não explica toda a patogênese. Mesmo entre pacientes com DA grave, mutações na Filagrina têm sido identificadas em 50% dos pacientes^{3,9}. É possível que a redução da expressão de outras proteínas estruturais como Involucrina, Loricrina, Filagrina-2 e Hornerina na pele de pacientes com DA, quando comparada à pele normal, tenha papel relevante⁵. Além disso, outras alterações encontradas em pacientes com DA podem comprometer a função da barreira cutânea, incluindo deficiências na imunidade inata, com diminuição de peptídeos antimicrobianos como as beta-defensinas e catelicidinas; níveis diminuídos de ceramidas ou mudanças na composição das ceramidas; e diminuição de proteínas importantes na integridade das *tight junctions* na epiderme com as da família das claudinas. Entender como esses eventos acontecem ao longo do tempo será primordial para identificar novos alvos terapêuticos a serem usados na DA⁵.

IMPLICAÇÕES PARA O TRATAMENTO DA DERMATITE ATÓPICA

O tratamento da DA, particularmente de pacientes com formas moderadas e graves da doença, ainda permanece um desafio. É possível restaurar a barreira cutânea na DA? Tem sido demonstrado que o tratamento anti-inflamatório da DA com corticosteroides tópicos ou inibidores da calcineurina leva ao aumento da expressão da Filagrina, e diminuição da infecção por *S. aureus*. Além do tratamento medicamentoso, estratégias voltadas à identificação de fatores causais e desencadeantes da reação inflamatória na DA para cada paciente em particular poderiam ter papel importante na restauração da barreira cutânea. É possível se usar hidratantes e emolientes com formulação que inclui produtos da degradação da Filagrina, como PCA ou NMFs, e/ou ceramidas e outros elementos lipídicos em sua composição, promovendo ação direcionada à restauração da barreira cutânea na DA^{4,5}.

Vários estudos documentam de forma consistente que, mesmo a pele de pacientes com DA que tem aspecto macroscópico normal, apresenta alterações da barreira cutânea, além de infiltração de linfócitos Th2 e produção de citocinas pró-inflamatórias³⁻⁵. A implicação destes achados é que o tratamento proa-

tivo diário em longo prazo (hidratação, prevenção de infecções, uso profilático de corticoide ou inibidor de calcineurina tópicos, duas vezes por semana, em áreas previamente afetadas, atenção a aspectos psicossociais, etc.), deve ser encorajado junto aos pacientes e suas famílias, em oposição ao tratamento reativo, apenas quando os sintomas aparecem⁵. Estudos mostram que é frequente a demora em iniciar o tratamento após o início dos sintomas, por razões incluindo falta de um plano de ação sistemático, não disponibilidade de medicamentos, medo do uso de certos medicamentos como corticosteroides tópicos, dentre outros⁵. É importante orientação detalhada sobre a doença, sua história natural, e tratamento precoce e adequado das exacerbações.

O papel da Vitamina D na dermatite atópica e em outras doenças alérgicas tem sido extensamente investigado, e estudos têm demonstrado potenciais efeitos da Vitamina D em aumentar a atividade dos peptídeos antimicrobianos e suprimir a resposta inflamatória, que poderiam indiretamente contribuir para restaurar a barreira cutânea¹⁰. Neste número do BJA, Robl et al. discutem estudos atuais sobre o impacto da deficiência de Vitamina D no diagnóstico e gravidade da dermatite atópica¹¹. Os autores concluem que a suplementação da Vitamina D pode trazer benefícios no tratamento da DA, entretanto que mais estudos se fazem necessários para determinar se existe alguma relação entre os níveis de Vitamina D e a gravidade da DA.

Por fim, em estudo recente, foi testada a construção de monômero de Filagrina ligado de forma covalente a peptídeo que promove penetração celular na epiderme (RMR). A aplicação *in vitro* de FLG+RMR recombinante em modelo de tecido de epiderme humana reconstruída resultou na penetração no estrato granuloso, camada responsável pela deficiência de Filagrina¹². Além disso, aplicação tópica *in vivo* de FLG+RMR em camundongos *flaky tail* deficientes em Filagrina levou à internalização e processamento de FLG+RMR, com restauração do fenótipo normal. Estes resultados encorajadores sugerem que monômeros de Filagrina conjugados a RMR, aplicados topicamente, são capazes de penetrar na epiderme, serem internalizados e processados em tamanho semelhante aos peptídeos encontrados na barreira cutânea natural, para restaurar a função necessária da barreira cutânea, podendo ter utilidade terapêutica em pacientes com DA.

CONCLUSÕES

Há evidências consistentes de que defeitos na barreira cutânea contribuem para a patogênese da DA. Tratamentos tópicos que restaurem a barreira cutânea constituem uma importante estratégia no manejo de

pacientes com DA. Mutações no gene que codifica a Filagrina constituem-se no fator genético mais importante associado ao risco aumentado não só de ocorrência de DA, mas também de desenvolvimento de formas mais graves e de início mais precoce de DA, e de surgimento de asma e de alergia a certos alimentos, particularmente amendoim, em pacientes com DA^{3,13}. É possível que a análise de mutações no gene da Filagrina em pacientes com DA possa ser útil clinicamente, ao identificar um subgrupo de pacientes que se beneficiarão com as novas terapêuticas para restauração da barreira cutânea baseadas na reposição da Filagrina. Essas novas terapêuticas têm potencial de fornecer uma solução mais permanente do que se dispõe atualmente.

REFERÊNCIAS

1. Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2008;358(14):1483-94.
2. Solé D, Mallol J, Wandalsen GF, Aguirre V; Latin American ISAAC Phase 3 Study Group. Prevalence of symptoms of eczema in Latin America: results of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase 3. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2010;20(4):311-23.
3. Irvine AD, McLean WH, Leung DY. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med.* 2011;365(14):1315-27.
4. Agrawal R, Woodfolk JA. Skin barrier defects in atopic dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014;14(5):433.
5. Czarnowicki T, Krueger JG, Guttman-Yassky E. Skin barrier and immune dysregulation in atopic dermatitis: an evolving story with important clinical implications. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014;2(4):371-9.
6. Eyerich K, Novak N. Immunology of atopic eczema: overcoming the Th1/Th2 paradigm. *Allergy.* 2013;68(8):974-82.
7. Beck LA, Thaçi D, Hamilton JD, Graham NM, Bieber T, Rocklin R, et al. Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2014;371(2):130-9.
8. Wenzel S, Ford L, Pearlman D, Spector S, Sher L, Skobieranda F, et al. Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels. *N Engl J Med.* 2013;368(26):2455-66.
9. Mohiuddin MS, Ramamoorthy P, Reynolds PR, Curran-Everett D, Leung DY. Increased compound heterozygous filaggrin mutations in severe atopic dermatitis in the United States. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2013;1(5):534-6.
10. Muehleisen B1, Gallo RL. Vitamin D in allergic disease: shedding light on a complex problem. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(2):324-9.
11. Robl R, Carvalho VO, Uber M, Abagge KT, Pereira RM. Vitamina D e dermatite atópica: o que há de novo? *Braz J Allergy Immunol.* 2013;1(5):261-6.
12. Stout TE, McFarland T, Mitchell JC, Appukuttan B, Stout JT. Recombinant filaggrin is internalized and processed to correct filaggrin deficiency. *J Invest Dermatol.* 2014;134(2):423-9.
13. McAleer MA, Irvine AD. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131:280-91.