



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

MARIANA RIGHETTO DE RÉ LAI

**SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO URSODESOXICÓLICO
NA MODULAÇÃO DO LPB SÉRICO E NA
GRAVIDADE CLÍNICA DA PSORÍASE: UM ESTUDO
TIPO PROVA DE CONCEITO**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Amante Miot

**Botucatu
2025**

Mariana Righetto de Ré Lai

Suplementação de Ácido Ursodesoxicólico na
modulação do LPB sérico e na gravidade clínica da
psoríase: um estudo tipo prova de conceito

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Fisiopatologia em Clínica
Médica

Orientador: Prof.Dr. Hélio Amante Miot

Botucatu
2025

L185s

Lai, Mariana Righetto de Ré

Suplementação de Ácido Ursodesoxicólico na modulação do LPB sérico e na gravidade clínica da psoríase: Um estudo tipo prova de conceito / Mariana Righetto de Ré Lai. -- Botucatu, 2025

105 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientador: Hélio Amante Miot

1. Psoríase. 2. Microbioma intestinal. 3. Ácido biliar. 4. Ácido
Ursodesoxicólico. 5. Disbiose. I. Título.

IMPACTO ESPERADO PARA A SOCIEDADE

Português:

A tese de doutorado visa a possibilidade da utilização de uma intervenção complementar efetiva e segura no tratamento da psoríase, uma vez que ao modular o microbioma intestinal, é possível melhorar o controle da doença e comorbidades associadas, sem envolvimento de imunossupressão. Ademais, com seu uso, é possível reduzir os dispêndios da terapia, a qual é frequentemente de longo prazo.

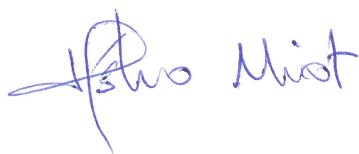
English:

The doctoral thesis aims at the possibility of using an effective and safe complementary intervention in the treatment of psoriasis, since by modulating the intestinal microbiome, it is possible to improve control of the disease and associated comorbidities, without the involvement of immunosuppression. Furthermore, with its use, it is possible to reduce the costs of therapy, which is often long-term.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE MARIANA RIGHETTO DE RÉ LAI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 23 dias do mês de janeiro do ano de 2025, às 9h, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de MARIANA RIGHETTO DE RÉ LAI, intitulada **SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO URSODESOXICÓLICO NA MODULAÇÃO DO LPB SÉRICO E NA GRAVIDADE CLÍNICA DA PSORÍASE: UM ESTUDO TIPO PROVA DE CONCEITO**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. HELIO AMANTE MIOT (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. PRISCILA NERI LACERDA (Participação Virtual) do(a) Hospital Santa Izabel / Santa Casa de Misericórdia da Bahia, Prof. Dr. GABRIEL PERES (Participação Virtual) do(a) Vera Cruz Hospital / Campinas-SP. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. HELIO AMANTE MIOT



AGRADECIMENTOS

Essa jornada pode ter sido desafiadora, contudo, extremamente gratificante e prazeroso estudar grandes paixões minhas. E nada disso teria sido possível sem o apoio e a inspiração de pessoas muito especiais.

Agradeço, em primeiro lugar, à minha família, meu porto seguro e fonte de força em todos os momentos. Ao meu marido Sean, que esteve ao meu lado em cada passo desta caminhada, oferecendo amor, paciência e incentivo. Sua compreensão nas noites longas e finais de semana dedicados ao trabalho foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Aos meus pais e irmão, minha gratidão é eterna. Obrigada por acreditarem em mim mesmo quando duvidei de mim mesma. Vocês me ensinaram o valor da dedicação e da perseverança, e essas lições foram o alicerce desta conquista.

Ao meu orientador, Dr. Hélio, meu sincero agradecimento por sua orientação impecável, paciência e dedicação. Suas críticas construtivas e sua paixão pelo conhecimento foram verdadeiras inspirações ao longo deste percurso. Aprendi mais do que imaginava, e sou profundamente grata por ter tido a oportunidade de trabalhar sob sua orientação.

Ainda, gostaria de agradecer e expressar meu profundo reconhecimento à Doutora Tatiana C. Figueira Polo por sua generosidade, apoio e valiosas contribuições para esta pesquisa. Sempre disposta a auxiliar, teve um impacto significativo na construção desta tese. Sou imensamente grata pelo seu tempo, dedicação e amizade.

Agradeço a FUNADERSP pelo apoio financeiro e pelos recursos disponibilizados para a realização desta pesquisa. O suporte foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para que este sonho se tornasse realidade. Levo cada palavra de apoio e cada gesto de carinho em meu coração, e compartilho esta vitória com todos vocês.

Com carinho, Mariana

RESUMO

INTRODUÇÃO: A composição do microbioma intestinal (MI) está associado à doenças inflamatórias e síndrome metabólica. Há particularidades no MI dos pacientes com psoríase, as quais podem refletir em uma disbiose intestinal, além de síndrome metabólica ser prevalente nesses pacientes. Ácido ursodesoxicólico (UDCA) administrado via oral pode interferir na composição do MI e contribuir para os parâmetros metabólicos nesses pacientes.

OBJETIVOS: Identificar alterações na composição do MI, parâmetros clínicos e proteína de ligação a lipopolissacarídeos (LPB) após suplementação oral de UDCA em pacientes com psoríase.

MÉTODOS: Estudo quasi-experimental, aberto, envolvendo 40 homens adultos com psoríase divididos em dois grupos. O grupo intervenção recebeu ácido ursodesoxicólico oral 300mg/d por 28 dias, e o grupo controle não recebeu nenhuma intervenção. Desfechos: níveis séricos de LPB, além de dados clínicos e análise metagenômica fecal, em D0 e D28.

RESULTADOS: Houve aumento na riqueza do MI ($p < 0,01$) após tratamento com UDCA, com aumento médio de 40 espécies bacterianas, bem como redução média de 19% na carga bacteriana do filo Firmicutes ($p = 0,017$). Verificou-se ainda uma maior redução do PASI no grupo tratado em comparação ao grupo controle: $-1,0$ vs $-0,3$ ($p = 0,037$). Contudo, não houve diferença entre os grupos quanto à variação do LPB ($p = 0,166$).

CONCLUSÃO: UDCA oral por 28 dias modificou a diversidade do MI e promoveu discreta melhora clínica em pacientes com psoríase. Estudos com seguimentos mais longos e envolvendo pacientes sem tratamento sistêmico, podem revelar benefícios adicionais da modificação do MI com UDCA oral na psoríase.

Palavras chave: Psoríase; Microbioma intestinal; Ácido biliar; Ácido ursodesoxicólico; Disbiose.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The composition of the gut microbiome (GM) is associated with inflammatory diseases and metabolic syndrome. Patients with psoriasis present specific GM characteristics that may reflect gut dysbiosis, and metabolic syndrome is prevalent among these patients. Oral administration of ursodeoxycholic acid (UDCA) may influence GM composition and improve metabolic parameters in these patients.

OBJECTIVES: To identify changes in GM composition, clinical parameters, and lipopolysaccharide-binding protein (LBP) after oral UDCA supplementation in patients with psoriasis.

METHODS: This was an open-label, quasi-experimental study involving 40 adult male patients with psoriasis, divided into two groups. The intervention group received oral ursodeoxycholic acid 300 mg/day for 28 days, while the control group received no intervention. Outcomes included serum LBP levels, clinical data, and fecal metagenomic analysis at D0 and D28.

RESULTS: There was an increase in GM richness ($p < 0.01$) after treatment with UDCA, with an average increase of 40 bacterial species, as well as an average reduction of 19% in the bacterial load of the *Firmicutes* phylum ($p = 0.017$). Additionally, a greater reduction in PASI was observed in the treated group compared to the control group: -1.0 vs. -0.3 ($p = 0.037$). However, there was no difference between the groups regarding the variation in LBP levels ($p = 0.166$).

CONCLUSION: Oral UDCA for 28 days modified GM diversity and promoted slight clinical improvement in patients with psoriasis. Longer follow-up studies involving patients not undergoing systemic treatment may reveal additional benefits of GM modulation with oral UDCA in psoriasis.

Keywords: Psoriasis; Gut microbiome; Bile acid; Ursodeoxycholic acid; Dysbiosis.

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC: Ácidos Graxos de Cadeia Curta;

AGCM: Ácidos Graxos de Cadeia Média;

CA: Circunferência abdominal;

CQ: Circunferência do quadril;

DM: Diabetes *Mellitus*;

D0: Dia zero (inclusão)

D28: Dia vinte oito (fim da intervenção)

DNA: Ácido Desoxirribonucleico;

ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*;

IFN- γ : Interferon gama;

IL1: Interleucina 1;

IL6: Interleucina 6;

IL8: Interleucina 8;

IL12: Interleucina 12;

IMC: Índice de Massa Corporal;

LPB: Proteína de ligação de lipopolissacarídeo;

LPS: Lipopolissacarídeo;

MI: Microbioma Intestinal;

NGS: Sequenciamento de próxima geração, do inglês: *Next-Generation Sequencing*;

PASI: Índice de área e gravidade da psoríase, (*Psoriasis Area and Severity Index*);

PCRqt: Proteína C reativa quantitativa ultrassensível;

PLS: Componente *partial least squares*;

PSO: paciente com psoríase;

rRNA: Ácido Ribonucleico Ribossômico

SM: Síndrome Metabólica;

Th17: Célula T *helper* 17

Th22: Célula T *helper* 22

TLR4: Receptor do tipo 4, (*Toll-like receptor 4*);

TNF- α : Fatores de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor Alpha*);

UDCA: Ácido Ursodesoxicólico

UTN: Unidade Taxonômica;

UV: Ultravioleta;

SUMÁRIO

Revisão de literatura.....	07
Proposta.....	17
Objetivo geral	18
Objetivos específicos	18
Métodos	20
Resultados	24
Discussão	28
Conclusão	31
Perspectivas	32
Referências bibliográficas	33
Artigo Científico 1 – Caracterização do microbioma intestinal em onívoros eutróficos, obesos e vegetarianos.....	45
Artigo Científico 2 – Caracterização do microbioma intestinal de homens brasileiros com psoríase em comparação com onívoros e vegetarianos.....	55
Artigo Científico 3 – <i>Gut microbiome diversity and serum levels of lipopolysaccharide-bound protein (LPB) in men with psoriasis under different systemic therapies</i>	64
Anexos.....	67
Produções científicas concomitantes ao doutorado.....	87

REVISÃO DE LITERATURA
Psoríase e Microbioma intestinal

1. INTRODUÇÃO

1.1. Psoríase

Psoríase é doença inflamatória crônica, recorrente, imunologicamente mediada, que acomete cerca de 2 a 4% da população mundial. No Brasil, a prevalência é de cerca de 1,3%, sendo que a incidência dobrou entre os anos de 1970-2000. Sua origem não é totalmente estabelecida, mas associa-se à uma predisposição genética, além de correlação com fatores imunológicos e/ou ambientais, tais como infecções, medicações, traumas mecânicos e estresse emocional. (1-3)

Na maioria dos casos, denomina-se de psoríase vulgar e manifesta-se por placas eritemato-descamativas (figuras 1-3), bem delimitadas, predominantemente em áreas de trauma constante tais como cotovelos, joelhos, região pré-tibial, cor cabeludo e região sacral. Tamanho e quantidade são variáveis e, frequentemente, são pruriginosas. Outros possíveis padrões clínicos são: invertida, que ocorre em áreas intertriginosas; *Seboríase*, quando ocorre em áreas seborreia; em gotas, que são pequenas pápulas eritemato-escamosas principalmente em tronco e raiz de membros; Eritrodérmica, quando há acometimento de mais de 90% da superfície corporal e pustulosa, a qual é subdividida em generalizada (Von Zumbusch), generalizada na gravidez e palmoplantar. Outras formas menos frequentes são a psoríase na infância e a psoríase artropática. (4)



Figuras 1-3. Psoríase em placas. Placas eritemato-descamativas, predominantemente em áreas extensoras. Arquivo do Departamento de Dermatologia UNESP

Do ponto de vista histopatológico, há variações de acordo com o estágio da lesão, refletindo a hiperproliferação e a inflamação crônica da pele. O achado mais prevalente é infiltração de células inflamatórias perivasculares e dérmicas, seguido por dilatação vascular, ausência de camada granular, alongamento regular da crista da rede, alongamento e edema das papilas dérmicas, paraqueratose, afinamento suprapapilar, pústulas espongiformes de Kogoj e microabscesso de Munro (5).

Relaciona-se a um alto grau de morbidade, singularmente em decorrência dos estigmas adquiridos pela aparência da pele e pelos efeitos colaterais das medicações empregadas, culminando em uma redução da qualidade de vida desses pacientes. Ademais, além desses custos sociais, há os dispêndios da terapia, frequentemente de longo prazo, contribuindo para um grande impacto nos sistemas de saúde. (6)

PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*) é o principal instrumento utilizado para identificação da gravidade da doença. Avalia-se quatro áreas do corpo: cabeça, tronco, extremidades superiores e inferiores, pontuando-as separadamente em uma escala de zero à quatro quanto a presença de eritema, infiltração e descamação, combinado com a área de superfície cutânea envolvida. Obtém-se um valor final entre 0 a 72, sendo que valores maiores associam-se à um maior comprometimento da qualidade de vida. (7,8)

Subentende-se que a psoríase, caracterizada pela hiperproliferação de queratinócitos que acumulam-se sob na superfície da derme, seja correlacionada a superprodução de citocinas inflamatórias por células T e sofra exacerbação quando ocorre uma exposição à superantígenos bacterianos, visto que o metabolismo de bactérias comensais regulam a expressão dessas células e influenciam o equilíbrio entre as células pró e anti-inflamatórias. (9) Portanto, exercem grande influência sobre o sistema imune, conforme visualiza-se na figura 4. (10) Por isso, atualmente, direciona-se o tratamento para as principais vias cutâneas da psoríase, com ação especial contra o TNF- α , IL-12 e produtos de estimulação Th22 e Th17, além do uso dos antimetabólitos, tais como metotrexato e ciclosporina. (11)

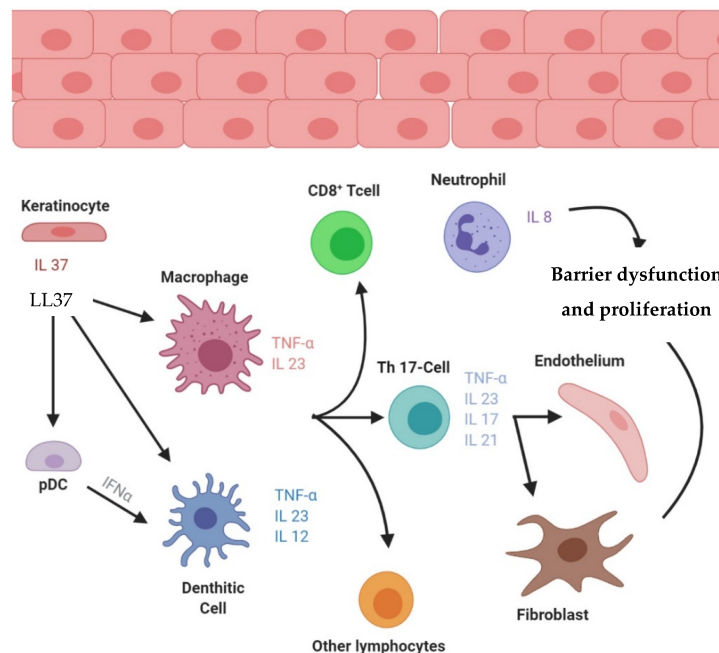


Figura 4. Principal hipótese da patogênese da psoríase tipo placa. (10)

Contudo, nos últimos anos, tornou-se cada mais evidente que essa condição apresenta alguns aspectos imunológicos semelhantes aos encontrados em outras doenças inflamatórias que similarmente também apresentam endotoxemia sistêmica, como doenças inflamatórias intestinais, obesidade e as que enquadram-se na chamada “síndrome metabólica”, atualmente definida, segundo o National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III), pela presença de três ou mais dos significativos e modificáveis fatores de risco cardiovasculares: obesidade abdominal, hipertrigliceridemia, colesterol HDL baixo, pressão arterial e glicemia de jejum elevadas. (12-14) Ainda, encontrou-se associação com risco de infecções e malignidades, maior prevalência de alterações nos perfis lipídicos e de lipoproteínas, aumento do estresse oxidativo e redução da capacidade antioxidante. (15,16)

Postula-se que a obesidade provavelmente predisponha à psoríase e, que o contrário, também seja válido. Revisões sistemáticas indicam que o aumento da gravidade dos quadros de psoríase pareceu correlacionar-se com um maior índice de massa corporal (IMC) e, intervenções empregadas para perda ponderal, proporcionaram maior redução do escore PASI, corroborando ainda mais com essa teoria. (13,17) A prevalência de obesidade em indivíduos com psoríase é duas vezes maior em comparação à população em geral (34% contra 18%) e a produção elevada de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8) pelo tecido adiposo é uma característica dessa condição. Existe também relação entre o aumento dos valores de circunferência abdominal (CA) e de circunferência de quadril (CQ) com o surgimento da psoríase, sinalizando também uma associação com síndrome metabólica. (18-20)

Destaca-se dentre as descobertas mais recentes que, grande parte dos pacientes com psoríase apresentam deficiência de ácidos biliares e, muitos, possuem algum grau de doença hepática associada. (11) Cerca de 24% dos pacientes com psoríase apresentam alterações nos valores das enzimas hepáticas, sendo que aproximadamente 22% são diagnosticados com esteatohepatite não alcoólica e 0,8% com cirrose. Ademais, portadores de litíase biliar apresentam um risco 2,2 vezes superior de desenvolverem psoríase. (21)

Essas anormalidades propiciam a ocorrência de disbiose intestinal, decorrente de uma proliferação bacteriana intestinal acentuada, a qual possibilita a translocação bacteriana e, consequentemente, endotoxemia, que vem sendo apontada como um grande gatilho da patologia em questão. (12)

Parece haver um considerável equilíbrio na comparação de células T efectoras Th17 com células T reguladoras (Treg) em pacientes com psoríase. Th17 pode produzir citocinas pró-inflamatórias (IL-17 e IL-22), induzindo inflamação cutânea. Por outro lado, Treg pode inibir a função Th17 através do contato direto e liberação de citocinas inibitórias como IL-10 e TGF- β . A manutenção do equilíbrio Th17/Treg é essencial para manter a homeostase imunológica e, consequentemente, reduzir a inflamação na psoríase. (22) Esse mecanismo imunológico subjacente à psoríase, envolvendo produção de citocinas inflamatórias produzidas pelas células T, é exacerbado quando há exposição à antígenos bacterianos, uma vez que o metabolismo das bactérias comensais regula a expressão dessas células e influencia o equilíbrio entre as citocinas, e pode ser melhor visualizado através da figura 5. (9, 23) Evidências crescentes indicam que alterações no microbioma cutâneo e intestinal podem induzir a ativação da via Th17, levando à modulação da atividade da doença. (24,25) Portanto, o microbioma intestinal (MI) pode ajustar o equilíbrio entre células T eficazes e Tregs, promovendo uma manutenção da homeostase do sistema imunológico. (22)

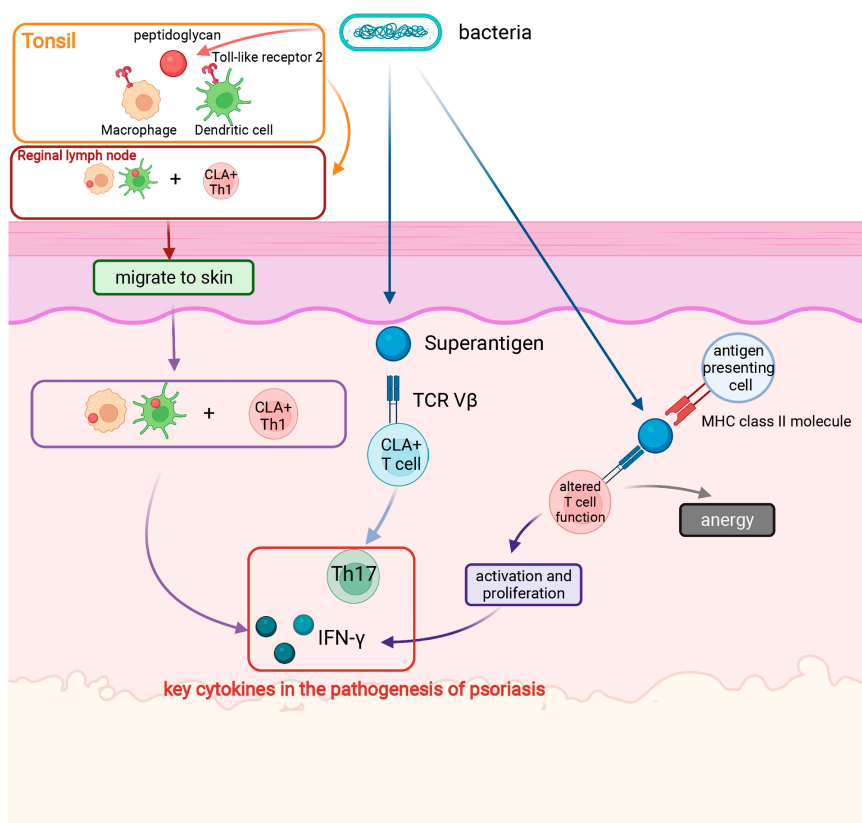


Figura 5. Papéis das bactérias na psoríase e superantígenos como mecanismo desencadeante. (23)

Nesse processo, destaca-se o lipopolissacarídeo (LPS), endotoxina constituinte da membrana externa de bactérias gram-negativas, que leva à ativação do sistema imunológico a partir da estimulação direta de macrófagos, monócitos, células dendríticas e linfócitos B. (26,27) A resposta inflamatória ao LPS é mediada pela proteína de ligação ao lipopolissacarídeo (LBP), produzida principalmente nos hepatócitos, que atua como uma proteína secretora de fase aguda de classe I, desempenhando um papel fundamental na resposta imune inata. (28) A LBP liga-se ao LPS e desloca os monômeros de LPS para as células inflamatórias através do CD14. O complexo LPS-LBP-CD14-MD2 induz uma resposta pró-inflamatória através da ativação do NF- κ B, mediada pelo recetor 4 do tipo toll (TLR4). Dessa forma, os níveis circulantes de LBP são associados à inflamação sistêmica e correlacionam-se com a permeabilidade intestinal e, em humanos, a LBP está constitutivamente presente no soro em concentrações que variam entre 5 e 10 ng/mL. (29-32)

Existem evidências que a composição do MI está envolvida no curso de doenças inflamatórias sistêmicas (33-35), no entanto, estudos clínicos que analisaram a relação entre o MI e a atividade clínica da psoríase ainda não apresentaram resultados totalmente convergentes. Muitos estudos identificaram alterações na composição do MI nestes doentes e, alguns autores, atribuem o aumento da permeabilidade intestinal e a translocação bacteriana

como fatores desencadeantes, uma vez que promovem inflamação sistêmica crônica. Disbiose, depleção na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), aumento da quantidade de N-óxido de trimetilamina (TMAO) e desregulação das vias que afetam o equilíbrio linfocitário parecem ser os achados mais relevantes em relação às alterações da fisiologia intestinal dos doentes com psoríase. (36-38)

A terapêutica é individualizada, cuja escolha leva em consideração principalmente o estado clínico do paciente e comorbidades associadas. Topicamente, utiliza-se cremes, pomadas, soluções capilares e fototerapia (banho de luz com raio ultravioleta - UV). Em casos mais graves, utiliza-se tratamentos sistêmicos, tais como ciclosporina, metotrexato, acitretina, imunobiológicos e, descrito mais recentemente e de modo complementar, ácidos biliares (35,36). Ademais, a influência da dieta é um fator ambiental de alto interesse, visto que nutrição inadequada, peso corporal acentuado e doenças metabólicas podem aumentar os sintomas clínicos ou até desencadear a psoríase (39,40).

Um estudo japonês descreveu três casos de psoríase vulgar associados à doença hepática esteatótica não alcoólica, com melhoria significativa das lesões cutâneas após utilização de ácido ursodeoxicólico (UDCA) oral. (40) Outro estudo com 40 paciente no Irã, mostrou que o UDCA combinado com MTX pode melhorar as lesões cutâneas psoriásicas e o DLQI dos pacientes significativamente mais do que o MTX isolado. (41)

Embora existam relatos que a obtenção de níveis séricos adequados de ácidos biliares apresente um potencial de convalescer os quadros de psoríase, ainda não há estudos controlados sobre esses benefícios, fundamentando o propósito desse projeto.

1.2. *Microbioma intestinal*

Microbioma humano é definido como uma comunidade microbiana característica, que ocupa um habitat razoavelmente bem definido e que possui propriedades físico-químicas distintas, formando um microecossistema dinâmico e interativo. Não inclui apenas a comunidade dos microorganismos, mas também elementos estruturais microbianos, metabólitos e condições ambientais. (42)

É composto por trilhões de bactérias e seus mais de 9 milhões de genes não humanos, os quais superam os 20.500 genes presentes no genoma humano e que podem interagir com estes. De acordo com um ditado atribuído a Hipócrates (470 aC) “Toda doença começa no

intestino” e esse conceito gerou a ideia de “autointoxicação”, que tem sido aplicado em diversas doenças da pele, sistêmicas e autoimunes. (43–48)

O trato gastrointestinal humano possui o maior e mais completo ecossistema microbiano, sendo o MI considerado um órgão essencial, visto que é fator chave para modulação da saúde e doença, através da produção de enzimas para o metabolismo de carboidratos, ácidos graxos, lipopolissacarídeos e ácidos biliares secundários, que são aqueles produzidos por bactérias. (43-49)

A avaliação completa da comunidade microbiana tornou-se possível por meio do desenvolvimento da metagenômica, uma metodologia de sequenciamento de DNA, sendo possível extrair o material genético da amostra, como por exemplo a de fezes, e realizar uma detecção qualitativa (identifica os organismos) e quantitativa (determinação relativa dos organismos presentes). Existem duas técnicas: NGS (*Next-Generation Sequencing*) na qual é possível identificar e classificar bactérias presentes em uma comunidade, baseando-se em uma sequência de regiões variáveis dentro do gene 16s rRNA e/ou a técnica “*Shotgun*”, para avaliação das características funcionais das bactérias, uma técnica mais complexa, que depende de análise proteômica e apresenta um custo mais elevado que a NGS. (49)

Sua integridade é primordial para manutenção da barreira contra os patógenos invasores, melhora da imunidade intestinal e estímulo às respostas imunes locais, além de apresentar importantes funções metabólicas e nutricionais. (11, 50)

Diversos fatores ambientais podem alterar o MI, desde a forma como ocorreu o nascimento do indivíduo, até o seu estilo de vida. Uso de antibióticos e uma dieta com alta ingestão de gorduras ruins e pobre em fibras possuem destaque nos distúrbios da homeostase intestinal. Tal dieta pode predispor uma endotoxemia de baixo grau e consequentes alterações metabólicas decorrentes da redução de ácidos graxos de cadeia média (AGCM) e butirato, bem como do aumento de acetato. Essas alterações são suficientes para gerar um desequilíbrio da flora intestinal e comprometimento da integridade da membrana intestinal, propiciando permeação de endotoxinas, modulando a resposta imunológica e inflamatória exacerbada. A princípio, este processo pode ser assintomático, todavia, com sua progressão, passa a apresentar uma potencialidade de alterar o quadro de psoríase. (51, 52)

MI é ecossistema dinâmico, capaz de regular o equilíbrio entre as células T eficazes e células T reguladoras, mantendo a homeostasia do sistema imunológico. Por exemplo, os

SCFAs, metabólitos do microbioma intestinal, podem inibir a função das células T inflamatórias e regular negativamente as citocinas inflamatórias. (22).

1.3 Microbioma intestinal na psoríase

Estudos analisaram o MI de pacientes com psoríase por meio de amostras fecais, identificando aspectos importantes tais como: redução da diversidade bacteriana, maior permeabilidade da mucosa intestinal, crescimento excessivo de bactérias no intestino delgado, presença de endotoxemia sistêmica, correlações com a presença de peptídeos bacterianos absorvidos pelo intestino e efeitos direto no fígado e na pele, além de um padrão de cepas de bactérias com maior proporção de *Firmicutes* e menor *Bacteroidetes*, similarmente ao que ocorre em indivíduos obesos. (53,54)

Uma maior concentração de *Firmicutes* e menor de *Bacteroidetes* parece influenciar o metabolismo dos carboidratos e alterar a produção de AGCC, resultando no aumento de acetato e redução de butirato, culminando em condições propícias para endotoxemia. Ademais, os gêneros *Actinomyces* e *Sutterella*, caracterizados por um perfil pró-inflamatório e que atuam na modulação da resposta imunológica, também foram identificados em indivíduos com psoríase. Em contrapartida, os gêneros *Faecalibacterium*, *Blautia* e *Coprococcus* identificados em pacientes com psoríase em outro estudo, promovem ação anti-inflamatória. Esses dados sugerem que bactérias apresentam comportamentos positivos e negativos, e que há divergências na caracterização do microbioma intestinal psoriático, reiterando a necessidade de novas análises da relação entre MI e a psoríase. (54-57)

Níveis mais elevados de endotoxemia na psoríase, apresentam o potencial de fomentar comorbidades associadas à essa condição. Entretanto, ressalta-se que, tanto a obesidade, quanto o envelhecimento, também podem afetar a composição do microbioma e, por isso, ainda existem muitas questões a serem elucidadas. Ademais, pacientes psoriásicos apresentam frequentemente múltiplas comorbidades, como síndrome metabólica e obesidade, doenças que também estão associadas à disbiose. (25, 54, 58, 59)

Ainda que existam poucos estudos, esses já demonstraram estreita ligação entre o MI e a psoríase. Mudanças identificadas na composição do microbioma provavelmente se traduzem em modificação das capacidades funcionais e da homeostase intestinal, impactando diretamente na regulação das respostas imunes intestinais. Portanto, uma análise mais aprofundada da dinâmica dessas alterações e das respostas subsequentes se faz necessária para uma melhor caracterização do potencial modulador da imunidade através do MI, além de

uma compreensão mais aprofundada entre disbiose e a pele, objetivando o desenvolvimento de diagnósticos baseados na composição e função microbiana. (49, 54, 57)

A comprovação da associação entre MI e a patogênese da psoríase proporcionará novas possibilidades terapêuticas como, por exemplo, manipulações microbianas por meio da dieta, eliminação de endotoxinas, adição de probióticos ou através de transplante fecal. Intervenções no estilo de vida, especialmente quanto a dieta e exercício físico, podem ser efetivas a curto prazo, porém, com o passar do tempo, a maioria dos indivíduos acabam tornando-se pouco aderentes. (60)

1.4 Psoríase e ácidos biliares

Em busca de tratamentos complementares eficientes a longo prazo, o uso de ácidos biliares como o ácido ursodesoxicólico, vêm sendo estudado em decorrência dos seus efeitos citoprotetores, antiapoptóticos, estabilizadores de membrana, antioxidantes e imunomoduladores. A suplementação de UDCA pode promover melhora significativa das lesões cutâneas da psoríase, assim como induzir melhora da esteatose hepática em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica associada. (11, 39, 40, 61)

Ácido biliar atua como um “detergente de defesa”, com potencial efeito protetor contra endotoxinas entéricas, quebrando-as em fragmentos não tóxicos, impedindo assim a liberação de citocinas pró-inflamatórias. Ainda, o metabolismo secundário dos ácidos biliares por algumas espécies bacterianas pode ser capaz de inibir a inflamação mediada por Th17 na psoríase. (22) Contudo, ressalta-se que a relação direta entre a interferência do ácido biliar com o microbioma intestinal no tratamento da psoríase ainda não foi elucidada. (11, 39, 40, 61)

Nos últimos 15 anos, pesquisas incentivam a realização de estudos clínicos com abordagens terapêuticas envolvendo o microbioma intestinal ou segmentações específicas de bactérias, visto que existe uma grande expectativa de que terapias baseadas na modulação do MI possam influenciar no metabolismo e na saúde desses indivíduos. (62-64) Por exemplo, um estudo húngaro com 551 pacientes com psoríase, suplementou via oral ácido dehidrocólico e dehidrocolato de sódio, durante uma a oito semanas, e identificou uma redução dos sintomas em 78,8% e uma melhoria do PASI em 21,2% dos participantes. (39)

PROPOSTA

Psoríase está associada a um alto grau de morbidade, singularmente em decorrência dos estigmas adquiridos pela aparência da pele e dos efeitos colaterais das medicações empregados, culminando em uma redução da qualidade de vida desses pacientes. Ademais, além desses custos sociais, há os dispêndios da terapia, frequentemente de longo prazo, contribuindo para um grande impacto nos sistemas de saúde. Assim sendo, torna-se cada vez mais imprescindível compreender os diversos fatores envolvidos na patogênese dessa condição, a fim de poder empregar novos tratamentos efetivos e seguros.

Caracterização do MI dos pacientes com psoríase permitiu elaboração de hipóteses fisiopatológicas, de forma a propor intervenções que visem a modulação desse microbioma para o controle da doença e das comorbidades associadas.

O conhecimento da tolerabilidade, além do efeito clínico e microbiológico da suplementação de ácido biliar, pode fundamentar ensaios clínicos controlados que utilizem terapias de efeito intestinal, não imunossupressoras, como terapias adjuvantes.

Até a presente data, não existem estudos controlados que comprovem o benefício da administração de ácidos biliares na modificação da permeabilidade intestinal e da gravidade clínica da psoríase.

Dessa forma, o presente estudo visa caracterizar possíveis alterações do microbioma intestinal dos pacientes com psoríase após suplementação com UDCA, bem como da redução da endotoxemia por meio da avaliação dos níveis séricos de LPB. Objetiva ainda, avaliação da extensão clínica da psoríase em pacientes sob uso do UDCA, estabelecendo dessa forma, a magnitude que esse déficit apresenta na patogênese da psoríase e o potencial benefício dessa intervenção.

1. OBJETIVO GERAL

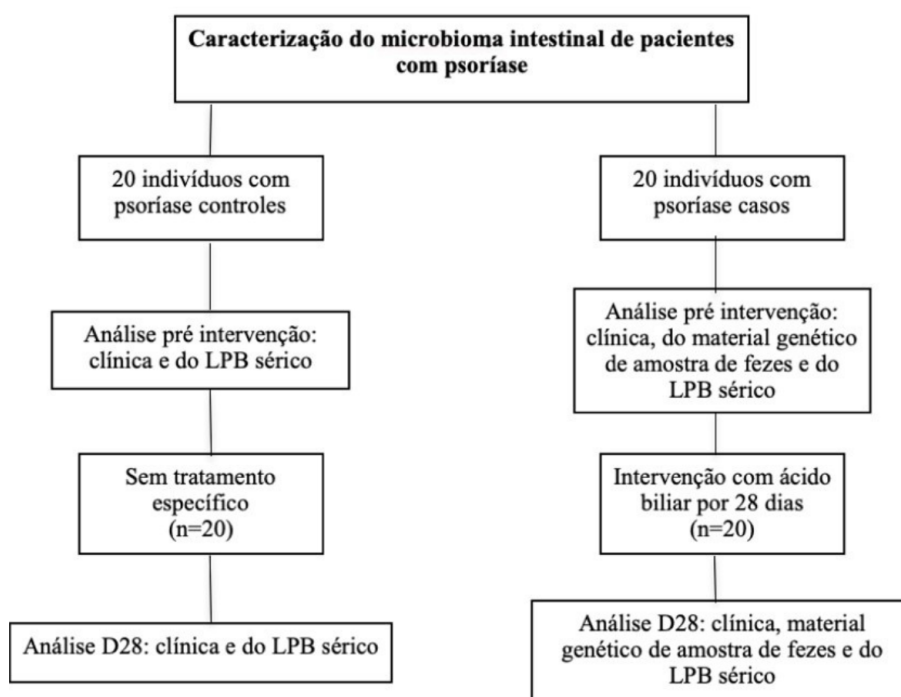
Identificar alterações na composição do microbioma intestinal, parâmetros clínicos e nos níveis de LPB sérico após suplementação oral de 300mg por dia de ácido ursodesoxicólico, por 28 dias, em pacientes com psoríase vulgar.

a. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever características do microbioma intestinal de pacientes com psoríase;
- Avaliar o microbioma intestinal nos pacientes com psoríase após suplementação oral do ácido ursodesoxicólico;
- Avaliar a gravidade clínica da psoríase após suplementação oral do ácido ursodesoxicólico através do escore PASI;
- Avaliar a melhora da endotoxemia nos pacientes através da dosagem sérica de LPB;
- Avaliar a tolerabilidade do uso do ácido ursodesoxicólico oral nos pacientes com psoríase;

O presente estudo prova de conceito, de caráter longitudinal, intervencionista, consiste em uma prossecução de estudos nos quais buscou-se identificar o perfil nutricional dos pacientes com psoríase, assim como promover uma caracterização do microbioma intestinal dos mesmos. (65) É possível observar o delineamento do estudo através da figura 6.

Figura 6. Etapas da pesquisa do microbioma intestinal em psoríase.



3. METODOLOGIA

3.1 População do estudo

Ensaio clínico *quasi* experimental, aberto, com 40 homens adultos com psoríase, divididos em dois grupos: grupo intervenção e grupo controle. A alocação dos grupos não foi randomizada.

Foram elegíveis pacientes com diagnóstico de psoríase vulgar estabelecido por dermatologista, moradores da região de Botucatu-SP. Todos os incluídos são do sexo masculino, entre 18 e 70 anos, e não houve restrição de tratamento, seja tópico ou sistêmico, nem em relação ao tempo que estava em vigor. Optou-se por selecionar uma amostra contendo apenas homens adultos do interior do estado de São Paulo para reduzir a variabilidade do MI, a qual também é influenciada pelo sexo, idade e localização geográfica. Não foram incluídos fumantes, alcoólatras, pacientes com doença inflamatória intestinal, infecções e outras doenças autoimunes.

A todos os participantes convidados para realização dessa etapa, foi apresentado um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1). Neste, os princípios de sempre considerar o respeito à dignidade humana foram mantidos em uma linguagem acessível, sendo inclusos: a justificativa, os objetivos e os procedimentos necessários à pesquisa, bem como os benefícios esperados, a garantia de esclarecimentos (antes e durante) e do sigilo e da privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos.

Os participantes tiveram sua identidade preservada e a individualidade respeitada quanto à decisão de participação ou não do estudo. O projeto foi submetido ao comitê de ética e pesquisa da FMB-UNESP e aprovado (CAAE: 12261219.0.0000.5411; Parecer:3.317.869).

3.2 Intervenção com ácido biliar

Participantes do grupo intervenção foram orientados a tomar um comprimido de 300 mg de ácido ursodesoxicólico diariamente durante 28 dias, disponibilizados aos mesmos através de recursos fornecidos pela FUNADERSP. O tempo de suplementação foi estimado de acordo com o orçamento disponível e consiste em uma média de períodos de suplementação realizados em três estudos prévios.

O grupo controle não recebeu tratamento específico, nem placebo. Não houve quaisquer alterações quanto aos tratamentos previamente em uso, em ambos os grupos.

Os participantes foram avaliados antes da intervenção (D0) através de exame clínico e realização do PASI, coleta de dados demográficos, coleta de sangue e, apenas no grupo

intervenção, amostra de fezes matinais. Após 28 dias (D28), todos foram reavaliados clinicamente e submetidos a nova coleta de sangue, sendo obtida nova amostra fecal novamente apenas no grupo intervenção.

Todos os participantes inicialmente incluídos no estudo completaram o período de acompanhamento e o protocolo de tratamento estabelecido, sem ocorrência de perdas de follow-up.

Para os que fizeram uso da suplementação, em D28, questionou-se sobre a ocorrência de eventos adversos sobretudo em relação a efeitos gastrointestinais, tais como diarreia e náuseas, e não houve relatos de efeitos colaterais.

A gravidade clínica da psoríase foi avaliada por meio do escore PASI, estimado por um dermatologista qualificado (LDBM ou MRRL), sendo, para um mesmo paciente, o mesmo avaliador no pré e pós tratamento.

3.3 Avaliação da composição do microbioma intestinal

Composição do MI foi avaliada pela extração de material genético de amostras fecais e análise metagenômica (região 16S). Os participantes foram orientados a coletar a primeira evacuação do dia em tubo específico, em suas próprias residências. O tempo hábil para entrega da amostra em isopor refrigerado, fornecido previamente ao paciente, foi de duas horas, a fim do material não perder suas propriedades para análise. Posteriormente, a amostra foi entregue aos pesquisadores responsáveis (T.C.F.P. e M.R.R.L) e transportada (gelo seco: -28oC) para o Laboratório de Pesquisa e Inovação em Biotecnologia (BPI, Botucatu-SP), sendo todas armazenadas em freezer a -80°C até o momento da extração do DNA.

Para a extração do material genético foram utilizadas alíquotas de 1g e o kit Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep (Zymo Research), conforme protocolo descrito pelo fabricante. Esse kit foi adquirido através de recursos provenientes da FUNADERSP. Posteriormente, o material passou por teste de qualidade por meio de quantificação de fluorescência, utilizando o equipamento Qubit® 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific).

Para as reações de amplificação da região 16S, foram realizadas triplicatas de amostras com volume final de 20µL, contendo 10µL de GoTaq® Colorless Master Mix 2x (Promega, USL), 0,3µM de oligonucleotídeo forward e 0,3µM de oligonucleotídeo reverso, 3µL de DNA genômico e água ultrapura estéril, em quantidade suficiente para completar 20µL. As reações de amplificação foram realizadas em um Termociclador Veriti™ (Applied Biosystems).

Após reação de amplificação do DNA, a confirmação da amplificação de cada amostra realizou-se através de eletroforese em gel de agarose a 2% corado com Gel Red (Uniscience), próximo a 300 pb (tamanho do amplicon). As PCRs foram submetidas a etapas de purificação utilizando esfera magnética Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter) para extração de restos de *primers* de reação e fragmentos muito pequenos da população total de moléculas. Após esta etapa, foi realizada a quantificação pela metodologia Real Time PCR, utilizando o termociclador QuantStudio 3 Real Time (Applied Biosystems) e Kit KAPA-KK4824 (Library Quantification Kit - Illumina/Universal), todos de acordo com o protocolo do fabricante.

Um pool equimolar de DNA foi estabelecido, normalizando todas as amostras para 3nM para realizar o sequenciamento, usando o sistema de sequenciamento de última geração Illumina MiSeq (sequenciamento Illumina) e o kit de reagentes MiSeq V2 Nano 300 ciclos – leitura de 2 x 150 pb.

Operational taxonomic units (OTUs) de 99% Greengenes 13_8 da região 515F/806R do banco de dados de sequências foram usadas para reconhecimento de sequência de táxons. Apenas sequências com mais de 97% de analogia (confiabilidade) foram consideradas. A abundância relativa de unidades taxonômicas (UTN) nas amostras foi analisada através dos componentes extraídos pelo método PLS (*Partial Least Squares*), com dados dispostos por desvios padrão.

Para estimar a variação do LPB sérico, o pesquisador responsável (M.R.R.L) coletou alíquotas de 10ml de sangue dos pacientes. Imediatamente após a coleta, sob refrigeração, as amostras foram encaminhadas à Unidade Experimental de Pesquisa (UNIPEX) da FMB-Unesp, para centrifugação e extração de soro. A análise do LPB foi feita pelo método sanduíche ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), de acordo com as instruções do fabricante (Human LPB DuoSet ELISA - DY870-05, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, EUA). Para tanto, as amostras foram diluídas em uma fração 1:500 e as concentrações finais de LPB foram definidas de acordo com a curva padrão.

Avaliou-se os seguintes desfechos: níveis séricos de LPB, avaliação clínica e análise metagenômica fecal, no D0 e D28. Os dados foram analisados de acordo com o princípio da intenção de tratar, ou seja, todos os participantes inicialmente atribuídos a cada grupo foram incluídos na análise, independentemente da sua adesão ao tratamento.

3.4 Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e os dados quantitativos foram representados como média (desvio padrão) ou mediana (P25–P75). A comparação entre os grupos foi realizada por modelo linear misto. (66)

Diversidade do MI foi avaliada de acordo com cada categoria de UTN: abundância relativa de grupos, pelos índices de diversidade de Hill (riqueza, Shannon e Simpson), abundância de gêneros bacterianos (diversidade alfa), componentes dos padrões PLS (beta diversidade) e a relação entre os filos *Firmicutes/Bacteroidetes*. Riqueza é definida como o número total de UTN identificados na amostra.

Abundância dos gêneros foi calculada pelo seu *fold-change* (pós/pré-tratamento), e seu intervalo de confiança de 95% (IC 95%) foi estimado através de 5.000 reamostragens (*bootstrap*).

Correlação bivariada entre dados quantitativos foi explorada pelo coeficiente de classificação de Spearman. (67)

Os dados foram tabulados no MS Excel 2013 e analisados no software IBM SPSS 25. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. (68)

4. RESULTADOS

Os principais dados clínicos e demográficos da amostra estudada estão apresentados na Tabela 1, enfatizando a semelhança entre os grupos. A alta prevalência de obesidade é notável.

Quanto às comorbidades, dentre os casos, quatro (20%) tinham diabetes mellitus, quatro (20%) tinham hipertensão arterial e dois (10%) tinham dislipidemia. Dois foram tratados exclusivamente com tratamentos tópicos (10%); seis (30%) foram tratados com Acitretina; cinco (25%) utilizaram MTX e sete (35%) utilizaram imunobiológicos. O PASI variou de 1 a 18, com mediana (P25–P75) de 4 (1–7).

Já no grupo controle, dois (10%) tinham diabetes mellitus, seis (30%) tinham hipertensão arterial, cinco (25%) dislipidemia, um (5%) tinha hipotireoidismo e um (5 %) tinha HIV. Quatro foram tratados exclusivamente com corticoides tópicos (20%), três (15%) com Acitretina; cinco (25%) MTX e oito (40%) com imunobiológicos.

Tabela 1. Principais dados clínicos e demográficos dos 40 homens adultos com psoríase analisados.

Variáveis	Ácido ursodesoxicólico (n = 20)	Controles (n = 20)	P-valor
Idade (anos)*	54,6 (8,9)	50,4 (10,4)	0,045
PASI*	5,3 (5,6)	7,1 (3,1)	0,221
IMC*	29,5 (6,7)	29,2 (6,0)	0,876
>30Kg/m ²	9 (45%)	10 (50%)	0,752
LPB (mg/mL)*	7,5 (2,9)	6,1 (3,0)	0,055
>10 mg/mL	2 (10%)	1 (5%)	0,615
Comorbidades			0,397
Hipertensão	4 (20%)	6 (30%)	
Diabetes	4 (20%)	2 (10%)	
Dislipidemia	2 (10%)	5 (25%)	
Tratamentos sistêmicos			0,634
Imunobiológicos	7 (35%)	8 (40%)	
Metotrexato	5 (25%)	5 (25%)	
Acitretina	6 (30%)	3 (15%)	

*Média (desvio padrão);

*LPB: proteína de ligação ao lipopolissacarídeo; PASI: índice de área e gravidade da psoríase.

A tabela 2 mostra as variações dos valores de LPB e PASI após a intervenção. No grupo intervenção, evidencia-se uma maior redução do PASI do que no grupo controle (-1,0 vs. -0,3).

Tabela 2. Valores de LPB e PASI para pacientes com psoríase tratados com Ácido Ursodeoxicólico por 28 dias.

	Ácido ursodesoxicólico (n = 20)	Controles (n = 20)	Variação (CI 95%)	p-valor ^a
LPB*				
D0	7,5 (2,9)	6,1 (3,0)		
D28	9,3 (4,0)	7,3 (2,9)	1,7 (-3,9 a 0,7)	0,166
PASI*				
D0	5,3 (5,6)	7,1 (3,1)		
D28	4,3 (4,6)	6,8 (3,2)	-2,1 (-3,9 a -0,4)	0,037

* Média (desvio padrão); ** mediana (P₂₅–P₇₅)

^a p-valor ajustado para peso e valor em D0

A análise do MI dos participantes resultou na identificação de 1.497 UTNs diferentes no pré-tratamento e 1.821 no pós-tratamento. Filos, classes, ordens, famílias, gêneros e espécies identificados são mostrados no Quadro 1.

Índices de diversidade ecológica do MI diferiram após o tratamento e são apresentados na Tabela 3. Houve aumento na riqueza de espécies e diminuição na carga de *Firmicutes* após intervenção com UDCA, contudo, não houve variação na abundância relativa. Ademais, houve redução do índice de Simpson, que corresponde às bactérias menos frequentes no MI.

Tabela 3. Índices de diversidade ecológica do microbioma intestinal antes e depois da intervenção (n = 20).

	Antes*	Depois*	Variação (IC 95%)	p-valor ^a
Riqueza	138,9 (51,0)	179,6 (65,2)	39,7 (24,5–56,9)	0,001
Abundância relativa (10³)	62,8 (10,6)	60,6 (12,9)	-2,2 (-8,7–5,2)	0,592
Simpson	14,6 (7,6)	10,6 (5,0)	-4,0 (-7,7– -0,1)	0,032
Firmicutes (10³)	39,9 (9,1)	32,2 (13,9)	-7,7 (-15,0–0,0)	0,011
Bacteroidetes (10³)	14,6 (11,4)	11,6 (8,6)	-2,9 (-8,8–3,1)	0,378
F / B	9,4 (16,5)	5,4 (5,8)	-4,0 (-14,5–0,4)	0,401

* Média (desvio padrão);

F/B – *Firmicutes* / *Bacteroidetes*

Riqueza: número total de UTN identificados na amostra

Abundância relativa: n° de indivíduos de uma espécie / n° total de indivíduos da comunidade

Índice de Simpson: Chance de que em dois indivíduos escolhidos aleatoriamente sejam da mesma espécie

Os gêneros que apresentaram variação na composição dos MI após o tratamento são mostrados na Figura 7. Os gêneros *Collinsella* e *Succinivibrio* estiveram entre as bactérias mais prevalentes somente após o tratamento, não sendo detectados antes do uso do UDCA. Houve também aumento na proporção de *Oscillospira* sp., *Phascolarcobacter* sp., *Coprococcus* sp. e *Bacteroides* sp. e redução na proporção de *Anaerostipes* sp. e *Desulfovibrio* sp.

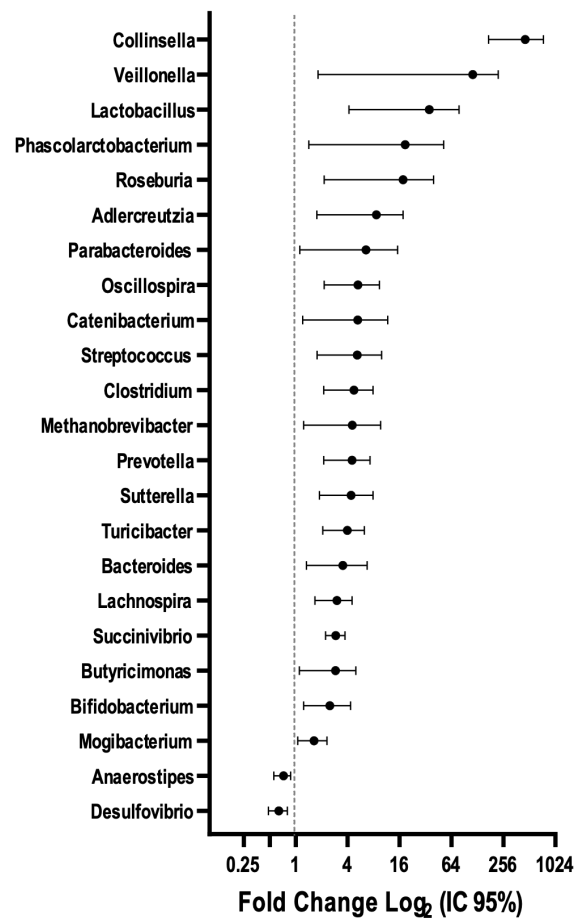


Figura 7. Alfa diversidade. Alteração na composição do MI após tratamento com UDCA por 28 dias.

DISCUSSÃO

Este estudo identificou alterações no MI e discreta redução no PASI após suplementação oral com UDCA em pacientes com psoríase. Apesar dos resultados modestos, a modulação do MI pode ser um adjuvante eficaz, com baixa probabilidade de efeitos colaterais.

Ressalta-se que o MI é inconstante. Estabelece-se nos primeiros anos de vida, mas varia de acordo com sexo, idade, comorbidades e fatores ambientais como alimentação, exercício físico, estresse, sono, uso de medicamentos, consumo de álcool e tabaco, bem como com a localização geográfica onde residem. Cerca de 57% é influenciado pela dieta e apenas 12% por fatores genéticos. (65) A amostra continha apenas homens adultos, moradores de uma mesma área, justamente para redução da variabilidade do MI.

Demonstrou-se em estudos anteriores que, ao corrigir o desequilíbrio do MI, pode-se reduzir a gravidade da psoríase, possivelmente contribuindo com o tratamento da condição. (22) O MI pode ser um potencial biomarcador de resposta terapêutica em tratamentos capazes de modulá-lo, seja por meio de dieta, suplementação com probióticos ou transplante fecal, método com grande potencial para interferir na atividade da psoríase, bem como no curso de outras doenças inflamatórias sistêmicas, além de maximizar a resposta terapêutica. (69-71)

Previamente, comparou-se a relação *Firmicutes/Bacterioidetes* (F/B) entre pacientes obesos e eutróficos com psoríase e seus respectivos controles. Não houve diferença entre pacientes obesos com psoríase e controles obesos, porém, ao comparar indivíduos eutróficos com psoríase e controles eutróficos, foram observados valores médios mais elevados da relação F/B nos pacientes com psoríase. (65)

Há evidências de que uma maior concentração de *Firmicutes* e menor concentração de *Bacterioidetes* influencia o metabolismo dos carboidratos e altera a produção de AGCC, com aumento de acetato e redução de butirato, o que promove condições favoráveis à endotoxemia. (71)

Em nosso estudo, houve aumento de *Collinsella* sp., *Succinivibrio* sp., *Oscillospira* sp., *Phascolarcobacter* sp., *Coprococcus* sp. e *Bacteroides* sp. mas uma redução de *Anaerostipes* sp. e *Desulfovibrio* sp, sendo que *Collinsella* e *Succinivibrio* foram detectadas exclusivamente após a intervenção.

O gênero *Collinsella* carrega um gene que codifica uma 7 β -hidroxiesteróide desidrogenase dependente de NADPH (7 β -HSDH), sendo uma bactéria intestinal essencial para produção de UDCA e outros ácidos biliares secundários. Reitera-se que os ácidos

biliares suprimem citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4 e IL-6 nos níveis de mRNA e proteína, bem como apresentam efeito antioxidante e antiapoptótico. (72-76)

Succinivibrio é um gênero bacteriano capaz de metabolizar fibras alimentares em AGCC, assim como o gênero *Coprococcus*. AGCC são as principais fontes de energia para os enterócitos e, a escassez destes metabólitos no lúmen intestinal, geralmente resulta no aumento da permeabilidade da mucosa, levando à translocação bacteriana, com endotoxinas atingindo a corrente sanguínea. Ademais, o esgotamento dos AGCC produtores de táxons pode promover resistência anabólica. (77)

Oscillospira apresenta associação positiva com baixo teor de gordura, magreza e saúde humana. Além disso, há forte associação com diversas doenças, principalmente inflamatórias. Vários estudos demonstraram que este gênero produz todos os tipos de AGCC, principalmente butirato, fonte de energia para as células intestinais e associado à prevenção e redução da inflamação sistêmica e ao aumento da diversidade bacteriana. (78)

Anaerostipes é conhecido por sua capacidade de produção de butirato a partir de açúcares como lactato e acetato. (79) O acetato é o AGCC mais abundante no trato intestinal, com poder de regular o sistema imunológico. Demonstrou-se que o nível de acetato no cólon estava negativamente associado ao nível de citocinas pró-inflamatórias como IL-17 e IL-23 em lesões psoriásicas. (22)

Outro estudo brasileiro que analisou o MI de pacientes com psoríase foi realizado em outra região geográfica e com pacientes do sexo feminino, revelando aumento na carga dos gêneros *Dialister* e *Catenilbacterium* e também na espécie *Prevotella copri*, em comparação aos controles. Os gêneros *Ruminococcus*, *Lachnospira* e *Blautia*, bem como as espécies *Akkermansia muciniphila* estavam reduzidos no grupo com psoríase em comparação ao grupo controle. (80)

Ainda, ressalta-se que vários estudos recentes vem apontando indícios de colestase e inflamação intestinal nesses pacientes, o que corrobora com nossa teoria. (81) O processo de estresse oxidativo, capaz de interferir no microbioma e em toda a cascata inflamatória, também vem ganhando notoriedade e mais estudos a respeito são necessários. (82)

Este estudo apresenta limitações em relação ao significado do LPB sérico, uma vez que as coletas das amostras foram realizadas às segundas-feiras, após os pacientes possivelmente terem mudado alguns hábitos, tais como variações alimentares durante os finais de semana. Ademais, as coletas foram realizadas em meio à pandemia de COVID-19, o

que pode ter afetado os resultados, visto que são parâmetros que sofrem influência de diversos fatores. Consideram-se também como limitações: a falta de cegamento; a impossibilidade de coleta de amostras fecais no grupo controle devido ao alto custo dos testes de metagenômica; o fato de os participantes já estarem em uso de algum tipo de tratamento antes da inclusão, sem restrições quanto ao tempo de uso; além do curto período de suplementação e avaliação.

CONCLUSÕES

UDCA oral por 28 dias modificou a diversidade do MI e promoveu discreta melhora clínica em pacientes com psoríase, com discreta redução no PASI. Eventos adversos não foram relatados, apontando boa tolerabilidade da suplementação.

Estudos com seguimentos mais longos, envolvendo pacientes sem tratamento sistêmico, com estratificação de acordo com a gravidade e uma segmentação entre pacientes com e sem a presença de colestase podem revelar benefícios adicionais da modificação de MI com UDCA oral na psoríase.

PERSPECTIVAS

A compreensão da interação entre o microbioma intestinal e a psoríase ainda é incipiente, contudo, há cada vez mais evidências que alterações disbióticas do microbioma intestinal podem desencadear respostas imunológicas que podem levar à condições inflamatórias. Apesar dos avanços, permanece pouco claro quais espécies bacterianas desempenham papéis causais na modulação da inflamação sistêmica relacionada a psoríase, todavia, este estudo fornece importantes *insights* e possibilidades que podem ser exploradas em pesquisas futuras.

Indícios de colestase e inflamação intestinal foram frequentes em estudos mais recentes. Visto que podem ser fatores chave para um melhor controle da psoríase, pesquisas com maior enfoque nessas condições se fazem necessárias.

Outro ponto que merece atenção é o manejo do processo de estresse oxidativo, capaz de interferir no microbioma e em toda a cascata inflamatória. Nutrientes como curcumina, resveratrol, quercitina e ácidos graxos, em estudos preliminares, apresentaram capacidade de combater esses processos devido suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, regulando respostas inflamatórias.

Por fim, tratamentos capazes de modular o microbioma de forma a melhorar significativamente o controle da psoríase e diminuir a presença de fatores inflamatórios, devem receber um enfoque especial. Nesse contexto, probióticos, pós-bióticos e simbióticos, bem como transplante de microbiota intestinal, mais especificamente o transplante de viroma fecal, uma versão modificada que envolve a filtração do conteúdo bacteriano das fezes do doador, consistem nas terapias promissoras. Todavia, ainda faltam evidências à respeito da forma de administração e quanto as cepas que promoveriam os maiores benefícios.

REFERÊNCIAS

1. Christophers E. Psoriasis: epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol*. 2001;26(4):314-20. doi:10.1046/j.1365-2230.2001.00832.x.
2. Sanchez APG. Imunopatogênese da psoríase. *An Bras Dermatol*. 2010;85(5):747-9. doi:10.1590/S0365-05962010000500028.
3. Reich K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26 Suppl 2:3-11.
4. Romiti R, Carvalho AVE, Duarte GV, et al.; Grupo de Trabalho do Consenso Brasileiro de Psoríase da Sociedade Brasileira de Dermatologia. Brazilian Consensus on Psoriasis 2020 and treatment algorithm of the Brazilian Society of Dermatology. *An Bras Dermatol*. 2021;96(6):778-81.
5. Kim BY, Choi JW, Kim BR, Youn SW. Histopathological findings are associated with the clinical types of psoriasis but not with the corresponding lesional psoriasis severity index. *Ann Dermatol*. 2015;27(1):26-31. doi:10.5021/ad.2015.27.1.26.
6. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009;361(5):496-509. doi:10.1056/NEJMra0804595.
7. Harari M, Shani J, Hristakieva E, et al; Clinical evaluation of a more rapid and sensitive Psoriasis Assessment Severity Score (PASS), and its comparison with the classic method of Psoriasis Area and Severity Index (PASI), before and after climatotherapy at the Dead Sea. *Int J Dermatol*. 2000;39(12):913-8. doi:10.1046/j.1365-4362.2000.00017.x.
8. Korman NJ, Zhao Y, Pike J, Roberts J. Relationship between psoriasis severity, clinical symptoms, quality of life and work productivity among patients in the USA. *Clin Exp Dermatol*. 2016;41(5):514-21.
9. Arpaia N, Campbell C, Fan X, Dikiy S, van der Veeken J, deRoos P, Liu H, Cross JR, Pfeffer K, Coffey PJ, Rudensky AY. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*. 2013;504(7480):451-5. doi:10.1038/nature12726.
10. Petit RG, Cano A, Ortiz A, Espina M, Prat J, Muñoz M, et al. Psoriasis: from pathogenesis to pharmacological and nano-technological-based therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9):4983. doi: 10.3390/ijms22094983.

11. Ely PH. Is psoriasis a bowel disease? Successful treatment with bile acids and bioflavonoids suggests it is. *Clin Dermatol.* 2018;36(3):376-9. doi:10.1016/j.clindermatol.2018.03.011.
12. Ramírez-Boscá A, Navarro-López V, Martínez-Andrés A, Such J, Francés R, Horga de la Parte J, Asín-Llorca M. Identification of bacterial DNA in the peripheral blood of patients with active psoriasis. *JAMA Dermatol.* 2015;151(6):670-1. doi:10.1001/jamadermatol.2014.5585.
13. Katta R, Kramer MJ. Skin and diet: An update on the role of dietary change as a treatment strategy for skin disease. *Skin Ther Lett.* 2018;23(1):1-5.
14. Dobrowolski P, Prejbisz A, Kuryłowicz A, Baska A, Burchardt P, Chlebus K, et al. Metabolic syndrome - a new definition and management guidelines: A joint position paper by the Polish Society of Hypertension, Polish Society for the Treatment of Obesity, Polish Lipid Association, Polish Association for Study of Liver, Polish Society of Family Medicine, Polish Society of Lifestyle Medicine, Division of Prevention and Epidemiology Polish Cardiac Society, "Club 30" Polish Cardiac Society, and Division of Metabolic and Bariatric Surgery Society of Polish Surgeons. *Arch Med Sci.* 2022;18(5):1133-56. doi:10.5114/aoms/152921.
15. Takeshita J, Grewal S, Langan SM, Mehta NN, Ogdie A, Van Voorhees AS, et al. Psoriasis and comorbid diseases. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(3):377-90.
16. Cohen AD, Sherf M, Vidavsky L, Vardy DA, Shapiro J, Meyerovitch J. Association between psoriasis and the metabolic syndrome. *Dermatology.* 2008;216(2):152-5.
17. Armstrong AW, Harskamp CT, Dhillon JS, Armstrong EJ. Psoriasis and smoking: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2014;170(2):304-14. doi:10.1111/bjd.12670.
18. Sterry W, Strober BE, Menter A, on behalf of the International Psoriasis Council. Obesity in psoriasis: the metabolic, clinical and therapeutic implications. Report of an interdisciplinary conference and review. *Br J Dermatol.* 2007;157(4):649-55.
19. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol.* 2014;222(3):R113-27.
20. Armstrong AW, Harskamp CT, Armstrong EJ. Psoriasis and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(4):654-62.

21. Tong LX, Wu S, Li T, Qureshi AA, Giovannucci EL, Cho E. Personal history of gallstones and risk of incident psoriasis and psoriatic arthritis in U.S. women. *Br J Dermatol*. 2015;172(5):1316-22. doi:10.1111/bjd.13463.
22. Qiubai J, Feihong R, Dan Dai, et al. The causality between gut microbiome and psoriasis vulgaris: Insights from a bi-directional two-sample Mendelian randomization analysis. *PREPRINT* 2023;available at Research Square. doi:10.21203/rs.3.rs-2767646/v1.
23. Zhou S, Yao Z. Roles of infection in psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2022;23(13):6955. doi:10.3390/ijms23136955.
24. Yan D, Issa N, Afifi L, Jeon C, Chang HW, Liao W. The role of the skin and gut microbiome in psoriatic disease. *Curr Dermatol Rep*. 2017;6(2):94-103. doi:10.1007/s13671-017-0178-5.
25. Myers B, Brownstone N, Reddy V, Chan S, Thibodeaux Q, Truong A, Bhutani T, Chang HW, Liao W. The gut microbiome in psoriasis and psoriatic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2019;33(6):101494. doi:10.1016/j.berh.2020.101494.
26. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56(7):1761-72.
27. Schumann RR. Old and new findings on lipopolysaccharide-binding protein: a soluble pattern-recognition molecule. *Biochem Soc Trans*. 2011;39(4):989-93.
28. Meng L, Song Z, Liu A, Dahmen U, Yang X, Fang H. Effects of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) single nucleotide polymorphism (SNP) in infections, inflammatory diseases, metabolic disorders, and cancers. *Front Immunol*. 2021;12:681810. doi:10.3389/fimmu.2021.681810.
29. Schumann RR, Kirschning CJ, Unbehauen A, Aberle HP, Knope HP, Lamping N, et al. The lipopolysaccharide-binding protein is a secretory class 1 acute-phase protein whose gene is transcriptionally activated by APRF/STAT/3 and other cytokine-inducible nuclear proteins. *Mol Cell Biol*. 1996;16(7):3490-503.
30. Gonzalez-Quintela A, Alonso M, Campos J, Vizcaino L, Loidi L, Gude F. Determinants of serum concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the adult population: the role of obesity. *PLoS One*. 2013;8(1):e54600. doi:10.1371/journal.pone.0054600.
31. Ramadori G, Meyer zum Buschenfelde KH, Tobias PS, Mathison JC, Ulevitch RJ. Biosynthesis of lipopolysaccharide-binding protein in rabbit hepatocytes. *Pathobiology*. 1990;58(2):89-94. doi:10.1159/000163569.

- 32.Riedel S, Carroll KC. Laboratory detection of sepsis: biomarkers and molecular approaches. *Clin Lab Med.* 2013;33(3):413-37. doi: 10.1016/j.cll.2013.03.006.
- 33.Sankarasubramanian J, Ahmad R, Avuthu N, Singh AB, Guda C. Gut microbiota and metabolic specificity in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Front Med (Lausanne).* 2020;7:606298. doi:10.3389/fmed.2020.606298.
- 34.Salem F, Kindt N, Marchesi JR, Netter P, Lopez A, Kokten T, et al. Gut microbiome in chronic rheumatic and inflammatory bowel diseases: Similarities and differences. *United Eur Gastroenterol J.* 2019;7(8):1008-32.
- 35.Aldars-García L, Chaparro M, Gisbert JP. Systematic review: The gut microbiome and its potential clinical application in inflammatory bowel disease. *Microorganisms.* 2021;9(5):977.
- 36.Polak K, Bergler-Czop B, Szczepanek M, Wojciechowska K, Frątczak A, Kiss N. Psoriasis and gut microbiome—current state of art. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4529.
- 37.Huang L, Gao R, Yu N, Zhu Y, Ding Y, Qin H. Dysbiosis of gut microbiota was closely associated with psoriasis. *Sci China Life Sci.* 2019;62(6):807-15.
- 38.Chen Y, Ho HJ, Tseng C, Lai Z, Shieh J, Wu C. Intestinal microbiota profiling and predicted metabolic dysregulation in psoriasis patients. *Exp Dermatol.* 2018;27(12):1336-43.
- 39.Gyurcsovics K, Bertók L. Pathophysiology of psoriasis: coping endotoxins with bile acid therapy. *Pathophysiology.*2003;10(1):57-61. doi:10.1016/j.pathophys.2003.07.001.
- 40.Itoh S, Kono M, Akimoto T. Psoriasis treated with ursodeoxycholic acid: three case reports. *Clin Exp Dermatol.*2007;32(4):398-400. doi:10.1111/j.1365-2230.2007.02401.x.
- 41.Lajevardi V, Kashiri A, Ghiasi M, Khosravi D, Fazlolahi S, Etesami I. Evaluating the efficacy of ursodeoxycholic acid plus methotrexate vs methotrexate alone in the treatment of moderate to severe plaque-type psoriasis: A randomized clinical trial. *Dermatol Ther.* 2020;33(4):e13455. doi:10.1111/dth.13455.
- 42.Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MC, Charles T, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome.* 2020;8(1):103. doi:10.1186/s40168-020-00875-0. Erratum in: *Microbiome.*2020;8(1):119.
- 43.Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med.* 2016;8(1):42. doi:10.1186/s13073-016-0303-2.

44. Magin PJ, Adams J, Heading GS, Pond DC, Smith W. Complementary and Alternative Medicine Therapies in Acne, Psoriasis, and Atopic Eczema: Results of a Qualitative Study of Patients' Experiences and Perceptions. *J Altern Complement Med.* 2006;12(5):451-7.
45. Armstrong AW, Bagel J, Van Voorhees AS, Robertson AD, Yamauchi PS. Combining Biologic Therapies With Other Systemic Treatments in Psoriasis: Evidence-Based, Best-Practice Recommendations From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation. *JAMA Dermatol.* 2015;151(4):432.
46. Wolters M. Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence. *Br J Dermatol.* 2005;153(4):706-14.
47. Upala S, Sanguankeo A. Effect of lifestyle weight loss intervention on disease severity in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes.* 2015;39(8):1197-202.
48. Kocsár LT, Bertók L, Várterész V. Function of bile acids in the intestinal absorption of endotoxin in rats. *Ann Immunol Hung.* 1973;17:49-52.
49. Van der Meulen T, Harmsen H, Bootsma H, Spijkervet F, Kroese F, Vissink A. The microbiome-systemic diseases connection. *Oral Dis.* 2016;22(8):719-34.
50. Almeida LB, Marinho CB, Souza CS, Cheib VBP. Disbiose intestinal. *Rev Bras Nutr Clin.* 2009;24(1):58-65.
51. Maccaferri S, Biagi E, Brigidi P. Metagenomics: Key to Human Gut Microbiota. *Dig Dis.* 2011;29(6):525-30.
52. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014;505(7484):559-63.
53. Alekseyenko AV, Perez-Perez GI, De Souza A, Strober B, Gao Z, Bihan M, Li K, Methé BA, Blaser MJ. Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. *Microbiome.* 2013;1(1):31. doi: 10.1186/2049-2618-1-31.
54. Shapiro J, Cohen NA, Shalev V, Uzan A, Koren O, Maharshak N. Psoriatic patients have a distinct structural and functional fecal microbiota compared with controls. *J Dermatol.* 2019;46(7):595-603. doi: 10.1111/1346-8138.14933.
55. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol.* 2011;12(6):R60.
56. Vital M, Howe AC, Tiedje JM. Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. *mBio.* 2014;5(2):e00889. doi: 10.1128/mBio.00889-14.

- 57.Castaner O, Goday A, Park YM, Lee SH, Magkos F, Shiow STE, Schröder H. The Gut Microbiome Profile in Obesity: A Systematic Review. *Int J Endocrinol.* 2018;2018:4095789. doi: 10.1155/2018/4095789.
- 58.d'Hennezel E, Abubucker S, Murphy LO, Cullen TW. Total Lipopolysaccharide from the Human Gut Microbiome Silences Toll-Like Receptor Signaling. *mSystems.* 2017;2(6):e00046-17. doi: 10.1128/mSystems.00046-17.
- 59.Shapiro J, Cohen AD, David M, Hodak E, Chodik G, Viner A, Kremer E, Heymann A. The association between psoriasis, diabetes mellitus, and atherosclerosis in Israel: a case-control study. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(4):629-34. doi: 10.1016/j.jaad.2006.09.017.
- 60.Jensen P, Christensen R, Zachariae C, Geiker NR, Schaadt BK, Stender S, et al. Long-term effects of weight reduction on the severity of psoriasis in a cohort derived from a randomized trial: a prospective observational follow-up study. *Am J Clin Nutr.* 2016;104(2):259–65.
- 61.Ding JW, Andersson R, Soltesz V, Willén R, Bengmark S. The role of bile and bile acids in bacterial translocation in obstructive jaundice in rats. *Eur Surg Res.* 1993;25(1):11-9. doi: 10.1159/000129252.
- 62.Cani PD, Van Hul M, Lefort C, Depommier C, Rastelli M, Everard A. Microbial regulation of organismal energy homeostasis. *Nat Metab.* 2019;1(1):34–46.
- 63.Torres-Fuentes C, Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. The microbiota–gut–brain axis in obesity. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017;2(10):747–56.
- 64.Chen L, Li J, Zhu W, Kuang Y, Liu T, Zhang W, Chen X, Peng C. Skin and Gut Microbiome in Psoriasis: Gaining Insight Into the Pathophysiology of It and Finding Novel Therapeutic Strategies. *Front Microbiol.* 2020;11:589726. doi: 10.3389/fmicb.2020.589726.
- 65.Polo TCF, Lai MRR, Miot LDB, Bento GFC, Silva MGD, Marques SA, Miot HA. Intestinal microbiome characterization of adult Brazilian men with psoriasis compared to omnivore and vegetarian controls. *An Bras Dermatol.* 2023;98(5):635-43. doi: 10.1016/j.abd.2022.08.008.
- 66.Miot HA. Avaliação da normalidade dos dados em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras.* 2017;16(2):88-91. Portuguese. doi: 10.1590/1677-5449.041117.
- 67.Miot HA. Correlation analysis in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras.* 2018;17(4):275-279. doi: 10.1590/1677-5449.174118.

68. Miola AC, Miot HA. P-value and effect-size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras.* 2021;20:e20210038. doi: 10.1590/1677-5449.210038.
69. Codoñer FM, Ramírez-Bosca A, Climent E, Carrión-Gutierrez M, Guerrero M, Pérez-Orquín JM, Horga de la Parte J, Genovés S, Ramón D, Navarro-López V, Chenoll E. Gut microbial composition in patients with psoriasis. *Sci Rep.* 2018;8(1):3812. doi: 10.1038/s41598-018-22125-y.
70. Langan EA, Griffiths CEM, Solbach W, Knobloch JK, Zillikens D, Thaçi D. The role of the microbiome in psoriasis: moving from disease description to treatment selection? *Br J Dermatol.* 2018;178(5):1020–7.
71. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol.* 2011;12(6):R60. doi: 10.1186/gb-2011-12-6-r60.
72. Liu L, Aigner A, Schmid RD. Identification, cloning, heterologous expression, and characterization of a NADPH-dependent 7 β -hydroxysteroid dehydrogenase from *Collinsella aerofaciens*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;90(1):127-35. doi: 10.1007/s00253-010-3052-y.
73. Ko WK, Lee SH, Kim SJ, Jo MJ, Kumar H, Han IB, Sohn S. Anti-inflammatory effects of ursodeoxycholic acid by lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages. *PLoS One.* 2017;12(6):e0180673. doi: 10.1371/journal.pone.0180673.
74. Ko WK, Kim SJ, Jo MJ, Choi H, Lee D, Kwon IK, Lee SH, Han IB, Sohn S. Ursodeoxycholic Acid Inhibits Inflammatory Responses and Promotes Functional Recovery After Spinal Cord Injury in Rats. *Mol Neurobiol.* 2019;56(1):267-277. doi: 10.1007/s12035-018-0994-z.
75. Lapenna D, Ciofani G, Festi D, Neri M, Pierdomenico SD, Giamberardino MA, Cuccurullo F. Antioxidant properties of ursodeoxycholic acid. *Biochem Pharmacol.* 2002;64(11):1661-7. doi: 10.1016/s0006-2952(02)01391-6.
76. Kim YJ, Jeong SH, Kim EK, Kim EJ, Cho JH. Ursodeoxycholic acid suppresses epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell formation by reducing the levels of peroxiredoxin II and reactive oxygen species in pancreatic cancer cells. *Oncol Rep.* 2017;38(6):3632-8. doi:10.3892/or.2017.6045.
77. Ticinesi A, Milani C, Lauretani F, Nouvenne A, Mancabelli L, Lugli GA, Turrone F, Duranti S, Mangifesta M, Viappiani A, Ferrario C, Maggio M, Ventura M, Meschi T. Gut

- microbiota composition is associated with polypharmacy in elderly hospitalized patients. *Sci Rep*. 2017;7(1):11102. doi: 10.1038/s41598-017-10734-y.
78. Yang J, Li Y, Wen Z, Liu W, Meng L, Huang H. Oscillospira - a candidate for the next-generation probiotics. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1987783. doi: 10.1080/19490976.2021.1987783.
79. Bui TPN, Mannerås-Holm L, Puschmann R, Wu H, Troise AD, Nijssse B, Boeren S, Bäckhed F, Fiedler D, deVos WM. Conversion of dietary inositol into propionate and acetate by commensal *Anaerostipes* associates with host health. *Nat Commun*. 2021;12(1):4798. doi: 10.1038/s41467-021-25081-w.
80. Schade L, Mesa D, Faria AR, Santamaria JR, Xavier CA, Ribeiro D, Hajar FN, Azevedo VF. The gut microbiota profile in psoriasis: a Brazilian case-control study. *Lett Appl Microbiol*. 2022;74(4):498-504. doi: 10.1111/lam.13630.
81. Yunusbayev B, Bogdanova A, Nadyrchenko N, Danilov L, Bogdanov V, Sergeev G, Altinbaev R, Bilalov F, Yunusbaeva M. Gut dysbiosis narrative in psoriasis: matched-pair approach identifies only subtle shifts correlated with elevated fecal calprotectin. *Microbiol Spectr*. 2024;13(1):e0138224. doi: 10.1128/spectrum.01382-24.
82. Cozma EC, Avram I, Voiculescu VM, Mihai MM, Găman AM. Correlations between Gut Microbiota and Hematological, Inflammatory, Biochemical and Oxidative Stress Parameters in Treatment-Naïve Psoriasis Patients. *Int J Mol Sci*. 2024;25(12):6649. doi: 10.3390/ijms25126649.

Quadro 1: Unidades taxonômicas (UTN = 1.496), distribuídos em filos, classes, ordens, famílias, gêneros e espécies.

Filos (12)	Classes (22)	Ordens (31)	Famílias (52)	Gêneros (94)	Espécies (64)
Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes	Prevotella	<i>Prevotella copri</i>
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Lachnospiraceae	Bacteroides	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>
Actinobacteria	Coriobacteriia	Coriobacteriales	Prevotellaceae	Ruminococcus	<i>Prevotella stercorea</i>
Proteobacteria	Erysipelotrichi	Erysipelotrichales	Coriobacteriaceae	Oscillospira	<i>[Ruminococcus] gnavus</i>
Tenericutes	Bacilli	RF39	Bacteroidaceae	Blautia	<i>Parabacteroides distasonis</i>
Cyanobacteria	Mollicutes	Lactobacillales	Erysipelotrichaceae	Coprococcus	<i>Blautia producta</i>
Lentisphaerae	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Veillonellaceae	Faecalibacterium	<i>Bacteroides uniformis</i>
Synergistetes	Gammaproteobacteria	Desulfovibrionales	[Paraprevotellaceae]	[Ruminococcus]	<i>[Eubacterium] bifforme</i>
Euryarchaeota	Deltaproteobacteria	Enterobacteriales	[Odoribacteraceae]	Butyricimonas	<i>[Eubacterium] dolichum</i>
Fusobacteriia	Actinobacteria	Actinomycetales	Christensenellaceae	Parabacteroides	<i>Bacteroides plebeius</i>
Verrucomicrobia	Alphaproteobacteria	YS2	[Mogibacteriaceae]	Sutterella	<i>Bacteroides ovatus</i>
Elusimicrobia	4C0d-2	RF32	S24-7	Catenibacterium	<i>Blautia obeum</i>
	[Lentisphaeria]	Victivallales	Porphyromonadaceae	Dorea	<i>Coprococcus eutactus</i>
	Synergistia	Synergistales	Desulfovibrionaceae	[Prevotella]	<i>Butyricoccus pullicaecorum</i>
	Fusobacteriia	Fusobacteriales	Rikenellaceae	Paraprevotella	<i>Alistipes indistinctus</i>
	Methanobacteriia	Aeromonadales	Alcaligenaceae	[Eubacterium]	<i>Ruminococcus callidus</i>
	Opitutae	Methanobacteriales	Streptococcaceae	Megasphaera	<i>Lactobacillus ruminis</i>
	Verrucomicrobiae	Bifidobacteriales	[Barnesiellaceae]	Streptococcus	<i>Bacteroides eggerthii</i>
	RF3	[Cerasiococcales]	Lactobacillaceae	Lactobacillus	<i>Collinsella stercoris</i>
	Epsilonproteobacteria	Bacillales	Enterobacteriaceae	Roseburia	<i>Ruminococcus bromii</i>
	Thermoplasmata	Turicibacteriales	Clostridiaceae	Collinsella	<i>Clostridium spiroforme</i>
	Elusimicrobia	Verrucomicrobiales	Actinomycetaceae	Dialister	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>

		ML615J-28	Peptococcaceae	Lachnospira	<i>Bacteroides coprophilus</i>
		Campylobacterales	Dehalobacteriaceae	Slackia	<i>Akkermansia muciniphila</i>
		Anaeroplasmatales	Victivallaceae	Clostridium	<i>Bacteroides fragilis</i>
		Elusimicrobiales	Fusobacteriaceae	Odoribacter	<i>Bacteroides caccae</i>
		E2	Succinivibrionaceae	Desulfovibrio	<i>Streptococcus anginosus</i>
		SHA-98	Synergistaceae	Phascolarctobacterium	<i>Coprococcus catus</i>
		Neisseriales	Methanobacteriaceae	Dehalobacterium	<i>Eggerthella lenta</i>
		Pasteurellales	[Tissierellaceae]	Acidaminococcus	<i>Bulleidia p-1630-c5</i>
		Gemellales	Bifidobacteriaceae	Actinomyces	<i>Desulfovibrio D168</i>
			[Cerasiococcaceae]	Bulleidia	<i>Dorea formicigenerans</i>
			Leuconostocaceae	Christensenella	<i>Veillonella dispar</i>
			Helicobacteraceae	Alistipes	<i>Clostridium hathewayi</i>
			Eubacteriaceae	Adlercreutzia	<i>Collinsella aerofaciens</i>
			Oxalobacteraceae	Bilophila	<i>Pyramidobacter piscolens</i>
			Turicibacteraceae	Butyricicoccus	<i>Streptococcus agalactiae</i>
			Micrococcaceae	Succinivibrio	<i>Clostridium symbiosum</i>
			Verrucomicrobiaceae	Anaerostipes	<i>Butyrivibrio crossotus</i>
			Pasteurellaceae	Methanobrevibacter	<i>Bacillus halodurans</i>
			Staphylococcaceae	Mitsuokella	<i>Clostridium butyricum</i>
			Aerococcaceae	Megamonas	<i>Rothia mucilaginosa</i>
			Bacillaceae	Holdemania	<i>Clostridium colicanis</i>
			Gemellaceae	Lactococcus	<i>Bulleidia moorei</i>
			Dethiosulfovibrionaceae	AF12	<i>[Ruminococcus] torques</i>
			EtOH8	Anaerofilum	<i>Streptococcus sobrinus</i>
			Elusimicrobiaceae	Oribacterium	<i>Clostridium hiranonis</i>

			[Methanomassiliicocaceae]	Coprobacillus	[Euabacteriumcylindroides]
			Neisseriaceae	Synergistes	Lactobacillus delbrueckii
			Corynebacteriaceae	Mogibacterium	Roseburia inulinivorans
			Peptostreptococcaeae	Fusobacterium	Lactobacillus helveticus
			Anaeroplasmataceae	Leuconostoc	Ruminococcus albus
				Lachnobacterium	Lactobacillus mucosae
				Veillonella	Alistipes putredinis
				Bifidobacterium	Clostridium lavalense
				Atopobium	Ruminococcus gauvreauii
				Anaerotruncus	Lactobacillus zeae
				Butyrivibrio	Coprobacillus cateniformis
				Rc4-4	Lactococcus garvieae
				Eggerthella	Succinatimonas hippei
				Cloacibacillus	Clostridium perfringens
				Parvimonas	Victivallis vadensis
				Akkermansia	Clostridium ramosum
				Peptococcus	Alistipes massiliensis
				Turicibacter	
				Helicobacter	
				Porphyromonas	
				Pseudoramibacter_Eubacterium	
				SMB53	
				VadinCA11	
				Alloscardovia	
				Neisseria	

				Peptoniphilus	
				Nesterenkonia	
				Finegoldia	
				Anaerococcus	
				Corynebacterium	
				Proteus	
				Victivallis	
				Anaerovibrio	
				Oxalobacter	
				Pyramidobacter	
				Staphylococcus	
				Methanosphaera	
				Succinatimonas	
				RFN20	
				CF231	
				Epulopiscium	
				Bacillus	
				Rothia	
				Moryella	
				Cc_115	
				Sarcina	
				Scardovia	

Artigo Científico I

***Characterization of the intestinal microbiome in
eutrophic, obese omnivores, and vegetarians***



Characterization of the intestinal microbiome in eutrophic, obese omnivores, and vegetarians

Tatiana Cristina Figueira Polo¹ · Mariana Righetto de Ré Lai¹ · Hélio Amante Miot¹

Received: 13 September 2021 / Accepted: 23 December 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Switzerland AG 2022

Abstract

Purpose To characterize the intestinal microbiome (IM) of omnivores (obese or eutrophic) and vegetarians and correlate them with their nutritional profile in a Brazilian adult male sample.

Method Cross-sectional study involving 21 adult males: eutrophic omnivores (EuOn), obese omnivores (ObOn), and eutrophic vegetarians (EuVeg). Demographic, anthropometric, and dietary data were assessed. The characterization of IM was carried out using stool samples (fecal microbiome) and subsequent metagenomic analysis (16S amplicon).

Results EuVeg had a higher fiber intake and more daily meals than the other groups, however, caloric, protein, and carbohydrate intake was higher among obese individuals. ObOn showed the lowest ecologic richness index; in addition to a greater Firmicutes/Bacteroidetes ratio. Two profiles of intestinal microbioma were identified that allowed the characterization of the groups. EuOn were mainly represented by the *Christensenellaceae* family and the *Faecalibacterium prausnitzii* species. EuVeg were represented by the *Coriobacteriaceae* family, and the *Prevotella copri* species. ObOn were represented by the *Enterobacteriaceae* family and by the *Blautia producta* species.

Conclusion Omnivorous (obese and eutrophic) and vegetarian men presented different patterns of IM according to the ecologic diversity and the ratio of Firmicutes/Bacteroidetes phyla. The patterns of IM were correlated with the nutrient composition of the diet, substantiating dietetic interventions for the modulation of IM.

Keywords Gastrointestinal microbiome · Diet · Vegetarian diet · Western diet · Obesity · Microbiota

Introduction

The microbiome is characterized as the collection of all microorganisms and their genetic load in a particular environment (e.g., skin or gut) that can interact with their host. Currently, the human IM is the most studied, particularly because it is strongly related to the metabolism of carbohydrates, fatty acids, lipopolysaccharides, and bile acids, additionally, it participates in the modulation of systemic inflammation. [1]

IM consists of an unstable flora that varies according to several factors, such as sex, type of delivery, breastfeeding, age, diet, lifestyle (smoking, alcohol consumption, stress, and sleep profile), hygiene, antimicrobial therapy, physical exercise practice, geographic location, and some diseases. [2]

The imbalance of bacterial populations is called dysbiosis, which is the target of intense research related to the development of various disorders such as intestinal diseases (Crohn's disease, celiac disease, irritable bowel syndrome, and pseudomembranous colitis), cardiometabolic diseases (metabolic syndrome, diabetes, and obesity), psychiatric disorders (depression, anxiety, and autism), dermatological conditions (atopic dermatitis and psoriasis), and autoimmune diseases (rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus). Despite the simplicity of the phylogenetic characterization of individual IM (e.g., each species), it does not provide deep information on functional repertoires, an ecologic approach is accepted as more informative. [3–5]

✉ Tatiana Cristina Figueira Polo
tatiana.figueira@yahoo.com.br

Mariana Righetto de Ré Lai
marianardere@gmail.com

Hélio Amante Miot
helioamiot@gmail.com

¹ Department of Dermatology and Radiotherapy, FMB-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil

Bacterial cells are unequally distributed along the length of the gastrointestinal tract and, the number of bacteria can vary in different compartments: 10 to 103 bacteria/g in the stomach and duodenal contents, 104 to 107 bacteria/g in the small intestine, and 1.011 to 1.012 bacteria/g in the large intestine, the most studied compartment. The proportion of the most abundant large intestinal phyla: Firmicutes and Bacteroidetes (F/B), is associated with nutrient absorption and with the metabolism of carbohydrates and lipids. [6] From a metabolic point of view, the higher F/B ratio characterizes a variation in the population of bacteria that metabolize L-carnitine to trimethylamine N-oxide (TMAO), a pro-atherogenic metabolite that alters the turnover of cholesterol and stimulates macrophage activity. [7]

The F/B ratio also influences the metabolism of carbohydrates, leading to an excess of energy to the host and alteration in the production of medium-chain (MCFA) and short-chain (SCFA) fatty acids. A greater F/B ratio is associated with the increase of intestinal synthesis acetate and reducing butyrate, which promotes insulin resistance and ghrelin production (increasing hunger). Thus, intestinal dysbiosis can act simultaneously as a cause and consequence of obesity and related diseases. [8, 9]

Diet can modulate the IM composition. The excess of saturated fat and low fiber consumption leads to the reduced intestinal synthesis of MCFA and butyrate. Moreover, it increases the production of acetate, leading to impairment of the integrity of the intestinal permeability. This is explained by the activation of mast cells in the intestinal mucosa, which implies the secretion of inflammatory mediators (TNF- α , IL-1B, IL-4, and IL-13), favoring the translocation of lipopolysaccharide (LPS) through the intestinal wall. [10, 11] High concentrations of LPS were associated with a high-fat diet, and it can also trigger chronic subclinical inflammation. [12, 13]

Animal source proteins, saturated fats, sugars, and sodium predominates on the Western diet affect the composition of IM. Characteristically, *Bacteroides* and *Clostridium/Ruminococcus* are prevalent in the IM from individuals under animal protein-rich diets. Nevertheless, nondigestible fibers are the main modulating factor of IM, which are associated with an increase in the diversity of bacteria that can carry out the fermentation process of dietary fibers, such as *Prevotella* and *Lachnospira*. This pattern regularizes the production of butyrate, propionate, and acetate. These bacteria are directly linked to the regulation of hormones responsible for appetite control, epithelial cell proliferation, and intestinal permeability. [14–17]

Instead, vegetarians consume plant-based proteins, leading to lower ingestion of vitamin B12, sodium, iron, and cholesterol. However, it is rich in fiber, bioactive compounds, potassium, magnesium, ascorbic, and folic acids. Thus, vegetarians, vegans, and ovo-lacto vegetarians have

reduced TMAO levels, which may be a consequence of a different IM composition. [18–20]

Studies that investigate IM in vegetarians and omnivores with a Western diet are scarce. In Brazil, the IM of vegetarians has not been characterized yet, nor have their characteristics been compared with omnivores (eutrophic and obese). This investigation aimed to characterize the IM of omnivorous Brazilian adult males (obese or eutrophic) and compare them with vegetarians. In addition, to correlate aspects of the intestinal microbiome with their dietary the participants resulted in the identification of profile (Fig. 1).

Methods

The present study has a cross-sectional design, involving 21 nonsmokers males (18–65 years): 7 eutrophic omnivores (EuOn), 7 obese omnivores (ObOn), and 7 eutrophic vegetarians (EuVeg), who had not changed their diet on the last 3 months, neither used antibiotics, laxatives, or anti-inflammatory drugs, nor report bowel changes in the last week. Women were not included to homogenize the sample.

The study was approved by the Ethics Committee for Research on Human Beings of the Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB/UNESP (no. 3.743.366), and all individuals signed the informed consent form.

The research was conducted at the Dermatology outpatient clinic of the Faculdade de Medicina de Botucatu from March 2020 to February 2021. The sample was originated from the residents of Botucatu-SP, recruited from the dermatological clinic.

Demographic, socioeconomic, and dietary data were obtained through personal interviews; the anthropometric and dietary assessments were carried out by nutritionists.

Dietary assessment was obtained using the 24-h recall (24hR), with a detailed report on food consumption in the last 24 h, regarding data on types of food, beverages on size, portions, or volume. Subsequently, the data were transformed into grams of energy, macronutrients, and micronutrients by the NDSR (Nutritional Data System for Research) software. [21]

The composition and diversity of the IM were estimated based on the fecal microbiome of the participants. Stool samples were collected to obtain the genetic material and subsequent analysis of them. The individuals were instructed to carry out the collection of the first evacuation of the day in a specific tube at their residence. After the collection, the stool samples were delivered to the responsible researcher and transported refrigerated (dry ice: –28 °C) to the Biotechnology Research and Innovation Laboratory (BPI, Botucatu-SP), where they were stored in a freezer –80 °C until the moment of DNA extraction and further analysis.

small fragments from the total population of molecules and primers and reaction debris. After this step, the quantification was performed using the real-time PCR methodology using QuantStudio 3 Real-Time thermocycler (Applied Biosystems) and KAPA-KK4824 Kit (Library Quantification Kit, Illumina/Universal), all according to the manufacturers protocol.

An equimolar pool of DNA was generated by normalizing all samples to 3 nM for sequencing, which was conducted using the next-generation Illumina MiSeq sequencing system (Illumina® Sequencing) and MiSeq Reagent Kit V2 kit Nano 300 cycles – 2 × 150 bp reading.

The Greengenes database 13_8 99% OTUs from 515F/806R region of sequences was used to identify the taxon sequences and only sequences with more than 97% of analogy (reliability) were considered. [22]

The main variables of the study are the diversity of the intestinal flora identified in each microbiome evaluated by the diversity indices (Hill) according to each category of taxonomic unit (UTN) and the proportion between the F/B phyla between the groups. [23] Variables were evaluated according to diet, age, food intake pattern, *n*, and body mass index.

Qualitative variables were represented by percentages, and the quantitative variables were represented as means and standard deviations. The normality of the samples was assessed using the Shapiro–Wilk test. [24] The quantification of the relative abundances of UTN was compared between groups by generalized linear models and adjusted for the age of the participants. The models were adapted to the most appropriate probability distributions for each sample (e.g., gamma), and the correction for multiple comparisons was performed using the Šidák procedure. [25] Significance was set as *p*-value ≤ 0.05.

The relative abundance of UTN in the samples was explored from their components, which were extracted by the PLS (partial least squares) method. Data were scaled by their standard deviations. [26, 27]

The loadings of PLS components were correlated with clinical, demographic, and dietary elements by Spearman's correlation test. [28]

The data were tabulated in MS Excel 2010 and analyzed using IBM SPSS 25v and Statistica 10v software. [29]

Results

The main demographic and dietary data are shown in Table 1. The number of meals and fiber intake was higher in EuVeg, while the total intake of energy, protein, and carbohydrates was higher in ObOn.

The IM analysis of the participants resulted in the identification of 1376 taxonomic units (UTN) (Figure 3 and Supplementary Table 4).

The IM diversity of the participants was estimated by the relative abundance of the groups, the Hill diversity indices (wealth, Shannon, and Simpson), and the relationship between the F/B phyla (Table 2). The ObOn group had the lowest diversity index and a higher F/B ratio than the EuOn group.

Three PLS components accounted for up to 93.5% of group variance. Figure 2 shows the projection of cases according to the load of the components. Loads of EuOn components were higher than ObOn and EuVeg for PLS1 (*p* < 0.05); EuVeg loads were higher than ObOn for PLS2 (*p* < 0.01).

The UTN that carried the largest components of PLS1 (EuOn) were the families *Mogibacteriaceae*,

Table 1 Main demographic and dietary data of participants (*n* = 21)

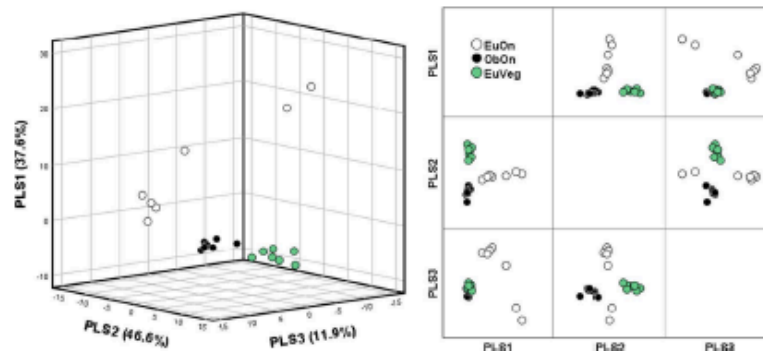
	Eutrophic omnivorous	Obese omnivore	Eutrophic vegetarian
Age (years)*	39.7 (14.1)	42.1 (9.5)	25.4 (2.5) ^{bc}
BMI (kg/m ²)*	23.4 (1.2)	38.9 (6.5) ^{ac}	24.3 (2.6)
No. of meals/day*	5.2 (0.8) ^a	2.9 (0.7)	6.1 (0.7) ^{bc}
Total energy (kcal)*	2775.1 (99.4) ^a	4943.6 (946.1)	2314.3 (129.1) ^{bc}
Carbohydrates (g)*	385.4 (32.8)	693.6 (134.9) ^{ac}	362.2 (22.8)
Carbohydrates (%)*	55.5 (4.2)	56.3 (4.9)	62.2 (1.9) ^{bc}
Proteins (g)*	143.5 (15.1)	254.3 (71.5) ^{ac}	58.4 (21.6) ^b
Proteins (%)*	20.6 (2.6)	20.4 (3.2)	10 (3.8) ^{bc}
Fats (g)*	73.9 (19.7)	128.6 (47.6) ^{ac}	72 (9.7)
Fats (%)*	23.9 (6.0)	23.3 (7.2)	27.8 (3.2)
Fibers (g)*	29.1 (3.6) ^a	13.1 (4.7)	42.4 (7.1) ^{bc}
Sugar (g)*	50.2 (14.1)	269.3 (44.4) ^{ac}	86.3 (78.7)

* Mean (standard deviation); ^a*p* < 0.05, eutrophic versus omnivorous obese omnivore; ^b*p* < 0.05, eutrophic versus omnivorous eutrophic vegetarian; ^c*p* < 0.05, obese versus omnivorous eutrophic vegetarian; *BMI*, body mass index; *kcal*, kilocalories; *g*, grams; %, percentage of intake.

Table 2 Diversity indices (mean and standard deviation) between groups ($n=21$)

	Eutrophic omnivorous	Obese omnivore	Eutrophic vegetarian	<i>p</i> -value*
Relative abundance	66.622 (12.370)	57.409 (11.822)	63.744 (13.691)	0.180
Hill's diversity				
$q=0$ (Richness)	168.86 (56.45)	113.57 (35.52) ^{a,c}	136.57 (21.14)	0.005
$q=1$ (Shannon)	44.40 (19.07)	31.50 (15.62)	33.59 (15.18)	0.161
$q=3$ (Simpson)	14.20 (6.45)	12.63 (7.35)	11.83 (7.29)	0.824
Firmicutes/Bacteroidetes	1.95 (0.46)	17.89 (21.18) ^a	6.47 (13.11)	0.019

**p*-value adjusted for age. ^a $p \leq 0.05$, eutrophic versus omnivorous obese omnivore; ^b $p \leq 0.05$, eutrophic versus omnivorous eutrophic vegetarian; ^c $p \leq 0.05$, obese versus omnivorous eutrophic vegetarian.

Fig. 2 Loads of participants according to the three PLS components ($n=21$)

Ruminococcaceae, *Christensenellaceae*, the genera *Butyrivibrio* sp., *Oscillospira* sp., and the order *Clostridiales*.

The largest loads of the PLS2 component (EuVeg) were the *Coriobacteriaceae* family, the genera *Desulfovibrio* sp., *Paraprevotella* sp., the order *Clostridiales*, and the species *Ruminococcus callidus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Prevotella copri*, and *Eubacterium cylindroides*.

The smallest loads of the PLS2 component (ObOn) were the family, *Enterobacteriaceae* and the genera *Ruminococcus* sp., *Coproccoccus* sp., *Holdemania* sp., beyond species *Ruminococcus torques* and *Blautia producta*.

The correlations of the demographic and dietary data with the component loads were significant only for PLS1 and PLS2 (Table 3). There were positive correlations between PLS2 with the number of meals and fiber intake; and negative with protein and carbohydrate consumption, as well negative correlations between PLS1 and BMI.

Discussion

In this study, omnivorous eutrophics, omnivorous obese, and vegetarian eutrophics differed in alimentary aspects and also in the characterization of IM. Especially a lower IM diversity and a higher F/B ratio were identified in omnivorous obese compared to the omnivorous eutrophic. Diversity is

Table 3 Correlation coefficient (ρ) between the main demographic and dietary data of the participants, with the main component loads ($n=21$)

	PLS1	PLS2	PLS3
Age (years)	-0.03	-0.57*	-0.24
BMI (kg/m ²)	-0.72*	-0.59*	-0.41
No. of meals/dia	0.40	0.86*	0.25
Energy intake (kcal)	-0.32	-0.90*	-0.27
Carbohydrates (g)	-0.51*	-0.71*	-0.50
Carbohydrates (%)	-0.21	0.54*	-0.17
Proteins (g)	-0.19	-0.84*	-0.39
Proteins (%)	0.17	-0.61*	-0.29
Fats (g)	-0.46*	-0.54*	0.02
Fats (%)	-0.01	0.21	0.32
Fibers (g)	0.30	0.92*	0.33
Sugar (g)	-0.48*	-0.64*	-0.46*

BMI, body mass index.

* $p \leq 0.05$.

crucial to a healthy gut microbiome, accounting for multiple microorganisms capable of performing similar functions. [30] Actually, the microbial composition highly differs among healthy individuals, however, the greater microbial diversity shows a preventive effect on long-term weight

gain, and most studies have noted that the ratio of Firmicutes to Bacteroidetes is significantly higher in obese subjects. [31–35] Furthermore, there are positive correlations between an increased amount of Bacteroidetes in stools and low weight, as well as between Firmicutes and the development of obesity. [36]

The gut microbiota plays a major role in energy metabolism through the production of SCFAs that are produced by colonic fermentation involving anaerobic catabolism of dietary fiber, protein, and resistant starch. In other words, microbial waste products produced by IM contribute to the balance of gut homeostasis. SCFAs, specifically acetate, propionate, and butyrate, can impact human metabolism. The favorable effects of metabolic of these products have been observed on body weight, insulin sensitivity, and glucose balance. [37–40]

The greater diversity of IM is involved in the strengthening of the intestinal barrier, reducing inflammation, and has a positive effect on lipid metabolism. [41] Furthermore, SCFAs contribute to regulating satiety and reducing appetite. [42] Especially, butyrate production is a key mechanism by which gut microbes contribute to the maintenance of gut homeostasis and protect against dysbiosis, however, the overproduction of acetate leads to an influx of substances into the bloodstream, providing chronic inflammatory and immunological alterations, both locally and systemic. [43, 44]

The lower ecological diversity in the IM of obese individuals was evidenced in different population groups, the lower richness and diversity of species reveals intestinal dysbiosis and, consequently, can be a factor for increased permeability and the other consequences mentioned above. [45]

In this study, it was observed that the vegetarians had the habit of having more number daily meals, ingesting a higher amount of fiber, but smallest values of total energy and protein compared to the other groups. Foods consumed *in natura* are sources of soluble fiber present in vegetables, fruits, vegetables, cereals, and pulses, characteristic that represents most of the dietary routine of those adept at vegetarianism. [46] The “Mediterranean” and vegetarian diets, that is, with a greater demand for fresh foods (abundant fruits, vegetables, olive oil, and oily fish) are known for their anti-inflammatory effects that can prevent dysbiosis and subsequent intestinal disease. [47]

On the other hand, obese people had a higher total intake of carbohydrates, fats, and proteins. These elements constitute a dietary pattern of a Western diet, low in fresh foods and nutrients, important to maintain a healthy microbiome. The increased consumption of industrialized products might promote the development of diseases and weight gain. [48]

Among the groups that characterized EuOn, *Christensenellaceae* is a family recently described in the Firmicutes phylum. In different populations studied, its relative

abundance in human IM is inversely related to BMI. Furthermore, it is negatively associated with the development of inflammatory bowel disease. [49]

Faecalibacterium prausnitzii was also more abundant among EuOn. This species is considered one of the main producers of butyrate, obtained through fiber fermentation that has a crucial role in intestinal health and the well-being of the host by strengthening the intestinal barrier. [50]

Plant-based diets appear to promote the development of more diverse and stable microbial systems. Among the bacterial groups that characterized the EuVeg, it was possible to identify the *Coriobacteriaceae* family. In an animal model that followed kale supplementation, there was an increase of this family in the intestine. These bacteria play important roles, such as the conversion of bile salts, steroids, and activation of dietary polyphenols, besides being fundamentals on the production of menaquinone-6 homologs of vitamin K. [51]

The *Prevotella copri* species were also more abundant in EuVeg, corroborating recent findings of this species in association with a diet rich in plant polysaccharides. [52, 53]

In ObOn, the *Blautia producta* is associated with the release of pro-inflammatory cytokines (TNF α , interleukins (IL) 1, 2, 6, and 7), being more abundant in patients with insulin resistance. [54, 55]. Interestingly, there was a reduction in this gender after the intervention of physical exercise in obese, prediabetic, and sedentary individuals, also promoting a balance of endotoxemia. [56]

It is important to emphasize that the genus *Blautia* was associated with the accumulation of visceral fat, regardless of sex in adults. The accumulation of visceral fat located around the abdominal organs such as the liver, stomach, gallbladder, intestines, kidneys is strongly associated with the development of diseases such as myocardial infarction, hormonal disorders, cancer, and mortality. [57]

Despite the association between IM and cardiovascular diseases, there are still few studies about the influence of the exact composition or the functional capacity of IM concerning these diseases. A study with stool metagenome of 218 individuals with atherosclerotic cardiovascular disease identified an increase in the abundance of the genus *Streptococcus* and the *Enterobacteriaceae* family compared to 187 healthy controls. [58]

The profiles of IM of our sample allowed us to characterize the groups, and they were also correlated with the nutritional dietary composition of the participants, like carbohydrates, fat, protein, and fibers. The strongest correlations were observed in fiber consumption, protein, and energy intake. Further prospective investigations should be performed to prove dietary intervention modifying IM and clinical parameters in this population.

This study has limitations, mostly related to modest sampling, which did not prevent the identification of IM

patterns between groups. In addition, the common origin in terms of population group and geographic location maximizes the homogeneity of the groups. Another aspect refers to the sampling of the fecal microbiome, which consists of the transitory flora of the colon, in contrast to the permanent flora, that is linked to the epithelium, which is less subject to variation. However, this investigation requires an endoscopic procedure for sampling. Moreover, most of the studies on IM are based on the fecal microbiome. [59–63]

Furthermore, detailed research of the processed food ingestion (e.g., NOVA classification) should be performed using a food frequency questionnaire (FFQ) to infer the role of different food, instead of their nutrient composition, in the IM.

Conclusion

Omnivorous (obese and eutrophic) and vegetarian males presented different patterns of IM according to the ecologic diversity and the proportion of F/B phyla. The patterns of IM were correlated with the nutrient composition of the diet, substantiating dietetic interventions for the modulation of IM.

List of Abbreviations SCFA: Short chain fatty acid; AGCM: Medium chain fatty acid; BMI: Body mass index; EuOn: Eutrophic omnivores; EuVeg: Eutrophic vegetarians; F/B: Firmicutes and Bacteroidetes; FFQ: Food frequency questionnaire; IM: Intestinal microbiome; IR: Insulin resistance; LPS: Lipopolysaccharide; NDSR: Nutritional data system or research; ObOn: Obese omnivores; TMAO: Trimethylamine N-oxide; UTN: Taxonomic unit

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s41110-021-00153-5>.

Acknowledgements Prof. Dr. Renan Carlos de Rê Silveira, who revised the English of this manuscript.

Author contribution Figueira, TCP, Miot, HA, and Lai, MRR were responsible for the writing of the article. Miot, HA was responsible for the statistics. All authors reviewed the literature. All authors read and approved the final manuscript.

Funding This study was funded by FUNADERM (Regulation of the Support Fund for Dermatology).

Availability of data and material Not applicable.

Code availability Not applicable.

Declarations

Ethics approval The project was approved by the Research Ethics Committee of the institution (no. 3.317.869).

Consent to participate Participants' consent was obtained for this study.

Consent for publication Participants agreed to publish their anonymous data.

Conflict of interest The authors declare no competing interests.

References

- Landman C, Quévrain E. Gut microbiota: description, role, and pathophysiological implications. *Rev Med Int*. 2016;37:418–23. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.12.012>.
- Khan M, Firose WH. Environmental exposures and autoimmune diseases: contribution of gut microbiome. *Front Immunol*. 2020;10:3094–105. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03094>.
- Chen X, Devaraj S. Gut microbiome in obesity, metabolic syndrome, and diabetes. *Curr DiabRep*. 2018;18:129–35. <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1104-3>.
- Siljander H, Honkanen J, Knip M. Microbiome and type 1 diabetes. *EBioMedicine*. 2019;46:512–21. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.06.03>.
- Song H, Fang F, Tomasson G, et al. Association of stress-related disorders with subsequent autoimmune disease. *JAMA*. 2018;319:2388–400. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.7028>.
- Rumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473:174–80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>.
- Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, et al. What is the healthy gut microbiota composition? a changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*. 2019;7:14–36. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>.
- Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, et al. Food components and dietary habits: keys for a healthy gut microbiota composition. *Nutrients*. 2019;11:2393–416. <https://doi.org/10.3390/nu11102393>.
- Valdes A, Walter J, Segal E, Spector T. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ*. 2018;361:36–44. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2179>.
- Cândido F, Valente F, Grzeskowiak L, et al. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: mechanisms and clinical implications on obesity. *Int J Food Sci Nutr*. 2018;69:125–43. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1343286>.
- Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500:541–6. <https://doi.org/10.1038/nature12506>.
- Tang W, Bäckhed F, Landmesser U, Hazen S. Intestinal microbiota in cardiovascular health and disease. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73:2089–105. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.03.024>.
- Scaldaferri F, Pizzoferrato M, Gerardi V, Lopetuso L. The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46:S12–7. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31826ae849>.
- Gentile C, Weir T. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. *Science*. 2018;362:776–80. <https://doi.org/10.1126/science.aau5812>.
- Zinocker M, Lindseth I. The western diet-microbiome-host interaction and its role in metabolic disease. *Nutrients*. 2018;10:E365–380. <https://doi.org/10.3390/nu10030365>.
- García-Mantrana I, Selma-Royo M, Alcantara C, Collado M. Shifts on gut microbiota associated to mediterranean diet adherence and specific dietary intakes on general adult population.

- Front Microbiol. 2018;9:890–901. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00890>.
17. Mitsou E, Kakali A, Antonopoulou S, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with the gut microbiota pattern and gastrointestinal characteristics in an adult population. *Br J Nutr*. 2017;117:1645–55. <https://doi.org/10.1017/S0007114517001593>.
 18. Losasso C, Eckert E, Mastroianni E, Villiger J, et al. Assessing the influence of vegan, vegetarian and omnivore oriented westernized dietary styles on human gut microbiota: a cross sectional study. *Front Microbiol*. 2018;9:317–29. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00317>.
 19. Wong M, Yi C, Liu T, Lei W, et al. Impact of vegan diets on gut microbiota: an update on the clinical implications. *Tzu Chi Medical Journal*. 2018;30:200–3. https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj_21_18.
 20. Matijasic B, Obermajer T, Lipoglavsek L, et al. Association of dietary type with fecal microbiota in vegetarians and omnivores in Slovenia. *Eur J Nutr*. 2014;53:1051–64. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0607-6>.
 21. Nutritional Data System for Research (NDSR). (2009) Nutrition coordinating center, provides databases, software, training, and services for the collection and analysis of dietary data. University of Minnesota.
 22. Bokulich A, Kaehler D, Rideout R, et al. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome*. 2018;6:90–107. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0470-z>.
 23. Chao A, Shen J. Nonparametric estimation of Shannon's index of diversity when there are unseen species in sample. *Environ Ecol Stat*. 2003;10:429–43. <https://doi.org/10.1023/A:1026096204727>.
 24. Miot H. Assessment of data normality in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2017;16:88–91. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.041117>.
 25. Miola AC, Miot HA. P-value and effect-size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2021;20: e20210038. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.210038>.
 26. Roswell M, Dushoff J, Winfree R. A conceptual guide to measuring species diversity. *Oikos*. 2021;130:321–38. <https://doi.org/10.1111/oik.07202>.
 27. Woloszynek S, Zhao Z, Chen J, Rosen GL. 16S rRNA sequence embeddings: meaningful numeric feature representations of nucleotide sequences that are convenient for downstream analyses. *PLoS Comput Biol*. 2019;15:1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006721>.
 28. Miot H. Correlation analysis in clinical and experimental studies. *Jornal Vascular Brasileiro*. 2018;17:275–9. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.174118>.
 29. Wakita Y, Shimomura Y, Kitada Y, et al. Taxonomic classification for microbiome analysis, which correlates well with the metabolite milieu of the gut. *Microbiology*. 2018;18:1–11. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1311-8>.
 30. Menni C, Jackson MA, Pallister T, et al. Gut microbiome diversity and high-fibre intake are related to lower long-term weight gain. *Int J Obes*. 2017;7:1099–105. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.66>.
 31. Magne, Fabien, Gotterland et al., (2020). The Firmicutes/Bacteroidetes ratio: a relevance marker of gut dysbiosis in obese patients?. *Nutrients* 12: 1474 – 1491. <https://doi.org/10.3390/nu12051474>.
 32. Bandt J, Waligora A, Butel M. Intestinal microbiota in inflammation and insulin resistance. *Relevance to Humans. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2011;14:334–40. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328347924a>.
 33. Jumpertz R, Le D, Turnbaugh P, et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr*. 2011;94:58–65. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.010132>.
 34. Duncan S, Lobley G, Holtrop G, et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes*. 2008;32:1720–4. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.155>.
 35. Cardinelli C, Sala P, Alves C, et al. Influence of intestinal microbiota on body weight gain. A Narrative Review of the Literature. *Obes Surg*. 2015;25:346–53. <https://doi.org/10.1007/s11695-014-1525-2>.
 36. Aoun A, Darwish F, et al. The influence of the gut microbiome on obesity in adults and the role of probiotics, prebiotics, and synbiotics for weight loss. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2020;25:113–23. <https://doi.org/10.3746/pnf.2020.25.2.113>.
 37. Pushpanathan P, Mathew G, Selvarajan S, et al. Gut microbiota and its mysteries. *Indian J Med Microbiol*. 2019;37:268–77. https://doi.org/10.4103/ijmm.ijmm_19_373.
 38. Machate D, Figueiredo P, Marcelino G, et al. Fatty acid diets: regulation of gut microbiota composition and obesity and its related metabolic dysbiosis. *Int J Mol Sci*. 2020;11:4093–115. <https://doi.org/10.3390/ijms21114093>.
 39. Ohira H, Tsutsui W, Fujioka, et al. Are short chain fatty acids in gut microbiota defensive players for inflammation and atherosclerosis? *J Atheroscler Thromb*. 2017;24:660–72. <https://doi.org/10.5551/jat.RV17006>.
 40. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector, et al. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *Sciences and Politics of Nutrition*. 2018;361:k2179-2211. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2179>.
 41. Gallusiaux C, Marinelli L, Blottiere H, et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *Proceedings of the nutrition society*. 2021;80:37–49. <https://doi.org/10.1017/S0029665120006916>.
 42. Chambers E, Morrison D, Frost G. Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proceedings of the nutrition society*. 2015;74:328–326. <https://doi.org/10.1017/S0029665114001657>.
 43. Knudsen KE, Laerke HN, Hedemann MS, et al. Impact of diet-modulated butyrate production on intestinal barrier function and inflammation. *Nutrients*. 2018;10:1499–518. <https://doi.org/10.3390/nu10101499>.
 44. Stephens M, Weid P. Lipopolysaccharides modulate intestinal epithelial permeability and inflammation in a species-specific manner. *Gut Microbes*. 2019;11:421–32. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1629235>.
 45. Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos G, Dalamanga M. Understanding the role of the gut microbiome and microbial metabolites in obesity and obesity-associated metabolic disorders: current evidence and perspectives. *Current Obesity Reports*. 2019;8:317–32. <https://doi.org/10.1007/s13679-019-00352-2>.
 46. Parker WH, Vadeveloo MK. Diet quality of vegetarian diets compared with nonvegetarian diets: a systematic review. *Nutr Rev*. 2019;3:144–60. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy067>.
 47. Tomasello G, Mazzola M, Leone A, et al. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomedical Papers*. 2016;4:461–6. <https://doi.org/10.5507/bp.2016.052>.
 48. Sen T, Cawthon C, Ihde BT, et al. Diet-driven microbiota dysbiosis is associated with vagal remodeling and obesity. *Physiology & Behavior*. 2017;173:305–17. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.02.027>.
 49. Waters LJ, Ley RE. The human gut bacteria *Christensenellaceae* are widespread, heritable, and associated with health. *BMC Biol*. 2019;17:83–95. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0699-4>.
 50. Siles ML, Duncan S, Gil JG, et al. Faecalibacterium prausnitzii: from microbiology to diagnostics and prognostics. *ISME J*. 2017;11:841–52. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.176>.
 51. Shahinozzaman MD, Raychaudhuri S, Fan S, et al. Kale attenuates inflammation and modulates gut microbial composition and function in C57BL/6J Mice with diet induced obesity.

- Microorganisms. 2021;9:238–58. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020238>.
52. Trefflich I, Jabakhanji A, Menzel J, et al. Is a vegan or a vegetarian diet associated with the microbiota composition in the gut? Results of a new cross-sectional study and systematic review. *Food Sci Nutr*. 2019;60:2990–3004. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1676697>.
 53. Dinsmoor A, Lopez MA, Khan NA, et al. A systematic review of dietary influences on fecal microbiota composition and function among healthy humans 1–20 years of age. *Adv Nutr*. 2021;4:1080–93. <https://doi.org/10.1093/advances/nma047>.
 54. Tuovinen E, Keto J, Nikkila J, et al. Cytokine response of human mononuclear cells induced by intestinal *Clostridium* species. *Anaerobe*. 2013;19:70–6. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.11.002>.
 55. Egshatyan L, Kashtanova D, Popenko A, et al. Gut microbiota and diet in patients with different glucose tolerance. *Endocr Connect*. 2016;5:1–9. <https://doi.org/10.1530/EC-15-0094>.
 56. Kumail KM, Carmen CM, Jari JE, et al. Exercise training modulates gut microbiota profile and improves endotoxemia. *Med Sci Sports Exerc*. 2020;52:94–104. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002112>.
 57. Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, et al. *Blaudia* genus associated with visceral fat accumulation in adults 20–76 years of age. *NPJ Biofilms and Microbiomes*. 2019;28:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0101-x>.
 58. Jie Z, Xia H, Zhong S, et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Commun*. 2017;8:845–57. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00900-1>.
 59. Angus HCK, Butt AG, Schultz M, et al. Intestinal organoids as a tool for inflammatory bowel disease research. *Front Med*. 2020;6:334–43. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00334>.
 60. Walker J, Armet AM, Finlay BB, et al. Establishing or exaggerating causality for the gut microbiome: lessons from human microbiota-associated rodents. *Cell*. 2020;2:221–32. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.025>.
 61. Ni J, Wu GD, Albenberg L, et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14:573–84. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.88>.
 62. Lee STM, Kahn SA, Delmont TO, et al. Tracking microbial colonization in fecal microbiota transplantation experiments via genome-resolved metagenomics. *Microbiome*. 2017;5:1–10. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0270-x>.
 63. Lee, M. e Chang, EB. (2020) Inflammatory bowel disease (IBD) (inflammatory bowel disease and the microbiome: looking for clues at the crime scene). *Gastroenterology* 2:524–537. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.09.056>

Artigo Científico II

***Caracterização do microbioma intestinal de
homens brasileiros com psoríase em comparação
com controles onívoros e vegetarianos***

já os gêneros *Mogibacterium*, *Collinsella* e *Desulfovibrio* diferiram dos onívoros. Identificou-se padrão de microbioma ligado à psoríase (plsPSO) que se associou a maiores níveis de LPB ($\rho = 0,39$; $p = 0,02$) e menor ingestão de fibras dietéticas ($\rho = -0,71$; $p < 0,01$).

Limitações do estudo: Apenas homens adultos foram avaliados.

Conclusão: Houve diferença no microbioma intestinal de homens adultos com psoríase em relação a onívoros e vegetarianos saudáveis. O padrão de microbioma encontrado correlacionou-se com a ingestão de fibras alimentares e com os níveis séricos de LPB.

© 2023 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Publicado por Elsevier Espanha, S.L.U. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

Psoríase é doença crônica inflamatória sistêmica que afeta entre 1% e 2% da população.¹ Sua patogênese é multifatorial, não sendo totalmente esclarecida, mas que envolve, além de uma base genética e estímulos ambientais, a ativação do sistema imune (inato e adaptativo), que desencadeia respostas inflamatórias locais na pele e articulações, assim como promove inflamação sistêmica de baixo grau.²

Comorbidades como obesidade, hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, síndrome metabólica, doença cardiovascular, dislipidemia e transtornos afetivos (depressão, ansiedade) são frequentes em pacientes com psoríase, substanciando o processo inflamatório sistêmico subjacente.³

Microbioma intestinal (MI) consiste em flora instável, constituída nos primeiros anos de vida, mas que varia conforme estímulos ambientais, como dieta, estilo de vida (tabagismo, consumo de álcool, exercícios físicos, estresse, sono), higiene, terapêutica com antimicrobianos, localização geográfica, sexo, idade e certas doenças. Cerca de 57% do MI é influenciado pela dieta, e apenas 12% por fatores genéticos.⁴ No microbioma fecal existem entre uma e 2.000 espécies de bactérias, distribuídas em mais de 50 filos. Cerca de 90% do MI são compostos pelos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*; uma proporção maior de *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) é associada a maior estímulo inflamatório sistêmico.⁵

A disbiose intestinal, caracterizada pelo desequilíbrio da composição do MI, pode levar ao aumento da permeabilidade intestinal e a translocação de mediadores inflamatórios intraluminais. Portanto, a caracterização do MI pode contribuir na compreensão sobre a patogênese de doenças inflamatórias sistêmicas como psoríase, doença de Crohn, artrite reumatoide e obesidade, pois há indícios de que a composição do MI esteja envolvida no curso das mesmas.⁶

Estudos clínicos foram conduzidos para explorar a relação entre MI e a atividade clínica da psoríase, com resultados ainda conflitantes.⁷ Entretanto, considera-se a modulação do MI por meio de tratamento dietético, suplementações com probióticos e transplante fecal, com potencial de interferir, além da atividade da psoríase, no curso de comorbidades, além de maximizar sua resposta terapêutica.⁸

Lipopolissacarídeo (LPS) é uma endotoxina que compõe a parede celular de bactérias gram-negativas e promove ativação do sistema imune a partir da estimulação direta de macrófagos, monócitos, células dendríticas e linfócitos B, desencadeando febre, vasodilatação (óxido nítrico) e secreção de eicosanoides.⁹ A proteína de ligação de lipopolissacarídeos (LPB) liga-se ao LPS e transfere monômeros de

LPS para as células inflamatórias através de CD14. Os níveis plasmáticos de LPB são influenciados pelas concentrações circulantes de LPS, que têm meia-vida muito curta. A exposição ao LPS induz um aumento duradouro da produção de LPB no fígado dentro de 15 a 30 minutos, com nível sérico máximo ocorrendo após 24 a 48 horas. O complexo LPS-LBP-CD14-MD2 induz uma resposta pró-inflamatória pela ativação de NF- κ B mediada pelo receptor *Toll-like-4* (TLR4) e, como tal, os níveis circulantes de LPB foram associados à inflamação sistêmica. Além disso, níveis plasmáticos da proteína C reativa quantitativa ultrasensível (PCRqt), um biomarcador sérico de inflamação sistêmica sintetizado pelo fígado, estão associadas ao aumento de LPS.¹⁰

Na América do Sul, são raros os estudos controlados que caracterizem o MI de pacientes com psoríase. Assim, o objetivo desta investigação foi caracterizar o MI de homens adultos brasileiros com psoríase, comparando-os com controles onívoros e vegetarianos.

Método

Estudo transversal envolvendo 42 homens adultos (21-65 anos) – 21 com psoríase (PSO) e 21 controles sem psoríase, dos quais 14 onívoros (ONI) e sete vegetarianos (VEG).

Todos os participantes incluídos eram não tabagistas, não etilistas, não apresentaram alterações na dieta nos últimos três meses; não usaram antibióticos, laxantes, anti-inflamatórios, ou referiram alterações intestinais na última semana, ausência de doença inflamatória intestinal, infecções, doenças autoimunes e uso de probióticos. A amostra de homens adultos do interior do estado de São Paulo foi escolhida para reduzir a variabilidade do MI, que também é influenciada por sexo, idade e localização geográfica da população.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP) sob o parecer nº 3.743.366. Todos os participante assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A pesquisa foi realizada no Ambulatório de Dermatologia da FMB, no período de março de 2020 a fevereiro de 2021. A população teve origem entre moradores da região de Botucatu (SP), pacientes com diagnóstico de psoríase, seus acompanhantes e convidados vegetarianos.

Foram obtidos dados clínicos, demográficos, socioeconômicos e dietéticos por meio de entrevistas presenciais; as avaliações antropométrica e dietética foram realizadas por nutricionista experiente (T.C.F.P.).

A avaliação dietética foi obtida pelo Recordatório de 24 horas (R24h), a partir do relato detalhado do consumo alimentar nas últimas 24 horas, com dados sobre os tipos de alimentos e bebidas, além do tamanho, porções, volume ou medidas caseiras. Posteriormente, os dados foram transformados em gramas, valores de energia, macronutrientes e micronutrientes pelo software NDSR (*Nutritional Data System for Research*).

Para estimar a gravidade da doença, foi utilizado o escore PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*), avaliado por dermatologista titulado (L.D.B.M. ou M.R.R.L.).

Para avaliar o MI, coletaram-se amostras de fezes para obtenção do material genético. Os indivíduos foram orientados a realizar a coleta de fezes da primeira evacuação do dia em tubo específico em sua residência. Após a coleta, as amostras foram entregues à pesquisadora responsável (T.C.F.P.) e transportadas refrigeradas (gelo seco: -28°C) até o laboratório Biotecnologia Pesquisa e Inovação (BPI, Botucatu-SP), e armazenadas em freezer -80°C até o momento da extração do DNA.

Para extração do material genético, foram utilizadas alíquotas de 1 g e o kit Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep (Zymo Research), de acordo com protocolo descrito pelo fabricante. Posteriormente, o material passou pelo teste de qualidade por meio da quantificação por fluorescência com a utilização do equipamento Qubit® 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific).

Para as reações de amplificação da região 16S foram realizadas triplicatas de amostras, tendo como volume final de 20 μL , contendo 10 μL de GoTaq® Colorless Master Mix 2 $\times$ (Promega, USL), 0,3 μM de oligonucleotídeo *forward* e 0,3 μM de oligonucleotídeo *reverse*, 3 μL de DNA genômico e água ultrapura estéril suficiente para completar 20 μL . As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Applied Biosystems).

Após a reação de amplificação do DNA de cada amostra, a comprovação da amplificação foi realizada por eletroforese em gel de agarose 2% corado com gel Red (Uniscience), aproximadamente 300 bp (tamanho do *amplicon*). Submeteu-se PCR para etapas de purificação utilizando *bead* magnética Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter) para remoção de fragmentos muito pequenos da população total de moléculas e restos de *primers* da reação. Após essa etapa, foi realizada a quantificação pela metodologia de PCR em tempo real utilizando termociclador QuantStudio 3 Real Time (Applied Biosystems) e kit KAPA-KK4824 (Library Quantification Kit - Illumina/Universal), todos de acordo com protocolo do fabricante.

Foi gerado um *pool* equimolar de DNA, por meio da normalização de todas as amostras a 3 nM para a realização do sequenciamento, o qual foi conduzido utilizando o sistema Illumina MiSeq de sequenciamento de nova geração (Illumina Sequencing) e kit MiSeq Reagent Kit V2 Nano 300 ciclos – leitura de 2×150 pb.

Utilizou-se o banco de dados Greengenes 13.8 99% OTUs from 515F/806R region of sequences para identificação das sequências de táxons e foram consideradas apenas sequências com mais de 97% de analogia (confiabilidade).

A abundância relativa das unidades taxonômicas (UTN) nas amostras foi explorada a partir de seus componentes extraídos pelo método *Partial Least Squares* (PLS), com dados escalonados pelos desvios-padrão.

As principais variáveis do estudo são a diversidade da flora intestinal identificada em cada MI avaliado, segundo cada categoria de UTN: abundância relativa dos grupos, pelos índices de diversidade de Hill (riqueza, Shannon e Simpson), a relação entre os filos *Firmicutes/Bacteroidetes*, abundância dos gêneros bacterianos (alfa diversidade) e os componentes dos padrões PLS (beta diversidade) identificados para os grupos. Define-se riqueza como número total de UTN identificadas na amostra.

Foram ainda coletadas amostras de 10 mL de sangue dos pacientes no ambulatório de dermatologia, pela médica responsável pelo tratamento dos pacientes (M.R.R.L.), para avaliação do LPB e PCRqt séricos. Após as coletas, as amostras foram imediatamente levadas sob refrigeração para a Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) da FMB-Unesp, para centrifugação e extração do soro. Para a análise do LPB, foi utilizado o método ELISA *sandwich*, conforme as orientações do fabricante do kit (*Human LBP DuoSet ELISA* - DY870-05, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, EUA). As amostras foram diluídas na fração 1:500. As concentrações finais de LPB foram determinadas conforme a curva padrão. As análises do PCRqt foram realizadas pelo método de imunoturbidimetria. Adotaram-se como valores normais de PCRqt ≤ 3 mg/dL, e de LPB ≤ 10 mg/mL.

Variáveis qualitativas foram representadas pelos percentuais. Variáveis quantitativas foram representadas como médias e desvios-padrão, se a normalidade for verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, ou medianas e quartis (P_{25} - P_{75}), se indicado. As abundâncias dos gêneros foram comparadas entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis. Os índices de diversidade ecológica foram comparados entre os grupos por modelos lineares generalizados, ajustado pela idade dos participantes. Os modelos foram ajustados para as distribuições de probabilidade mais adequadas a cada amostra (p. ex., gama), e a correção para múltiplas comparações foi realizada pelo procedimento de Sidák.

As cargas dos componentes PLS foram correlacionadas com dados nutricionais, níveis de LPB e de PCRqt pelo teste de correlação de Spearman, e representado como mapa térmico. Os dados foram tabulados em Excel 2010 e analisados nos softwares IBM SPSS 25 v e Statistica 10 v. A significância estatística foi definida como $p \leq 0,05$; bicaudal.

Como se trata de estudo exploratório, foi utilizada amostragem por conveniência a fim de se determinar o comportamento global dos grupos e fundamentar a análise pormenorizada de amostras *a posteriori*. Além disso, o método PLS não exige amostragem mínima para sua execução. Para as análises de correlação bivariada, considera-se suficiente uma amostra de 41 participantes para a detecção de correlação moderada ($\rho < 0,70$), considerando $\alpha = 0,01$ e poder de 90%.

Resultados

Os principais dados clínicos, demográficos, alimentares, LPB sérico e PCRqt estão dispostos na [tabela 1](#). Idade e IMC dos grupos PSO e ONI foram maiores que do grupo VEG. Do ponto de vista alimentar, os grupos PSO e ONI relataram maior consumo de carboidratos e proteínas que o grupo VEG. Quanto às fibras alimentares, o grupo PSO relatou menor ingestão de fibras que ONI e que VEG. Os níveis plasmáticos de LPB, assim

Tabela 1 Principais dados demográficos, alimentares, LPB e PCRqt séricos dos participantes (n = 42)

	Controles onívoros (n = 14)	Controles vegetarianos (n = 7)	Psoríase (n = 21)	p-valor
Idade (anos)*	41,6 (11,3) ^a	25,4 (2,5)	51,1 (11,1) ^a	<0,001
IMC (kg/m ²)*	31,1 (9,2) ^a	24,4 (2,5)	29,5 (6,2) ^a	<0,001
Energia (cal)*	3.859,4 (1297,5) ^a	2.314,3 (129,9)	3.058,0 (512,0) ^{a,b}	<0,001
Carboidratos (g)*	539,5 (185,7) ^a	362,2 (22,8)	466,9 (86,8) ^a	<0,001
Proteínas (g)*	198,9 (76,0) ^a	58,4 (21,6)	133,4 (39,3) ^{a,b}	<0,001
Lipídios (g)*	101,2 (45,5) ^a	72,0 (9,7)	73,9 (23,2)	0,022
Fibras (g)*	21,1 (9,3) ^a	42,4 (7,1)	13,8 (7,4) ^{a,b}	<0,001
LPB (mg/mL)*	6,1 (2,9)	4,8 (1,5)	7,6 (2,9) ^a	0,007
PCRqt (mg/dL)*	2,6 (3,2)	1,0 (0,6)	5,2 (9,2) ^{a,b}	0,003

IMC, índice de massa corporal; LPB, proteína ligadora de polissacarídeos; PCRqt, proteína C reativa ultrasensível, teste quantitativo.

* Média (desvio-padrão).

^a p ≤ 0,05 – comparado ao vegetariano.

^b p ≤ 0,05 – comparado ao onívoro.

Tabela 2 Índices de diversidade ecológica do microbioma intestinal entre os grupos (n = 42)

	Controles onívoros (n = 14)	Controles vegetarianos (n = 7)	Psoríase (n = 21)	p-valor ^a
Abundância relativa (10 ³) ^b	62,0 (12,6)	63,7 (13,7)	63,6 (11,0)	0,989
Diversidade de Hill ^b				
q = 0 (Riqueza)	141,2 (53,6)	136,6 (21,1)	138,5 (49,8)	0,353
q = 1 (Shannon)	38,0 (18,0)	33,6 (15,2)	39,4 (18,1)	0,507
q = 3 (Simpson)	13,4 (6,7)	11,8 (7,3)	14,5 (7,5)	0,813
Abundância segundo o filo ^c				
<i>Firmicutes</i> (10 ³)	40,1 (37,9-46,6) ^d	35,1 (29,6-37,0)	39,1 (33,1-48,8) ^d	0,049
<i>Bacteroidetes</i> (10 ³)	17,7 (6,5-23,1)	32,0 (10,9-40,4)	13,1 (6,8-23,5)	0,335
Relação F/B	2,5 (1,8-6,0)	1,0 (0,9-3,5)	3,1 (2,2-5,9) ^d	0,045

F/B, Firmicutes/Bacteroidetes.

^a p-valor ajustado para idade e índice de massa corporal.

^b Média (desvio-padrão).

^c Mediana (P₂₅-P₇₅).

^d p ≤ 0,05 – comparado aos vegetarianos;

^e p ≤ 0,05 – comparado aos onívoros.

como os níveis de PCRqt, foram maiores no grupo PSO em relação ao VEG, porém, PCRqt foi maior no PSO em relação ao ONI.

Nenhum controle VEG nem ONI eutróficos apresentou valores elevados de LPB; porém, um ONI obeso, um PSO eutrófico e dois PSO obesos apresentaram LPB > 10 mg/mL. Do mesmo modo, nenhum controle VEG nem ONI eutróficos apresentou valores elevados de PCRqt, porém dois ONI obesos, quatro PSO eutróficos e três PSO obesos apresentaram PCR > 3 mg/mL.

Entre os pacientes com psoríase, oito (32%) apresentavam doença articular, seis (24%) eram tratados exclusivamente com tópicos, seis (24%) utilizavam metotrexato, oito (32%) utilizavam acitretina e cinco (20%) utilizavam secuquinumabe. O PASI variou entre 1 e 18, com mediana (P₂₅-P₇₅) de 4 (1-7).

Quanto às comorbidades, entre os pacientes com psoríase encontraram-se dois (17%) com diabetes *mellitus*, três (25%) com hipertensão arterial e cinco (42%) com dislipidemia. Entre os onívoros, dois (13%) eram diabéticos, quatro (28%) hipertensos e seis (43%)

com dislipidemia. Nenhum dos vegetarianos apresentava comorbidades.

A análise do MI dos participantes resultou na identificação de 1.496 diferentes UTN, reunidos em 94 gêneros (tabela suplementar 1). Os índices de diversidade ecológica do MI diferiram entre os grupos e estão representados na [tabela 2](#). Quando ajustado pela idade e IMC, o filo *Firmicutes* foi menos abundante em VEG, e a relação F/B foi maior no grupo PSO que no VEG.

Quando comparados os obesos com psoríase e controles obesos, a relação F/B não apresentou diferença (p = 0,078). Entretanto, quando são comparados eutróficos com psoríase e controles eutróficos, os portadores de psoríase apresentaram maiores valores médios (DP) da relação F/B (12,1 [2,9] vs. 2,0 [1,0]; p < 0,01).

Em relação à alfa-diversidade, entre os 13 gêneros mais prevalentes nos três grupos ([fig. 1](#)), foi identificada maior proporção do gênero *Prevotella* (36%) no grupo VEG e *Blautia* em PSO (14%) e ONI (18%).

Em relação ao grupo PSO, houve diferença na abundância dos gêneros *Prevotella*, *Mogibacterium*, *Dorea*,

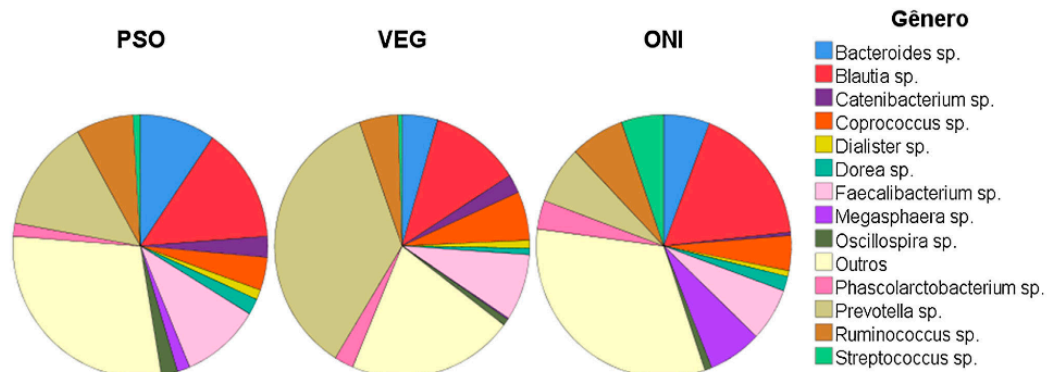


Figura 1 Alfa-diversidade. Distribuição da proporção dos 13 gêneros mais prevalentes entre os grupos PSO (psoríase), VEG (controles vegetarianos) e ONI (controles onívoros)

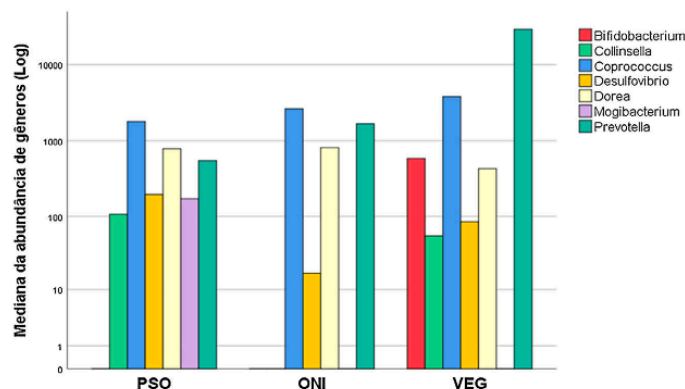


Figura 2 Alfa-diversidade. Comparação da mediana da abundância dos gêneros que apresentaram diferença entre os grupos ($p < 0,05$) PSO (psoríase), VEG (controles vegetarianos) e ONI (controles onívoros)

Bifidobacterium e *Coprococcus*, quando comparados com VEG. Já os gêneros *Mogibacterium*, *Collinsella*, *Desulfovibrio* diferiram entre os grupos PSO e ONI (fig. 2).

Quanto à beta-diversidade, dois componentes PLS representaram até 79,5% da variância dos subgrupos. A figura 3 apresenta a projeção dos casos de acordo com a carga de seus componentes, individualizando-os em quadrantes distintos. O padrão plsPSO pode ser compreendido como os carregamentos negativos de PLS1 e 2 ($\text{plsPSO} = -\text{PLS1} - \text{PLS2}$); inversamente, o padrão plsVEG pode ser representado pelos carregamentos positivos de PLS1 e 2 ($\text{plsPVEG} = \text{PLS1} + \text{PLS2}$); já o padrão plsONI pode ser representado pelo carregamento positivo de PLS1 e negativo de PLS2 ($\text{plsONI} = \text{PLS1} - \text{PLS2}$).

Os carregamentos das UTN segundo PLS1 e PLS2 estão dispostos na figura suplementar 1. Segundo os componentes plsPSO, as bactérias com maior carregamento do padrão de MI do grupo PSO foram do gênero *Coprococcus*, *Lachnospira*, *Paraprevotella*, e as espécies *Faecalibacterium prausnitzii* sp., *Prevotella stercora* sp., *Prevotella copri*

sp. e *Ruminococcus callidus* sp. Já as com menor carregamento foram dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Dialister*, *Megasphaera*, *Slackia*, e as espécies *Bacteroides fragilis* sp., *Bacteroides uniformis* sp., *Blautia producta* sp., *Butyrivibrio pullicaerum* sp. e *Parabacteroides distasonis* sp.

A figura 4 apresenta as correlações entre os níveis de LPB, PCRqt, ingesta nutricional e os padrões de MI: PSO, ONI, e VEG. Os níveis de LPB se correlacionaram inversamente com a ingesta de fibras ($\rho = -0,53$; $p < 0,01$), porém, positivamente com o componente do padrão de MI dos pacientes com psoríase ($\rho = 0,39$; $p = 0,02$). O comportamento do PCRqt não se associou ao componente do padrão plsPSO ($\rho = 0,28$, $p = 0,11$), mas com a ingesta de carboidratos ($\rho = 0,41$; $p = 0,02$) e com os níveis de LPB ($\rho = 0,46$; $p < 0,01$). Do ponto de vista alimentar, o componente do padrão de MI plsPSO se correlacionou de maneira fortemente negativa com a ingesta de fibras ($\rho = -0,71$; $p < 0,01$), assim como a menor ingesta de fibras se associou a maiores níveis de LPB e PCRqt.

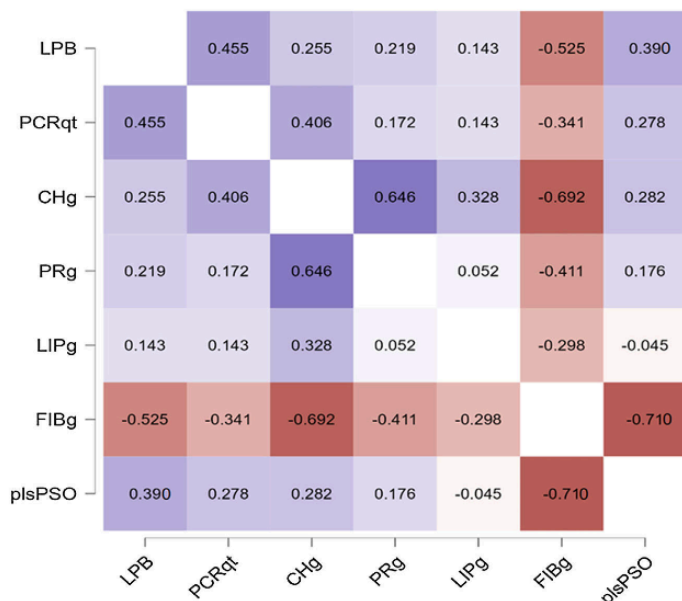


Figura 4 Mapa térmico com as correlações bivariadas entre os níveis de LPB, PCR, características nutricionais da dieta e o padrão de microbioma intestinal dos pacientes com psoríase. LPB, nível sérico da proteína de ligação de Lipopolissacarídeos; PCRqt, nível sérico da proteína C reativa ultrasensível (teste quantitativo); CHg, carboidratos (em grammas); PRg, proteínas (em grammas); LIPg, lipídios (em grammas); FIBg, fibras (em grammas); plsPSO, componente PLS do microbioma intestinal dos participantes com psoríase.

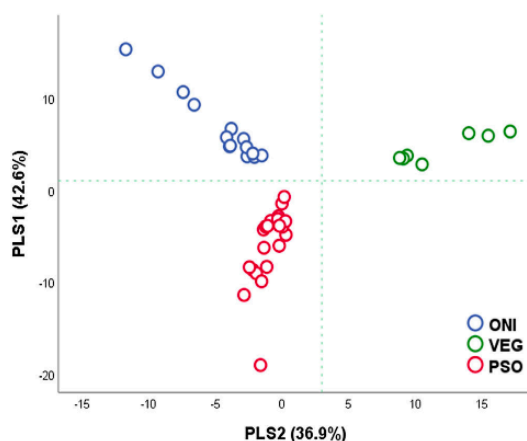


Figura 3 Carregamento dos participantes segundo os componentes PLS (n = 42). Em destaque, composições que discriminam os grupos.

PLS, componente partial least squares; ONI, controles onívoros; VEG, controles vegetarianos; PSO, psoríase.

Discussão

Nosso estudo indicou que características do MI de homens adultos com psoríase diferiram dos controles onívoros e

vegetarianos residentes de uma mesma região do Brasil. Aspectos etários, alimentares e de composição corporal também podem contribuir por parte dessas diferenças.¹¹

Nessa amostra, o grupo PSO apresentou maior ingestão de carboidratos, porém baixa ingestão de fibras, mostrando ainda maior relação F/B no MI que o grupo VEG, que contou com maior ingestão de fibras e menor abundância de *Firmicutes*. Além disso, os hábitos alimentares dos pacientes com psoríase mostraram-se desequilibrados, pois também foram identificados aumento de gorduras de baixa qualidade e alta densidade calórica, características da dieta ocidental que é associada à disbiose intestinal e redução de diversidade bacteriana. Tais hábitos dietéticos podem se correlacionar com a gravidade da doença e das comorbidades, já que gorduras saturadas, açúcares, carne bovina e álcool interferem no status inflamatório sistêmico, enquanto a ingestão de fibras alimentares pode contribuir com a supressão de certas vias inflamatórias e na indução de células-T reguladoras.¹²⁻¹⁴

A disbiose intestinal também atua no desequilíbrio dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dos quais butirato e acetato são os mais estudados, e são produzidos a partir da fermentação de fibras pelas bactérias intestinais. Acetato é associado à produção de grelina, que controla o apetite e a resistência à insulina; já o butirato é fonte de energia para células intestinais, associado com prevenção e redução da inflamação sistêmica e aumento da diversidade bacteriana, favorecendo a proliferação de bactérias do filo *Bacteroidetes*. Dietas com alto teor de fibras, vegetais e frutas promovem aumento de *Bacteroidetes*, e por

consequência maior diversidade bacteriana. Por outro lado, dietas com excesso de frituras, sódio, proteína e gordura animal podem propiciar maior ativação pró-inflamatória sistêmica e proporção F/B no MI.¹⁵ Além disso, os AGCC são moduladores diretos da síntese de interleucina 17 (IL-17) por linfócitos-T.¹⁶

A disbiose intestinal pode promover o aumento intraluminal de LPS,¹⁷ e dietas com baixa qualidade nutricional (p. ex., dieta ocidental), estresse físico e psicológico, certos medicamentos (p. ex., antimicrobianos) são fatores que favorecem o aumento da permeabilidade intestinal. Um intestino mais permeável propicia a translocação de LPS para a corrente sanguínea (endotoxemia metabólica), favorecendo resistência à insulina, inflamação no tecido adiposo, infiltração tecidual de monócitos/macrófagos, que aumentam o risco de doenças como esteatose hepática, obesidade, diabetes. Assim, parte da resposta inflamatória sistêmica pode ser atribuída à composição do MI.^{18,19}

Em modelo murino de psoríase induzida por imiquimode, a administração oral de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus danieliae* levou à inflamação cutânea e ao aumento da expressão de TNF e IL17, subsidiando a hipótese de que a disbiose intestinal possa levar à piora clínica da doença.²⁰

Este estudo investigou, de maneira original, relações entre níveis plasmáticos de LPB, PCRqt, e padrão alimentar em onívoros, vegetarianos e pacientes com psoríase, demonstrando que os níveis de LPB se correlacionaram inversamente com o consumo de fibras. Nessa amostra, os participantes com psoríase apresentaram níveis de LPB maiores que os vegetarianos, levando à hipótese de que a modulação do MI (p. ex., pode meio da dieta) contribua com a redução dos níveis de LPB séricos; portanto, esses achados subsidiam que a saúde intestinal pode ser modulada por meio de escolhas alimentares. Além disso, os níveis de PCRqt foram maiores em PSO, associados à ingestão de carboidratos e LPB. Apesar de a permeabilidade intestinal não ser avaliada de maneira direta, os níveis elevados de LPB e PCRqt podem indicar maior permeabilidade intestinal em pacientes com psoríase.

Pesquisas com níveis séricos de LPB em humanos são escassas, mas existem evidências de que o LPB esteja elevado em pacientes com psoríase, havendo correlação com os níveis de PCRqt. Desse modo, LPB pode ser um indicador de inflamação sistêmica e progressão para síndrome metabólica em pacientes com psoríase.²¹ É importante ressaltar que, recentemente, o LPB revelou-se um biomarcador para a permeabilidade intestinal em adultos, independentemente de idade, IMC e gênero.²²

Em estudos controlados que analisaram o MI de pacientes com psoríase, utilizando grupos populacionais diversos, foram encontrados achados diferentes.²³ Em um estudo israelense que avaliou a diversidade beta em pacientes com psoríase (n=24) em comparação com controles (n=46) sem psoríase, pareados por idade, IMC e comorbidades, identificou-se aumento significativo em *Ruminococcus gnavus*, *Dorea formicigenerans* e *Collinsella aerofaciens* no MI da psoríase, enquanto *Prevotella copri* e *Parabacteroides distasonis* foram significativamente menores em comparação com os controles²⁴ – um padrão algo diverso da estrutura de MI encontrada em nossa amostra.

Outro estudo conduzido na China evidenciou que pacientes com psoríase têm perfis de MI significativamente

perturbados, pois ao analisar o MI de 35 pacientes com psoríase e 27 controles, mostrou diferença nas abundâncias relativas de *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, com aumento de *Bacteroides*, *Actinobacteria* e redução de *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Bifidobacterium*.²⁵ Em contrapartida, um estudo espanhol de pacientes com psoríase (n=19), em comparação com um grupo controle saudável (n=20), mostrou menor diversidade bacteriana e diferente abundância relativa de certos táxons bacterianos em pacientes com psoríase, com aumento de *Actinobacteria*, *Firmicutes* e redução de *Bacteroidetes*, *Proteobacterias* e *Fecalibacterium*.²⁶

Em uma análise do MI de 52 pacientes com psoríase (PASI ≥ 6) em comparação com população saudável (n=300), evidenciou-se maior frequência do padrão chamado enterótipo 2, com tendência a apresentar translocação bacteriana mais frequente e maior estado inflamatório (71%) do que outros enterótipos, havendo predomínio de *Akkermansia*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* e menor proporção de *Bacteroidetes*.²⁷ Nossa amostra também indicou maiores proporções de *Faecalibacterium* e *Ruminococcus*, além de menores índices de *Bacteroidetes* no perfil (PLS) dos pacientes com psoríase.

Recentemente, um estudo conduzido na Argentina demonstrou mudanças na composição do MI dependendo do status da psoríase, com aumento de *Firmicutes* e depleção de *Bacteroidetes* em 55 pacientes com psoríase, em comparação com 27 controles. Além disso, os gêneros *Faecalibacterium* e *Blautia* foram maiores em pacientes com psoríase, enquanto *Bacteroides* e *Paraprevotella* foram maiores em controles sem psoríase.²⁸ Como nossos pacientes estavam em tratamento e a maior parte com PASI <4, não foi possível estratificar o MI de acordo com a gravidade da doença.

Outro estudo de caso-controle na Ásia Central, com pacientes entre 30 e 45 anos, com psoríase (n=20) e controles (n=20), pareados por idade e sexo, encontrou associação com psoríase e níveis elevados de *Firmicutes*, *Faecalibacterium* e abundância reduzida de *Oscillibacter* e *Roseburia*, mas não houve diferença na diversidade e relação F/B, bastante alinhado com nossos resultados.²⁹

Um estudo brasileiro mostrou menor diversidade no MI de mulheres com psoríase (n=21) em comparação com controles (n=24), identificando aumento do gênero *Dialister* e da espécie *Prevotella copri* sp., mas redução nos gêneros *Ruminococcus*, *Lachnospira*, *Blautia* e nas espécies *Akkermansia muciniphila* sp.³⁰

No presente estudo, o perfil de MI encontrado nos homens adultos portadores de psoríase foi associado aos descritos em outras comorbidades, como na síndrome metabólica, obesidade e doenças afetivas, o que pode decorrer do estilo de vida ocidental. Ainda de acordo com a literatura, o *Coproccoccus* foi associado a doenças afetivas como depressão, obesidade e má qualidade do sono;³¹ *Lachnospira* foi associado ao desenvolvimento de diabetes mellitus;³² e *Paraprevotella* com maior ingestão de gorduras.³³ Apesar de haver associação com dietas vegetarianas, *Prevotella* também é relacionada à elevada ingestão de carboidratos, e como apresenta alta diversidade genética dentro e entre espécies, podem explicar sua descrição tanto em MI saudáveis como em disbióticos; uma carga elevada de *Prevotella* no MI foi associada à obesidade, resistência à insulina, hipertensão e doença hepática gordurosa não alcoólica.³⁴

A composição do MI de psoríase encontrado nessa amostra se opôs à encontrada nos vegetarianos, ricos em *Bacteroides* e *Lactobacillus*, associados à menor permeabilidade intestinal. De fato, a prevalência de psoríase em vegetarianos é excepcional, e a dieta vegetariana leva à melhora de lesões cutâneas da psoríase, o que sugere que a modulação do MI possa subsidiar o desenvolvimento de doenças inflamatórias como a psoríase.^{35,36}

Estudos metagenômicos do MI apresentam alta variabilidade de resultados entre as publicações. Diferenças populacionais étnicas, culturais e alimentares podem explicar os resultados controversos entre os estudos que caracterizaram MI em psoríase.

Assim, ainda não foi definido o que constitui um MI saudável, quando excluídas as bactérias sabidamente patogênicas. Por isso, é essencial destacar que as espécies comensais não devem ser consideradas absolutamente “boas” ou “ruins”, já que todas desempenham funções no ecossistema intestinal. A problemática emerge do desequilíbrio, ou seja, a predominância de grupos de espécies comensais que promovem alterações na permeabilidade intestinal. Além disso, quando se caracteriza o MI de um grupo, pretende-se entender o padrão de desequilíbrio, apesar de a composição do MI ser única em cada indivíduo, adquirida nos primeiros anos de vida e moldada pelas características ambientais, como os hábitos alimentares, ao longo da vida.³⁷⁻³⁹

Este estudo apresenta limitações ligadas à amostra modesta, não aleatorizada, o que não impediu a identificação de padrões de MI entre os grupos; além disso, a origem comum quanto ao grupo populacional maximiza a homogeneidade da amostra. O efeito dos tratamentos da psoríase no MI é tema a ser investigado, e nossos participantes utilizaram diversos medicamentos diferentes; entretanto, o uso de adalimumabe não mostrou modificar o padrão de MI em 10 pacientes.⁴⁰ Nossos participantes ainda apresentavam escores de PASI baixos, decorrente do controle da doença com a terapêutica estabelecida. Na verdade, são necessários estudos de MI com pacientes com psoríase sem tratamento sistêmico. Outro aspecto se refere à amostragem do microbioma fecal, que consiste na flora transitória do cólon, em contrapartida à flora permanente que é ligada à mucosa, menos sujeita a variação. Finalmente, LPB é utilizado como *proxy* da medida de LPS, em decorrência de sua labilidade. As variações alimentares podem dificultar as comparações entre os grupos, visto que mesmo dentro dos grupos onívoros, vegetarianos e psoríase, existem alimentos que podem atuar de maneira diferente no MI.

Estudos clínicos controlados em psoríase que visem a manipulação do MI, quer com transplante de fezes, intervenções dietéticas (p. ex., adequação de fibras), pró/pré-bióticos ou sais biliares, devem ser conduzidos para melhor compreensão do papel do MI na atividade clínica da psoríase.

Conclusão

Identificou-se diferença no MI de homens adultos brasileiros com psoríase em relação a onívoros e vegetarianos saudáveis. O padrão de MI encontrado correlacionou-se com a

ingesta de fibras alimentares, com os níveis séricos de LPB. Mudanças nos hábitos alimentares podem remodelar o MI, e por consequência, auxiliar no controle clínico da psoríase. Ressalta-se a necessidade de conscientização da importância nutricional no tratamento da doença e no manejo das comorbidades.

Suporte financeiro

FUNADERM - Fundo de Apoio à Dermatologia, da Sociedade Brasileira de Dermatologia.

Contribuição dos autores

Hélio Amante Miot: Concepção do estudo; análise dos resultados; escrita do texto; revisão e aprovação do texto final.

Tatiana Cristina Figueira Polo: Concepção do estudo; coleta de dados; análise dos resultados; escrita do texto; revisão e aprovação do texto final.

Mariana Righetto de Ré Lai: Concepção do estudo; coleta de dados; análise dos resultados; escrita do texto; revisão e aprovação do texto final.

Luciane Donida Bartoli Miot: Coleta de dados; revisão e aprovação do texto final.

Giovana Fernanda Cusi Bento: Análise dos resultados; revisão e aprovação do texto final.

Márcia Guimarães da Silva: Revisão e aprovação do texto final.

Silvio Alencar Marques: Revisão e aprovação do texto final.

Conflito de interesses

Nenhum.

Apêndice. Material suplementar

Pode consultar o material adicional para este artigo na sua versão eletrônica disponível em [doi:10.1016/j.abdp.2023.04.002](https://doi.org/10.1016/j.abdp.2023.04.002).

Referências

1. Romiti R, Arnone M, Menter A, Miot HA. Prevalence of psoriasis in Brazil - a geographical survey. *Int J Dermatol*. 2017;56:167-8.
2. Parisi R, Iskandar IYK, Kontopantelis E, Augustin M, Griffiths CEM, Ashcroft DM, et al. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modelling study. *BMJ*. 2020;8247:1590-605.
3. Arnone M, Takahashi MDF, Carvalho AVE, Bernardo WM, Bressan AL, Ramos AMC, et al. Diagnostic and therapeutic guidelines for plaque psoriasis - Brazilian Society of Dermatology. *An Bras Dermatol*. 2019;94:76-107.
4. Todberg T, Kaiser H, Zachariae C, Egeberg A, Halling A, Skov L, et al. Characterization of Oral and Gut Microbiota in Patients with psoriatic diseases: a systematic review. *Acta Derm Venereol*. 2021;30:101-7.
5. Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Pessoa S, Navarrete P, et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? *Nutrients*. 2020;12:1474.

6. Sankarasubramanian J, Ahmad R, Avuthu N, Singh AB, Guda C. Gut microbiota and metabolic specificity in ulcerative colitis and crohn's disease. *Front Med*. 2020;7:606298.
7. Aldars-García L, Chaparro M, Gisbert JP. Systematic review: the gut microbiome and its potential clinical application in inflammatory bowel disease. *Microorganisms*. 2021;9:977.
8. Polak K, Bergler-Czop B, Szczepanek M, Wojciechowska K, Frątczak A, Kiss N, et al. Psoriasis and gut microbiome – current state of art. *Int J Mol Sci*. 2021;22:4529.
9. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56:1761–72.
10. ncbi.nlm [Internet]. Gonzalez-Quintela A, Alonso M, Campos J, Vizcaino L, Loidi L, Gude F, et al. Determinants of serum concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the adult population: the role of obesity. *PLoS ONE*. 2013;8:e54600. [citado em 20 jul. 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3551812/#:~:text=Serum%20LBP%20concentrations%20increased%20with%20age, in%20these%20inflammatory%2C%20metabolic%20abnormalities.>
11. Polo TCF, de Ré Lai MR, Miot HA. Characterization of the intestinal microbiome in eutrophic, obese omnivores, and vegetarians. *Nutrire*. 2022;47:2.
12. Kanda N, Hoashi T, Saeki H. Nutrition and Psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2020;21:5405.
13. González Olmo BM, Butler MJ, Barrientos RM. Evolution of the human diet and its impact on gut microbiota, immune responses, and brain health. *Nutrients*. 2021;13:196.
14. Padrón Pereira CA. Microbiota intestinal humana y dieta. *Cienc Tecnol*. 2019;12:31–42.
15. So D, Whelan K, Rossi M, Morrison M, Holtmann G, Kelly JT, et al. Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2018;107:965–83.
16. Dupraz L, Magniez A, Rolhion N, Richard ML, Da Costa G, Touch S, et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids regulate IL-17 production by mouse and human intestinal $\gamma\delta$ T cells. *Cell Rep*. 2021;36:109332.
17. Marizzoni M, Cattaneo A, Mirabelli P, Festari C, Lopizzo N, Nicolosi V, et al. Short-Chain fatty acids and lipopolysaccharide as mediators between gut dysbiosis and amyloid pathology in alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2020;78:683–97.
18. Myers B, Brownstone N, Reddy V, Chan S, Thibodeaux Q, Truong A, et al. The gut microbiome in psoriasis and psoriatic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2019;33:101494.
19. Singh S, Pradhan D, Puri P, Ramesh V, Aggarwal S, Nayek A, et al. Genomic alterations driving psoriasis pathogenesis. *Gene*. 2019;683:61–71.
20. Okada K, Matsushima Y, Mizutani K, Yamanaka K. The role of gut microbiome in psoriasis: oral administration of staphylococcus aureus and streptococcus danieliae exacerbates skin inflammation of imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis. *Int J Mol Sci*. 2020;21:3303.
21. Romani J, Caixàs A, Escoté X, Carrascosa JM, Ribera M, Rigla M, et al. Lipopolysaccharide-binding protein is increased in patients with psoriasis with metabolic syndrome and correlates with C-reactive protein: lipopolysaccharide-binding protein in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol*. 2013;38:81–4.
22. Seethaler B, Basrai M, Neyrinck AM, Nazare JA, Walter J, Delzenne NM, et al. Biomarkers for assessment of intestinal permeability in clinical practice. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*. 2021;321:11–7.
23. Widhiati S, Purnomosari D, Wibawa T, Soebono H. The role of gut microbiome in inflammatory skin disorders: a systematic review. *Dermatol Rep*. 2021;14:9188.
24. Shapiro J, Cohen NA, Shalev V, Uzan A, Koren O, Maharshak N, et al. Psoriatic patients have a distinct structural and functional fecal microbiota compared with controls. *J Dermatol*. 2019;46:595–603.
25. Huang L, Gao R, Yu N, Zhu Y, Ding Y, Qin H, et al. Dysbiosis of gut microbiota was closely associated with psoriasis. *Sci China Life Sci*. 2019;62:807–15.
26. Hidalgo-Cantabrana C, Gómez J, Delgado S, Requena-López S, Queiro-Silva R, Margolles A, et al. Gut microbiota dysbiosis in a cohort of patients with psoriasis. *Br J Dermatol*. 2019;181:1287–95.
27. Codoñer FM, Ramírez-Bosca A, Climent E, Carrión-Gutiérrez M, Guerrero M, Pérez-Orquín JM, et al. Gut microbial composition in patients with psoriasis. *Sci Rep*. 2018;8:3812.
28. Dei-Cas I, Giliberto F, Luce L, Dopazo H, Penas-Steinhardt A. Metagenomic analysis of gut microbiota in non-treated plaque psoriasis patients stratified by disease severity: development of a new psoriasis-microbiome index. *Sci Rep*. 2020;10:12754.
29. Yegorov S, Babenko D, Kozhakhmetov S, Akhmaltdinova L, Kadyrova I, Nurgozhina A, et al. Psoriasis is associated with elevated gut IL-1 α and intestinal microbiome alterations. *Front Immunol*. 2020;11:571319.
30. Schade L, Mesa D, Faria AR, Santamaria JR, Xavier CA, Ribeiro D, et al. The gut microbiota profile in psoriasis: a Brazilian case-control study. *Lett Appl Microbiol*. 2022;74:498–504.
31. Zhang Q, Yun Y, An H, Zhao W, Ma T, Wang Z, et al. Gut Microbiome composition associated with major depressive disorder and sleep quality. *Front Psychiatry*. 2021;12:645045.
32. Kameyama K, Itoh K. Intestinal colonization by a lachnospiraceae bacterium contributes to the development of diabetes in obese mice. *Microbes Environ*. 2014;29:427–30.
33. Ruebel ML, Gilley SP, Sims CR, Zhong Y, Turner D, Chintapalli SV, et al. Associations between maternal diet, body composition and gut microbial ecology in pregnancy. *Nutrients*. 2021;13:3295.
34. Precup G, Vodnar DC. Gut Prevotella as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review. *Br J Nutr*. 2019;122:131–40.
35. Wolters M, Diet, psoriasis: experimental data, clinical evidence, *Br J Dermatol*. 2005;153:706–14.
36. Lithell H, Bruce A, Gustafsson IB, Höglund NJ, Karlström B, Ljunghall K, et al. A fasting and vegetarian diet treatment trial on chronic inflammatory disorders. *Acta Derm Venereol*. 1983;63:397–403.
37. Yoo W, Zieba JK, Foegeding NJ, Torres TP, Shelton CD, Shealy NG, et al. High-fat diet-induced colonocyte dysfunction escalates microbiota-derived trimethylamine N-oxide. *Science*. 2021;373:813–8.
38. Yang Q, Wang Y, Jia A, Wang Y, Bi Y, Liu G, et al. The crosstalk between gut bacteria and host immunity in intestinal inflammation. *J Cell Physiol*. 2021;236:2239–54.
39. Laudes M, Geisler C, Rohmann N, Bouwman J, Pischon T, Schlicht K, et al. Microbiota in health and disease - potential clinical applications. *Nutrients*. 2021;13:386–96.
40. Todberg T, Egeberg A, Zachariae C, Sørensen N, Pedersen O, Skov L. Successful treatment of psoriasis with adalimumab induced no changes in the gut microbiota. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;36:464–7.

Artigo Científico III

Gut microbiome diversity and serum levels of lipopolysaccharide-bound protein (LPB) in men with psoriasis under different systemic therapies

Correspondence

Gut microbiome diversity and serum levels of lipopolysaccharide-bound protein (LPB) in men with psoriasis under different systemic therapies

Dear Editor,

Psoriasis is a chronic, immune-mediated inflammatory disease associated with systemic comorbidities and alterations in the composition of the gut microbiome (GM).¹ The immunological mechanism underlying psoriasis involves the production of inflammatory cytokines, which is accentuated when there is exposure to bacterial antigens. Changes in the cutaneous and gut microbiome (GM) induce the activation of Th17 lymphocytes, leading to the modulation of disease activity.²

Lipopolysaccharide (LPS) is an endotoxin present in the outer membrane of gram-negative bacteria that activates the immune system by directly stimulating macrophages, monocytes,

dendritic cells, and B lymphocytes. The inflammatory response to LPS is mediated by lipopolysaccharide-binding protein (LBP), which plays a key role in the innate immune response.³

GM diversity in patients with psoriasis is reduced, and gut dysbiosis favors the impairment of the integrity of the intestinal wall, with the permeation of endotoxins that induce an immune and systemic inflammatory response. Recent studies suggest that systemic therapies for psoriasis can modulate the composition of the microbiome.^{4,5} However, few studies explore GM, or LPS levels, in patients with psoriasis, considering their systemic treatments.

A cross-sectional study was conducted involving 36 patients with plaque psoriasis treated at the dermatology outpatient clinic of HC-Unesp (Botucatu-SP, Brazil).

The sample contained only adult men who live in the same area to reduce GM variability, which is influenced by sex, age group, and geographic location. Smokers, alcoholics, and patients with inflammatory bowel disease, infections, and other autoimmune diseases, who used laxative drugs or antibiotics within the last 2 weeks, were not included.

Morning stool samples were collected for metagenomic analysis (16S), and 10 ml of blood was collected for serum LBP measurement (Human LBP DuoSet ELISA – DY870-05). GM ecological diversity indices (richness, Shannon and Simpson), and the relationship between the phyla *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) and LPB levels were compared between groups by generalized linear models (*pos hoc* Sidák). Significance was set as the *P*-value of <0.05.

The main clinical and demographic data of the sample are shown in Table 1. The anti-interleukin agents were secukinumab (anti-IL-17), risankizumab (anti-IL-23), and ustekinumab (anti-IL-12/23).

Table 1 Main clinical and demographic data of the 36 adult men with psoriasis

Variables	Results
Age (years), mean (SD)	52.58 (5.3)
PASI, mean (SD)	5.95 (5.3)
BMI, mean (SD)	29.61 (29.56)
>30Kg/m ²	15 (41.6%)
LPB (mg/ml), mean (SD)	6.8 (6.4)
>10 mg/ml	3 (8.3%)
Comorbidities	
Diabetes	5 (13.8%)
Hypertension	9 (25.0%)
Dyslipidemia	7 (19.4%)

BMI, body mass index; LPB, lipopolysaccharide-binding protein; PASI, Psoriasis Area Severity Index.

Table 2 Results of gut microbiome diversity indices and LPB levels among the therapeutic groups

Variables	Acitretin	Methotrexate	Anti-interleukin*	Topical	<i>P</i> -value*
<i>n</i>	9	10	11	6	–
LPB (mg/ml)	6,699 (1,436) ^a	8,386 (3,853) ^a	5,317 (1,807)	7,271 (4,498)	0.015
<i>n</i>	6	5	6	2	–
<i>Firmicutes</i>	26,344 (4,014)	34,008 (13,642)	37,013 (21,883)	31,093 (7,860)	0.586
<i>Bacteroidetes</i>	7,246 (5321)	10,930 (8078)	12,498 (7574) ^b	24,305 (16,292) ^b	<0.001
F/B	8.0 (8.4)	5.6 (6.4)	4.3 (3.1) ^b	1.8 (1.5) ^b	0.045
Richness	155 (60)	201 (51)	183 (92)	165 (21)	0.204
Shannon	27.3 (13.0)	37.4 (8.2)	33.5 (19.6)	32.9 (8.6)	0.417
Simpson	8.7 (4.7)	12.7 (3.2)	9.7 (6.5)	11.1 (4.6)	0.333

^a*P* < 0.05 in comparison with anti-IL.

^b*P* < 0.05 in comparison with acitretin.

**P*-value adjusted for BMI.

1

2 Correspondence

The results of the therapeutic groups regarding diversity indices and levels of LPB are presented in Table 2. The data from LPB were available for all participants, however, the data from GM were available for 19 patients.

Patients under acitretin presented higher LPB levels and F/R ratio than those under anti-interleukins. Those under methotrexate showed higher LPB levels than the patients under anti-interleukins. Patients under only topical treatments presented a lower F/R ratio, despite the fact that it was not different from the patients under anti-interleukin drugs.

A study carried out in Taiwan (2019) which enrolled 34 patients with psoriasis showed that secukinumab induced changes in the GM, with an increase in the abundance of the *Proteobacteria* phylum and a decrease in *Bacteroidetes* and *Firmicutes*. In contrast, there were no significant changes with the use of ustekinumab, except for the increase in abundance of only the genus *Coprococcus* after 6 months of treatment.¹ Our study did not separate the two classes of immunobiologicals, however, it showed a lower F/B ratio compared with other systemic treatments. Furthermore, the anti-interleukin group accounted for the lowest levels of LPB.

A study from Denmark that analyzed 10 patients under adalimumab did not find relevant changes in GM among the evaluated patients, despite their profile differing from the healthy controls.⁴

The interpretation of the results from studies on GM must be cautious since GM is highly variable among the populations, and there is no well-defined standard healthy GM, nor was an absolutely beneficial bacteria recognized. This study was limited by the modest sample size, which included only adult men, as well as the absence of patients under anti-TNF drugs, phototherapy, and cyclosporine. Nevertheless, this did not hinder detection of differences between the groups with important classes of drugs in this homogeneous sample. Further studies are needed to explore the relevance of the modifications of the GM induced by these drugs and the course of psoriasis.

In conclusion, systemic treatments for psoriasis can modify the diversity of the GM and the serum levels of LPB. Anti-interleukin drugs promote lower changes than acitretin and methotrexate.

Mariana Righetto de Ré Lai^{1,*}, MD
Tatiana Cristina Figueira Polo², MSc, PhD
Luciane Donida Bartoli Miot¹, PhD
Giovana Fernanda Cosi Bento², MSc
Márcia Guimaraes da Silva², PhD
Hélio Amante Miot¹, PhD 

¹Department of Dermatology and Radiotherapy, FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brazil

²Department of Pathology, FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brazil

*E-mail: marianardere@gmail.com

Conflict of interest: None.

Funding source: FUNADERSP.

doi: 10.1111/ijd.16682

References

- 1 Buhaş MC, Gavrilăş LI, Candrea R, Căţinean A, Mocan A, Miere D, et al. Gut microbiota in psoriasis. *Nutrients*. 2022;**14**(14):2970. <https://doi.org/10.3390/nu14142970>
- 2 Yan D, Issa N, Afifi L, Jeon C, Chang HW, Liao W. The role of the skin and gut microbiome in psoriatic disease. *Curr Dermatol Rep*. 2017;**6**(2):94–103. <https://doi.org/10.1007/s13671-017-0178-5>
- 3 Meng L, Song Z, Liu A, Dahmen U, Yang X, Fang H. Effects of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) single nucleotide polymorphism (SNP) in infections, inflammatory diseases, metabolic disorders and cancers. *Front Immunol*. 2021;**12**(12):681810. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.681810>
- 4 Todberg T, Egeberg A, Zachariae C, Sørensen N, Pedersen O, Skov L. Successful treatment of psoriasis with adalimumab induced no changes in the gut microbiota. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;**36**(6):e464–7. <https://doi.org/10.1111/jdv.17952>
- 5 Yeh NL, Hsu CY, Tsai TF, Chiu HY. Gut microbiome in psoriasis is perturbed differently during secukinumab and ustekinumab therapy and associated with response to treatment. *Clin Drug Investig*. 2019;**39**(12):1195–203. <https://doi.org/10.1007/s40261-019-00849-7>

ANEXOS

TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ANEXO 1

(Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE 3)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) - 3
RESOLUÇÃO 466/2012
(Participante maior de 18 anos)

CONVIDO o Senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado **“Suplementação de ácido ursadesoxicólico na modulação do LPB sérico e na gravidade clínica da psoríase: Um estudo tipo prova de conceito.”**, que será desenvolvido por mim Mariana Righetto de Ré, médica residente de Dermatologia, com orientação do profissional médico Dr. Hélio Amante Miot e docente da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

A pesquisa consta na administração do ácido ursadesoxicólico, um comprimido por dia por 30 dias e medir bactérias nas suas fezes antes e após o final do tratamento.

Os principais efeitos colaterais são fezes pastosas e diarreia.

O tratamento de psoríase prescrito pelo dermatologista, não deve ser alterado.

Seu benefício em participar será auxiliar os pesquisadores na obtenção do conhecimento dos resultados da pesquisa, podendo auxiliar o tratamento futuro de outros indivíduos.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, sendo que uma via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, **CONCORDO EM PARTICIPAR** de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, desde que minha identidade não seja revelada.

Botucatu, ____/____/____

Pesquisador

Participante da Pesquisa

Nome (Pesquisador): Mariana Righetto de Ré
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 38880-1750
e-mail: marianardere@gmail.com

Nome (Orientador): Hélio Amante Miot
Endereço: Rubião Júnior - Botucatu/SP - CEP 18618-970
Telefone: (14) 3880-1267
e-mail: heliomiot@gmail.com

ANEXO 2

Bula do ácido biliar Ursacol®

Ácido Ursodesoxicólico, para o que é indicado e para o que serve?

Este medicamento é indicado para doenças hepato-biliares e colestáticas crônicas nas seguintes situações:

- Dissolução dos cálculos biliares formados por colesterol em pacientes que apresentam colelitíase ou coledocolitíase sem colangite ou colecistite por cálculos não radiopacos com diâmetro inferior a 1,5 cm, que recusaram a intervenção cirúrgica ou apresentam contraindicações para a mesma, ou que apresentam supersaturação biliar de colesterol na análise da bile colhida por cateterismo duodenal;
- Tratamento da forma sintomática da cirrose biliar primária;
- Litíase residual do colédoco ou síndrome pós-colecistectomia;
- Dispepsia na vigência de colelitíase ou pós-colecistectomia;
- Discinesias de conduto cístico ou da vesícula biliar e síndromes associadas;
- Hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia;
- Terapêutica coadjuvante da litotripsia extracorpórea para a dissolução dos cálculos biliares formados por colesterol em pacientes que apresentam colelitíase;
- Alterações qualitativas e quantitativas da bile (colestases).

Quais as contraindicações do Ácido Ursodesoxicólico?

Ácido Ursodesoxicólico é contraindicado nos casos de:

- Hipersensibilidade à substância ativa ou a algum de seus excipientes;
- Úlcera péptica ativa;
- Doença intestinal inflamatória e outras condições do intestino delgado, colon e fígado, que possam interferir com a circulação entero-hepática de sais biliares (ressecção ileal e estoma, colestase intra e extra hepática, doença hepática severa);
- Cólicas biliares freqüentes;
- Inflamação aguda da vesícula biliar ou trato biliar;
- Oclusão do trato biliar (oclusão do ducto biliar comum ou um ducto cístico);
- Contratilidade comprometida da vesícula biliar;
- Cálculos biliares calcificados radiopacos.

Categoria B: Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião dentista.

Como usar o Ácido Ursodesoxicólico?

A disponibilidade de apresentações de 50, 150 e 300 mg permite que se adote diferentes esquemas posológicos de acordo com cada indicação clínica específica. Todos estes esquemas posológicos ficam facilitados ajustando as administrações de comprimidos de 50, 150 e 300 mg de acordo com a dose diária total.

Para uso prolongado, com o intuito de se reduzir as características litogênicas da bile, a posologia média é de 5 a 10 mg/kg/dia. Na maior parte desses casos, a posologia média fica entre 300 e 600 mg (após e durante as refeições e à noite). Para se manter as condições ideais para dissolução de cálculos já existentes, a duração do tratamento deve ser de pelo menos 4 a 6 meses, podendo chegar a 12 meses ou mais, ininterruptamente e deve ser prosseguido por 3 a 4 meses após o desaparecimento comprovado radiologicamente ou ecograficamente dos mesmos cálculos. O tratamento não deve, entretanto, superar dois anos. Nas síndromes dispépticas e na terapia de manutenção, geralmente são suficientes doses de 300 mg por dia, divididas em 2 a 3 administrações. Estas doses podem ser modificadas a critério médico, particularmente considerando-se a ótima tolerabilidade do produto, que permite de acordo com cada caso adotar doses sensivelmente maiores. Em pacientes em tratamento para dissolução de cálculos biliares é importante verificar a eficácia do medicamento mediante exames colecistográficos a cada 6 meses.

Na terapêutica coadjuvante da litotripsia extracorpórea, o tratamento prévio com Ácido Ursodesoxicólico aumenta os resultados da terapêutica litolítica. As doses de Ácido Ursodesoxicólico devem ser ajustadas a critério médico, sendo em média de 600 mg ao dia.

Na cirrose biliar primária as doses podem variar de 10 a 16 mg/kg/dia, de acordo com os estágios da doença (I, II, III e IV) ou a critério médico.

É recomendado realizar acompanhamento dos pacientes através de testes de função hepática e dosagem de bilirrubinas.

A dose diária deve ser administrada em 2 ou 3 vezes, dependendo da apresentação utilizada, após as refeições. Poderá ser administrada a metade da dose diária após o jantar. Ingerir os comprimidos com um copo de água.

Quando o paciente esquecer-se de tomar o medicamento no horário de costume, deverá administrá-lo imediatamente caso não esteja muito próximo da dose subsequente.

Este medicamento não deve ser partido ou mastigado.

Quais as reações adversas e os efeitos colaterais do Ácido Ursodesoxicólico?

A avaliação dos efeitos indesejáveis são baseados em dados de frequência.

Reação comum (>1/100 e <1/10)

Relatos de fezes pastosas e diarreia.

Reação muito rara (<1/10.000)

Severa dor abdominal superior direita durante tratamento de cirrose biliar primária; descompensação hepática foi observada em terapia de estágios avançados de cirrose

biliar primária que regrediu parcialmente após a descontinuidade do tratamento; urticária; calcificação de cálculos.

Notificação de Evento Adverso

Para a avaliação contínua da segurança do medicamento é fundamental o conhecimento de seus eventos adversos. Notifique qualquer evento adverso ao SAC Zambon (0800 017 70 11 ou www.zambon.com.br).

Em casos de eventos adversos, notifique ao Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária - Notivisa, disponível em www.anvisa.gov.br, ou para a Vigilância Sanitária Estadual ou Municipal.

Interação medicamentosa: quais os efeitos de tomar Ácido Ursodesoxicólico com outros remédios?

Ácido Ursodesoxicólico não deve ser usado com drogas que inibem a absorção intestinal de ácidos biliares, como a colestiramina, colestipol ou antiácidos à base de alumínio. Se o uso destas substâncias for necessário devem ser tomadas ao menos 2 horas antes ou após Ácido Ursodesoxicólico.

Estrogênios, contraceptivos orais e agentes redutores de lipídios (como o clofibrato) aumentam a secreção hepática de colesterol, o que pode causar a formação de cálculos de colesterol e, portanto, podem ser prejudiciais no que se refere à ação do Ácido Ursodesoxicólico no tratamento de cálculos biliares.

O Ácido Ursodesoxicólico pode afetar a absorção da ciclosporina pelos intestinos, podendo desta forma ser necessário ajustar a dose com base nos níveis de ciclosporina.

Em casos isolados Ácido Ursodesoxicólico pode reduzir a absorção de ciprofloxacina.

Em um estudo clínico realizado em voluntários saudáveis utilizando Ácido Ursodesoxicólico (500 mg/dia) e rosuvastatina (20 mg/dia) concomitantemente, resultou em uma leve elevação nos níveis de plasma da rosuvastatina. A relevância clínica desta interação também no que diz respeito a outras estatinas é desconhecida. O Ácido Ursodesoxicólico tem demonstrado redução nos picos de concentração plasmática (C_{máx}) e na área sob a curva (AUC) de um antagonista de cálcio nitredipina, em voluntários saudáveis. O monitoramento do resultado do uso simultâneo de nitredipina e Ácido Ursodesoxicólico é recomendado. Um aumento na dose de nitredipina pode ser necessário.

Uma interação com a redução do efeito terapêutico de dapsona foi reportado. Estas observações em conjunto com achados de estudos in vitro podem indicar um potencial de Ácido Ursodesoxicólico induzir enzimas do citocromo p450 3A. Esta indução, contudo, não tem sido observada em um estudo bem desenhado de interações com budesonida que é um conhecido substrato de citocromo p450 3A.

Alterações de exames laboratoriais

Ácido Ursodesoxicólico altera alguns exames laboratoriais, por isso, caso precise realizar exames, informe ao seu médico que está fazendo uso de Ácido Ursodesoxicólico.

Recomenda-se que ao iniciar tratamentos a longo prazo, seja feito um controle das transaminases, da fosfatase alcalina e da gama-glutamil transferase (GAMA-GT).

BULA ÁCIDO URSODESOXICÓLICO

Quais cuidados devo ter ao usar o Ácido Ursodesoxicólico?

Durante os primeiros 3 meses de tratamento, os parâmetros de função hepática AST (TGO), ALT (TGP) e gama GT devem ser monitorados pelo médico a cada 4 semanas e depois a cada 3 meses. Este monitoramento, além de identificar os pacientes respondedores e não respondedores que estão em tratamento, também permitirá a detecção precoce de uma potencial deterioração hepática, particularmente em pacientes com estágio avançado de cirrose biliar primária.

Quando usado na dissolução de cálculos biliares de colesterol

Um pré-requisito para iniciar o tratamento que visa dissolver cálculos vesiculares com o Ácido Ursodesoxicólico é a sua origem no colesterol. Um indicador confiável é a sua radiotransparência (transparência aos raios - X).

Os cálculos biliares com grande probabilidade de dissolução são os de pequenas dimensões, numa vesícula biliar funcional.

Em pacientes sob tratamento de dissolução de cálculos biliares, é adequado verificar a eficácia da droga por meio de colecistografia ou exames ecográficos a cada 6 meses.

Se não for possível visualizar a vesícula biliar em exames de raio-X, em casos de cálculos biliares calcificados, comprometimento da contratilidade da vesícula biliar, ou episódios frequentes de cólica biliar, Ácido Ursodesoxicólico não deve ser utilizado.

Pacientes femininas fazendo uso de Ácido Ursodesoxicólico para dissolução de cálculos devem utilizar métodos contraceptivos não-hormonais efetivos, visto que métodos contraceptivos hormonais podem aumentar a litíase biliar.

No tratamento de cirrose biliar primária em estágio avançado casos muito raros de descompensação de cirrose hepática regrediram parcialmente após a descontinuidade do tratamento.

Em pacientes com cirrose biliar primária, em raros casos os sintomas clínicos podem piorar no início do tratamento, por exemplo, a coceira pode aumentar. Neste caso a dose de Ácido Ursodesoxicólico deve ser reduzida e gradualmente elevada novamente. A dose deve ser reduzida em caso de diarreia e se persistir a terapia deve ser descontinuada.

Pacientes com raros problemas hereditários de intolerância a galactose, deficiência de Lapp lactase ou má absorção de glicose galactose, não devem tomar este medicamento.

Ácido Ursodesoxicólico não tem influência sobre a capacidade de conduzir e utilizar máquinas.

Uso em idosos

Devem-se seguir as orientações gerais descritas para o medicamento, salvo em situações especiais.

Gravidez e lactação

Estudos em animais não demonstraram influências no uso de Ácido Ursodesoxicólico na fertilidade. Dados humanos quanto aos efeitos na fertilidade durante o tratamento com Ácido Ursodesoxicólico não estão disponíveis. Não há dados quanto ao uso de Ácido Ursodesoxicólico, particularmente em mulheres grávidas. Experimentos com animais demonstraram toxicidade reprodutiva durante os estágios iniciais da gravidez.

Por motivos de segurança, não devem ser tratadas mulheres grávidas a não ser que seja claramente necessário com Ácido Ursodesoxicólico.

Mulheres em idade fértil só devem ser tratadas se estiverem usando métodos contraceptivos não-hormonais ou anticoncepcionais orais com baixo teor de estrógenos. Contudo pacientes fazendo uso de Ácido Ursodesoxicólico para dissolução de cálculos devem utilizar métodos contraceptivos não-hormonais efetivos, visto que métodos contraceptivos hormonais orais podem aumentar a litíase biliar. Uma gravidez em curso deve ser descartada, antes de iniciar o tratamento. De acordo com os poucos casos documentados de mulheres que estejam amamentando, os níveis de Ácido Ursodesoxicólico no leite são muito baixos e provavelmente não haverá reações adversas nas crianças que estão recebendo leite materno.

Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.

Este medicamento contém Lactose.

Qual a ação da substância Ácido Ursodesoxicólico?

Resultados da Eficácia

Um ensaio clínico não controlado avaliou o uso de Ácido Ursodesoxicólico (AUDC) em 42 pacientes com cálculos biliares radiotransparentes. Os participantes receberam 9 mg/kg/dia de AUDC por 1 ano, com controles radiológicos da dimensão dos cálculos aos 3, 6 e 12 meses de seguimento. Dissolução completa dos cálculos de colesterol foi reportada em 40% dos casos, com algum grau de dissolução dos cálculos em 73% dos pacientes. A tolerância foi considerada excelente e nenhum caso de diarreia ocorreu. A melhora da dispepsia e de cólicas abdominais também foi significativa ($p < 0,001$) durante o tratamento com AUDC (Voirol M, 1983).

O uso de Ácido Ursodesoxicólico em doses variadas (3 mg/kg/dia a 16 mg/kg/dia) foi avaliado em um ensaio clínico não controlado, que incluiu 40 indivíduos com cálculos biliares radiotransparentes. Pacientes com cálculos de até 15 mm foram aleatoriamente divididos em 3 grupos com doses diárias diferentes de Ácido Ursodesoxicólico (3-6 mg/kg/dia, 8-10 mg/kg/dia e 14-16 mg/kg/dia) e acompanhados por 12 meses. Pacientes com cálculos maiores que 15 mm eram alocados em um grupo a parte, com dose de Ácido Ursodesoxicólico de 8-10 mg/kg/dia. Dissolução do cálculo era considerada parcial quando havia redução de no mínimo 50% em número e diâmetro dos cálculos ao colecistograma. Pacientes tratados por um ano não apresentaram alterações de colesterol ou triglicérides durante o tratamento e relataram diminuição de cólicas, flatulência e distensão abdominal. Ácido Ursodesoxicólico aparentemente se mostrou eficaz na dissolução de cálculos biliares em vesículas funcionantes com doses que variaram de 5 a 10 mg/kg/dia com baixo índice de efeitos adversos. Apesar de não haver diferença estatística, o grupo que fez uso de doses mais altas (14-16 mg/kg/dia) mostrou uma tendência a menor taxa de dissolução dos cálculos em avaliação após 6 e 12 meses de uso de Ácido Ursodesoxicólico (Attili A. e cols, 1981).

Com relação as alterações quali e quantitativas da bile e da discinecia causados pela cirurgia bariátrica e pela rápida perda ponderal, o Ácido Ursodesoxicólico demonstrou eficácia e segurança tanto em gastroplastia/gastrectomia vertical quanto na derivação do trato gastrointestinal conforme os estudos realizados e descritos abaixo:

Gastroplastia ou gastrectomia vertical

- A redução da colestase foi confirmada em meta-análise (Uy, 2008) que, a despeito da heterogenicidade decorrente em boa parte de regimes posológicos diversos (300 a 1200mg), houve redução significativa de 27,7 para 8,8% na colelitíase após cirurgias bariátricas ($p<0,01$) com o uso do Ácido Ursodesoxicólico;
- Em outro estudo (Adams, 2015) com 75 pacientes foram divididos entre grupos Ácido Ursodesoxicólico 300mg (dose mínima recomendada nos consensos americano e europeu) e placebo administrados após gastrectomia vertical. Destes 75, 59 chegaram até 6 meses de acompanhamento – aonde do grupo placebo 40% e 11% do grupo Ácido Ursodesoxicólico apresentaram colelitíase ao ultrassom, com redução do risco relativo de $p=0,032$;
- Em um estudo com amostragem mais expressiva de 406 pacientes (Abdallah, 2017) com uso de Ácido Ursodesoxicólico 600mg também houve resultado positivo em termos da administração de Ácido Ursodesoxicólico nesta população: 5% dos pacientes do grupo placebo e nenhum do Ácido Ursodesoxicólico apresentaram colelitíase ($p=0,0005$).

Derivação do trato gastrointestinal

- Estudo em 319 pacientes após derivação em Y-de-Roux (Swartz, 2005) nos quais 7,5% não usaram Ácido Ursodesoxicólico e 92,5% o fizeram, mostrou risco de progressão para colecistectomia de 25% no primeiro grupo e 9,8% no segundo ($p<0,05$), mesmo com baixas taxas de adesão ao tratamento relatadas (48,8% dos paciente utilizaram a medicação);
- Uma revisão (Quesada, 2010) sobre as opções profilática, cirúrgica e uso do Ácido Ursodesoxicólico sugere eficácia da medicação na redução do aparecimento de colelitíase em pacientes após cirurgia bariátrica.

Ácido Ursodesoxicólico melhora prurido e reduz os níveis de transglutaminase glutâmico pirúvica (TGP) e gama-glutamil transferases (GAMA-GT) nas colestases intrahepáticas.

Em um estudo “crossover” com seguimento de 30 meses envolvendo 10 crianças, o Ácido Ursodesoxicólico melhorou o prurido em 6 pacientes. Após 12 meses havia redução significativa de GAMA-GT e TGP. (Narkewicz MR. e cols, 1998).

Em um estudo com pacientes com colestase familiar progressiva, 61% dos pacientes apresentaram melhora dos testes hepáticos com uso do Ácido Ursodesoxicólico. (Jacquemin E e cols, 2001).

A cirrose biliar primária é uma doença colestática progressiva de causa desconhecida, com provável etiologia autoimune, para a qual não existe tratamento definitivo até o momento.

Em um estudo clínico controlado, 30 pacientes portadores de cirrose biliar primária foram avaliados com o uso de Ácido Ursodesoxicólico (AUDC) 10 mg/kg/dia associado ou não a

prednisolona 10 mg/dia por 9 meses. Houve redução significativa dos níveis séricos das enzimas hepáticas (alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase), enzimas canaliculares (fosfatase alcalina e gama-glutamil transferase) e de imunoglobulinas nos dois grupos. Na análise comparativa das biópsias hepáticas realizadas no início e ao final do tratamento, houve melhora histológica significativa ($p<0.003$) no grupo que tomou a associação: Ácido Ursodesoxicólico e prednisolona (Leuschner M. e cols, 1996).

Pacientes portadores de CBP em uso de AUDC na dose de 10mg/kg/dia há pelo menos 6 meses e sem normalização dos níveis séricos de enzimas hepáticas, canaliculares e imunoglobulinas foram convidados a participar de um estudo multicêntrico randomizado controlado que comparou a utilização de AUDC nas doses de 10 mg/kg/dia e 20 mg/kg/dia (Van Hoogstraten HJF. e cols, 1998). Sessenta e um pacientes foram incluídos e divididos em dois grupos de acordo com a dosagem de AUDC a ser administrada diariamente por 6 meses. Foram avaliados sintomas, marcadores bioquímicos hepáticos e enriquecimento biliar com AUDC. No grupo que tomou a dose de 20mg/kg/dia, houve redução significativa nos valores séricos de enzimas hepáticas, canaliculares, imunoglobulina M e colesterol. Notou-se ainda um enriquecimento biliar com AUDC de 37% para 46% no grupo que tomou a dose de 20 mg/kg/dia ($p=0.02$). Não houve diferenças significativas entre os valores iniciais e finais dos mesmos marcadores ou enriquecimento biliar entre os pacientes que tiveram a dose de AUDC mantida em 10 mg/kg/dia. Não houve diferença nos relatos de sintomas ou nos níveis de bilirrubinas entre os grupos (Van Hoogstraten HJF. e cols 1998).

Em um estudo randomizado, controlado com placebo, cento e noventa e dois pacientes foram acompanhados por 2 anos, com realização de biópsia hepática no início e ao final do estudo (Pares A. e col, 2000). Verificou-se que o uso de AUDC na dose de 14 a 16 mg/kg/dia diminuiu os níveis séricos de enzimas hepáticas e canaliculares e de colesterol, assim como também houve melhora do prurido, da fadiga e da presença de xantomas. Observou-se, através da análise histológica, melhora da inflamação portal e da necrose lobular (Pares A. e cols, 2000).

O uso de Ácido Ursodesoxicólico é seguro e indicado na prevenção da progressão da cirrose biliar primária.

Em estudo duplo-cego, randomizado, controlado, foi avaliado se um regime de seis meses de tratamento com 500mg diários de AUDC seria capaz de reduzir a incidência do aparecimento de cálculos biliares em pacientes submetidos a cirurgia bariátrica. Dos 152 pacientes incluídos, 76 receberam AUDC e 76 receberam placebo. A formação de cálculos foi significativamente menor no grupo tratado na avaliação de ultrassom feita 12 meses após a cirurgia (3% vs 22% $p=0,0018$) e também 24 meses após a cirurgia (8% vs 30% $p=0,0022$) (Miller K. e cols, 2003).

Características Farmacológicas

Farmacodinâmica

Ácido Ursodesoxicólico (AUDC), que é um ácido biliar fisiologicamente presente na bile humana, embora em quantidade limitada (menos de 5% do total de ácidos biliares). Ácido Ursodesoxicólico tem ação colerética convertendo a bile litogênica em uma bile não litogênica prevenindo a formação e favorecendo a dissolução gradativa dos cálculos, porém difere de outros ácidos biliares dihidroxilados por não apresentar atividade citotóxica.

Ácido Ursodesoxicólico obtém uma dessaturação da bile através de uma redução na absorção e na síntese do colesterol (por inibição da beta-HMG CoA-redutase) sem interferir na síntese de ácidos biliares. Desta forma, altera a composição da bile de supersaturada para insaturada. Em complemento à solubilização do colesterol em micelas, promove a formação de complexos de cristais de colesterol líquido, causando sua dispersão em meio aquoso, o que acelera a remoção do colesterol da vesícula biliar para o interior do intestino, onde é inibida sua absorção, sendo então eliminada, ou seja, proporciona uma melhora da secreção biliar. Assim, mesmo que a administração de doses elevadas não resulte em concentração de AUDC superior a 60% do total de ácidos biliares, a bile “rica em AUDC” solubiliza o colesterol. Estas várias ações de Ácido Ursodesoxicólico combinam-se para alterar a bile dos pacientes com cálculos biliares, de “precipitadora de colesterol”, para “solubilizadora de colesterol”.

A ação benéfica do Ácido Ursodesoxicólico deve-se também, a um balanço positivo na retenção de ácidos biliares hidrofílicos em detrimento de ácidos biliares hidrofóbicos, os quais podem causar danos celulares levando a lesões do hepatócito, apoptose, necrose hepática e em consequência, à fibrose e à cirrose. Por suas propriedades, o Ácido Ursodesoxicólico inibe competitivamente a absorção ileal desses ácidos biliares hidrofóbicos tóxicos, com estabilização da membrana do hepatócito.

Por outro lado, a administração crônica de AUDC parece aumentar o transporte canalicular e o fluxo biliar. O AUDC exerce seus efeitos anticoléstáticos através da proteção das membranas da árvore biliar e do estímulo da secreção biliar comprometida, pois reduz as propriedades detergentes citotóxicas dos sais biliares (litocolato, desoxicolato e quenodesoxicolato), os quais apresentam concentrações elevadas em pacientes com doenças hepáticas crônicas. A terapia com Ácido Ursodesoxicólico determina também, uma melhora dos testes de função hepática (fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e gama-glutamil transferase) e dos sintomas de prurido e fadiga.

O mecanismo de ação de Ácido Ursodesoxicólico na cirrose biliar primária ainda não é totalmente conhecido. No entanto, o AUDC tem apresentado atividade imunomoduladora, especialmente nas doenças hepáticas crônicas, pois diminui de forma significativa a expressão de antígenos de histocompatibilidade (HLA classes I e II) nos hepatócitos, pela redução da influência dos ácidos biliares hidrofóbicos com conseqüente redução da lesão hepatocelular.

Desta forma, são reconhecidos 5 mecanismos de ação para o AUDC:

- Redução da bile hidrofóbica e, portanto, tóxica pela substituição de ácidos biliares hidrofóbicos no “pool” de ácidos biliares;
- Efeito citoprotetor da membrana dos hepatócitos e das células cuticulares dos ductos biliares;
- Ação imunomoduladora;
- Estimulação da secreção biliar;
- Dissolução de cálculos biliares (gallstones).

Dependendo da fisiopatologia da doença hepática, o mecanismo de ação do AUDC pode ser diferente.

Farmacocinética

Absorção

Cerca de 90% da dose terapêutica é absorvida no intestino delgado por difusão passiva após a administração oral de Ácido Ursodesoxicólico. O efeito terapêutico do AUDC depende de suas concentrações na bile, não sendo os níveis séricos de utilidade clínica. O AUDC pode ser solubilizado e transportado com mais eficiência em meio moderadamente alcalino, como o do íleo, além de ser rapidamente absorvido por via oral e entrar na via entero-hepática.

Após administração repetida, a concentração do AUDC na bile alcança o equilíbrio dinâmico (steady state) após três meses. No entanto, a concentração total de AUDC nunca é superior a 60% da concentração total de ácidos biliares, nem mesmo com o uso de doses elevadas. Após descontinuação da terapia com AUDC, sua concentração diminui rapidamente depois de uma semana para 5 a 10% dos níveis de equilíbrio (steady state).

A meia-vida biológica do AUDC é de aproximadamente 3,5 a 5,8 dias.

Uma resposta inicial ao tratamento (dissolução dos cálculos biliares) é esperada em um período de 3 a 6 meses de uso contínuo.

Distribuição

Após a absorção oral, o AUDC é conduzido exclusivamente para o fígado através da circulação porta. Esta extração é tão eficiente que somente quantidades muito pequenas podem alcançar a circulação. No fígado, é conjugado com os aminoácidos glicina ou taurina e excretado para dentro dos ductos biliares hepáticos. É concentrado na vesícula e expelido no duodeno junto com a bile durante resposta fisiológica à alimentação. Em indivíduos saudáveis, pelo menos 70% do AUDC (não-conjugado) ligam-se às proteínas plasmáticas.

Metabolismo

O AUDC conjugado com taurina ou glicina é sulfatado tornando-se solúvel em água e eliminado nas fezes. Além da conjugação hepática, o AUDC não é catabolizado de forma apreciável pelo fígado ou pela mucosa intestinal. Uma pequena parte pode sofrer degradação bacteriana (7- desidroxilação) a cada ciclo de circulação entero-hepática, transformando-se em ácido 7-cetolítico e lítocólico, os quais são muito hidrossolúveis e são eliminados nas fezes. Não existe referência de dano hepático associado com o AUDC usado terapeuticamente.

Eliminação

Os ácidos biliares são eliminados do corpo quase totalmente por via fecal (95%) depois de sete dias e, apenas uma quantidade residual é eliminada pela urina (menos de 1%).

Interação alimentícia: posso usar o Ácido Ursodesoxicólico com alimentos?

Até o momento não foi relatada interação entre Ácido Ursodesoxicólico e alimentos.

**PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE
ÉTICA EM PESQUISAS**

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO E MODULAÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL EM PACIENTES COM PSORÍASE

Pesquisador: Tatiana Cristina Figueira Polo

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 18578719.0.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Patologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.743.366

Apresentação do Projeto:

Segundo os pesquisadores, Psoríase é doença crônica recorrente, inflamatória, sistêmica e imunologicamente mediada, acomete 2% a 3% da população mundial e pode desencadear uma liberação anormal de proteínas envolvidas no processo inflamatório. Existe influência da psoríase no desenvolvimento de outras comorbidades, como a obesidade, hipertensão, obesidade, diabetes mellitus, síndrome metabólica, entre outras. A prevalência de obesidade em indivíduos com psoríase é duas vezes maior quando comparada à população em geral. O microbioma humano é composto por trilhões de bactérias e o DNA dessas bactérias supera o genoma humano. O intestino é o maior órgão linfóide do corpo e devido sua importância e impacto na saúde e doença, tem sido amplamente estudado o microbioma intestinal. Na psoríase, há um intestino permeável, com indícios de endotoxemia sistêmica, pois os peptidoglicanos bacterianos têm efeitos tóxicos diretos no intestino, por efeito da disbiose intestinal, que consequentemente, promove um processo inflamatório sistêmico que pode refletir na pele. Em busca de alternativas eficientes e a longo prazo, para complementar o tratamento medicamentoso convencional, o uso de ácidos biliares, como o ácido ursodesoxicólico, vêm sendo estudado, devido aos efeitos citoprotetores, antiapoptóticos, estabilizadores de membrana, antioxidantes e imunomoduladores. Não existem estudos controlados que avaliem o impacto da suplementação de ácidos biliares na psoríase, assim como seu efeito no microbioma intestinal. Da mesma forma, não existem estudos que

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

caracterizem o microbioma intestinal na psoríase em pacientes brasileiros, assim como se há alteração com os seus subtipos e comorbidades.

O estudo pretende: (1) caracterizar o microbioma intestinal de 21 pacientes com psoríase, comparado com 15 controles (eutróficos onívoros, vegetarianos e obesos); além de (2) identificar mudanças no microbioma intestinal após a intervenção de 6 semanas com ácido ursódexílico oral em 21 pacientes com psoríase atendidos o ambulatório de dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), com a intenção de prospectar novas terapêuticas adjuvantes.

Critério de Inclusão:

A população será composta por um grupo controle (será recrutado no ambulatório de dermatologia, entre os acompanhantes dos pacientes) será composto por cinco indivíduos adultos (18-60 anos) do sexo masculino, eutróficos onívoros. O grupo psoríase será composto por 21 pacientes portadores de psoríase nos últimos 15 anos, adultos (18-60 anos) do sexo masculino, sem alterações intestinais na última semana, sendo:

7 portadores de psoríase e artrite, 7 portadores de psoríase extensa, 7 portadores de psoríase obesos. Os pacientes com psoríase serão recrutados

no ambulatório de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – São Paulo (FMB). A exclusividade do sexo masculino se deve a possíveis

variações do microbioma intestinal quanto ao sexo, tornando os grupos comparativos mais homogêneos. A exclusividade de adultos (18-60 anos)

também é justificada pela importância de homogeneizar a amostra quanto a variações do microbioma devidos ao envelhecimento do trato digestório.

Critério de Exclusão:

Sem alteração na dieta nos últimos três meses, sem comorbidades, sem uso de antibióticos, laxantes e anti-inflamatórios e sem alterações intestinais na última semana; cinco indivíduos adultos (18-60 anos) do sexo masculino, eutróficos vegetarianos há mais de um ano, sem alteração na dieta nos últimos três meses, sem comorbidades, sem uso de antibióticos, laxantes e anti-inflamatórios e sem alterações intestinais na última semana e cinco indivíduos adultos (18-60 anos) do sexo masculino, obesos, sem alteração na dieta nos últimos três meses, sem

uso de antibióticos, laxantes, imunossupressores e anti-inflamatórios e sem alterações intestinais na última semana.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

CEP: 18.618-970

E-mail: oep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Caracterizar o microbioma intestinal dos pacientes com psoríase, identificar mudanças no microbioma intestinal após a intervenção com ácido ursódexicólico oral e a gravidade clínica da psoríase.

Objetivo Secundário:

-Descrever as características do microbioma intestinal de pacientes brasileiros com psoríase;-Comparar as características do microbioma intestinal de pacientes brasileiros com psoríase com controles eutróficos, obesos e vegetarianos;-Correlacionar o microbioma intestinal com as formas clínicas de psoríase;-Avaliar o microbioma intestinal nos pacientes com psoríase após suplementação oral do ácido ursódexicólico (300mg) por 6 semanas; -Avaliar a gravidade clínica da psoríase após suplementação oral do ácido ursódexicólico (300mg) durante 6 semanas;-Avaliar a tolerabilidade do ácido ursódexicólico oral nos pacientes com psoríase.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Pode ocorrer diarreia com a ingestão do ácido biliar, os pacientes serão orientados e acompanhados durante o tratamento. É importante ressaltar que o tratamento estabelecido pelo ambulatório de dermatologia será mantido durante o trabalho, não haverá interferência no protocolo habitual, será apenas acrescentado a suplementação com o ácido ursodesoxicólico. No período de intervenção, podem ocorrer efeitos colaterais como fezes

pastosas e diarreia. Estaremos em contato direto para qualquer dúvida ou intercorrência com os pacientes em estudo. Pode haver constrangimento durante a entrevista e coleta de fezes.

Benefícios:

Os resultados deste projeto devem aumentar o conhecimento sobre a doença e aludir ao desenvolvimento de novos tratamentos. Os pacientes com psoríase submetidos à intervenção com ácido ursodesoxicólico irão ter esta suplementação gratuita e assistida pelo médico responsável.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, exequível. Financiamento próprio, com custo de R\$23.150,55.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: oep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentou documentação obrigatória. Apresentou 3 TCLEs corrigidos, conforme solicitação do Colegiado, anteriormente: a)um para o grupo controle; b) um para a etapa de caracterização do microbioma e da psoríase no momento inicial da pesquisa e c)outro TCLE para a intervenção com o ácido ursodesoxicólico. Anexado documento enviado pelo pesquisador.

Ainda em relação aos TCLE, os TCLE 1 (Grupo controle) e TCLE 2 (Grupo psoríase mas sem esclarecimento sobre a intervenção) consta a informação equivocada que o participante será convidado a participar na pesquisa após já ter sido entrevistado quanto a seus hábitos alimentares e examinado quanto a peso e altura.

Uma observação menor sobre os TCLEs diz respeito ao posicionamento dos dados da orientadora diretamente abaixo do campo dedicado à assinatura do participante, algo que pode gerar alguma confusão. O ideal seria que abaixo da assinatura do participante constasse seu nome e que os dados da orientadora estivessem abaixo dos dados da pesquisadora principal.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO ORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVADO o projeto de pesquisa apresentado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO ORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 02/12/2019, o Projeto de Pesquisa encontra-se APROVADO.

O Projeto de Pesquisa deverá ser iniciado após aprovação do CEP.

Ao final da execução da Pesquisa, o Pesquisador deverá enviar o Relatório Final de Atividades, na forma de Notificação, via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Chácara Butignolli, s/n	
Bairro: Rubião Junior	CEP: 18.618-970
UF: SP	Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609	E-mail: cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 3.743.366

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_mi.pdf	04/12/2019 09:30:28	SILVANA ANDREA MOLINA LIMA	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1390834.pdf	29/11/2019 08:26:57		Aceito
Outros	Cartaresposta.pdf	29/11/2019 08:26:38	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEcorrigidos.pdf	29/11/2019 08:24:48	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoctrackchanges.pdf	29/11/2019 08:23:56	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoctrado.pdf	29/11/2019 08:23:19	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	formularios.pdf	31/10/2019 10:50:11	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	regulamento_biorrepositorio.pdf	25/09/2019 14:57:05	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	TermoDeAnuencialInstitucional.pdf	23/07/2019 17:22:30	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Outros	AnuenciaHcfmbSipepdf.pdf	23/07/2019 17:21:32	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnaliseDgaaSipe240pdf.pdf	23/07/2019 17:21:06	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoAssinada.pdf	23/07/2019 17:19:11	Tatiana Cristina Figueira Polo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



UNESP -FACULDADE DE
MEDICINA DE BOTUCATU



Continuação do Parecer: 3.743.366

BOTUCATU, 04 de Dezembro de 2019

Assinado por:

SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignolli , s/n

Bairro: Rubião Junior

UF: SP

Telefone: (14)3880-1609

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br

OUTRAS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS DURANTE O DOUTORADO

intensity of clinical signs. In addition, subjective items such as daily itching and sleep disturbance are also taken into consideration.² It has demonstrated superior performance regarding the load of information compared to the other instruments.

EASI assesses the severity of AD based exclusively on the extent of skin involvement and the type of skin lesions, without incorporating information on symptoms or sleep disturbance. In another sample, EASI led to high intrarater reliability, however, its interrater reliability was lower than SCORAD.⁵

IGA is a subjective instrument that evaluates the extent of skin involvement as assessed by the clinician. Since it ranges ordinarily from 0 to 4, it may not detect small variations in disease severity or individual improvements in symptoms.² Despite its lower precision, it provides a considerable amount of information on disease severity.

POEM is a patient-oriented outcome measure that includes seven items: pruritus, night awakenings, bleeding from lesions, exudation, fissures, desquamation, and xerosis.² However, since the patient's perception of disease severity may differ from that of clinicians, the correlation of POEM scores with the other three instruments was lower.

Further investigations are necessary to examine how each score performs in subgroups of AD patients, such as prurigo nodularis and eczema on specific areas (e.g., eyelids, hands, and face/neck). Despite children and adolescents comprising most of the AD patients,⁶ we acknowledge the limitation of our study in that it focused on a specific population and did not include adults. Therefore, to validate and generalize our findings, future research should encompass a broader range of participants to provide a more comprehensive understanding of the applicability and generalizability of the study results. Finally, the comparison of the interrater agreement and responsiveness of these tools are warranted.^{3,5,8}

In conclusion, the objective scores used to assess the severity of AD are highly correlated with each other, although SCORAD incorporated greater informativeness. It is important to consider the item composition of each score in the interpretation of the specific aspects of AD severity.⁷

Data availability statement

The raw data of this study is available under contact with the corresponding author.

Mariana R. de Ré Lai^{1*}, MD, PhD 
Débora B. Gaspar¹, MD

Carolina C. Proença¹, MD

Sílvia S. Mayor¹, MD

Hélio A. Miot², MD, PhD 

¹Department of Dermatology, Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

²Department of Dermatology, Unesp Medical School, Botucatu, SP, Brazil

*E-mail: marianardere@gmail.com

Conflict of interest: None.

Funding source: None.

doi: 10.1111/ijd.16886

References

- Maintz L, Bieber T, Bissonnette R, Jack C. Measuring atopic dermatitis disease severity: the potential for electronic tools to benefit clinical care. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;**9**(4):1473–1486.e2.
- Yang YB, Lynde CW, Fleming P. Common atopic dermatitis rating scales: a practical approach and brief review. *J Cutan Med Surg*. 2020;**24**(4):399–404. <https://doi.org/10.1177/1203475420923644>
- Rullo VE, Segato A, Kirsh A, Sole D. Severity scoring of atopic dermatitis: a comparison of two scoring systems. *Allergol Immunopathol*. 2008;**36**(4):205–11. [https://doi.org/10.1016/S0301-0546\(08\)72551-5](https://doi.org/10.1016/S0301-0546(08)72551-5)
- Stevens JP. *Applied multivariate statistics for the social sciences*. New York: Routledge; 2012.
- Božek A, Reich A. Assessment of intra- and inter-rater reliability of three methods for measuring atopic dermatitis severity: EASI, objective SCORAD, and IGA. *Dermatology*. 2017;**233**(1):16–22. <https://doi.org/10.1159/000472711>
- Miot HA, Aoki V, Orfali RL, Solé D, Mallozi MC, Rodrigues TC, et al. The (one-year) prevalence of atopic dermatitis in Brazil: a population-based telephone survey. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2023;**37**(8):e999–e1001. <https://doi.org/10.1111/jdv.19071>
- Russo F, Cioppa V, Cartocci A, Piano E, Taddeucci P, Lazzeri L, et al. Exploring the relationship between dermatology life quality index, eczema area and severity index, and sleep numerical rating scale and pruritus numerical rating scale in patients with atopic dermatitis treated with dupilumab. *Dermatitis*. 2023;**34**:440–4. <https://doi.org/10.1089/derm.2022.0031>
- Sprickelman AB, Tupker RA, Burgerhof H, Schouten JP, Brand PL, Heymans HS, et al. Severity scoring of atopic dermatitis: a comparison of three scoring systems. *Allergy*. 1997;**52**(9):944–9. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1997.tb01255.x>



Sjogren Larsson Syndrome in Twins: Case Report

Gabriela Roncada Haddad ^{1,*}, Mariana Righetto de Re Lai ¹, Mariana Lopes Amaral Barbosa ² and Andre Luis Moura Balbino ²

¹Department of Infectious Diseases, Dermatology, Imaging Diagnosis and Radioterapy, São Paulo State University, Botucatu, SP, Brazil

²São Paulo State University, Botucatu, SP, Brazil

*Corresponding author: Department of Infectious Diseases, Dermatology, Imaging Diagnosis and Radioterapy, São Paulo State University, Botucatu, SP, Brazil. Email: gabriela.haddad@yahoo.com

Received 2023 February 19; Revised 2023 April 11; Accepted 2023 April 30.

Abstract

Introduction: Sjogren-Larsson syndrome is a rare autosomal neurocutaneous disease, dermatologically manifested by congenital ichthyosis, associated with para/tetraplegia and developmental delay.

Case Presentation: We present the case of two triplet patients, a girl, and a boy, 3 months old, admitted to the intensive care unit (ICU) due to respiratory distress, swallowing, and spasticity. The dermatological evaluation was requested due to the presence of generalized cutaneous xerosis, predominantly facial, in the girl and mild xerosis on the soles and face in the boy. The set of clinical signs and symptoms, together with the histopathological examination that revealed findings of ichthyosis, corroborated the diagnosis of this syndrome.

Conclusions: The importance of describing this case is mainly due to the rarity of the presentation, especially in the case of triplets in which two of the brothers have the syndrome and one does not, as well as an alert to physicians for the correct diagnosis and multidisciplinary and dermatological follow-up.

Keywords: Spastic Paraplegia, Aldehyde, Dehydrogenase, Sjogren-Larsson Syndrome, Ichthyosis

1. Introduction

Sjogren-Larsson syndrome is a rare autosomal recessive neurocutaneous disorder characterized by an inborn lipid metabolism error resulting from a mutation in the ALDH3A2 gene. This gene encodes the enzyme fatty aldehyde dehydrogenase (FALDH), and its mutation results in a decrease in the amount of FALDH present in the body, leading to a deficit in the oxidation of the long chain of fatty acids, generating a deposit of lipid metabolites in the tissues (1, 2). Deposits in the skin and central nervous system (CNS) are primarily manifested through the classic triad of congenital ichthyosis, paraplegia or quadriplegia, and mental retardation (1-3). Ichthyosis results from the disorganization and disruption of the transepidermal water barrier by the agglutination of lipid metabolites in this region, while CNS manifestations originate from disorders of myelination and demyelination of nerve fibers due to the deficiency of oxidized fatty acids (2, 4, 5). Ocular and visual changes are also frequent and result from deposits of lipofuscin pigment in the retinal epithelium (2, 6). Most reported cases have serious repercussions (1).

2. Case Presentation

We report the cases of two patients, one female and one male, aged three months, triplets from consanguineous parents (third cousins), premature at 35 weeks, presenting similar clinical conditions at birth, while the third sister did not present with cutaneous or systemic manifestations. They exhibited erythematous and xerotic skin at birth, evolving shortly afterward with apnea episodes, cyanosis, dysphagia, vomiting, and malnutrition. One patient, the girl, experienced seizure episodes. The other patient, the boy, had spasticity.

Dermatological examination revealed diffuse xerosis of the skin in both patients (Figure 1), with fine scaling and predominance on the face; an erythematous macula extending from the glabella to the right upper eyelid; a small scaly erythematous plaque in the right cervical region in the girl (Figure 2); and discolored skin, diffuse cutaneous xerosis, with fine scaling, predominantly on the face, distal third of the lower limbs and feet in the boy (Figure 3). They presented with paronychia, nail hyperkeratosis, detachment, and dystrophy of the nail plate in the nails of the hands, with no changes in the toenails.



Figure 1. Diffuse cutaneous xerosis. Emphasis on the abdominal region



Figure 2. Xeroderma on the face and scaly erythematosis lesions in the glabellar region. Erythematous scaly plaque in the neck region

Together with other specialties, the diagnostic hypotheses of inborn error of metabolism, Otahara epileptic syndrome, congenital ichthyosiform erythroderma, and Sjögren-Larsson syndrome were proposed. Sjögren-Larsson syndrome was considered because of the systemic picture presented by the patients, the parents' consanguinity, and skin biopsies performed in the initial evaluation, revealing hyperkeratosis, accentuation of the granular layer and atrophy of the epidermis, with preservation of the dermis and subcutaneous tissue, compatible with ichthyosis.

Nail alterations in this syndrome have been poorly described in the literature. The acute changes observed were possibly due to inflammatory processes and metabolic stress during hospitalization.

In the reported cases, intensive skin hydration was used, which resulted in an improvement in the dermatological condition, despite serious systemic repercussions.

3. Discussion

Diffuse erythema at birth characterizes the onset of the dermatological manifestations of this syndrome, which essentially evolves with lamellar ichthyosis due to a defect in keratinization associated with pruritus. Classically, the folds, periumbilical, and neck regions are affected, while the face is generally spared, which differs from the cases presented here. Palmoplantar keratoderma can also be seen (1, 2, 7). Neurological involvement is demonstrated by progressive delay in motor development, pyramidal syndrome, and spasticity. It is possible that spasticity, in more advanced stages, affects the upper limbs and perioral region, causing speech and swallowing difficulties. Seizures, as presented by the patient in this case, are common and present in up to 40% of the cases. Premature birth has been commonly reported by researchers, as also observed in our case (7-9). The diagnosis is obtained through the presence of the classic triad and changes in the eye fundus, with crystalline maculopathy observed in up to 100% of the cases (2). Confirmation was made by enzymatic analysis, with the demonstration of FALDH deficiency in fibroblast or leukocyte cultures, which was not available in our ser-



Figure 3. Xeroderma on the face. Fine scaling on the dorsum of the left foot

vice. It should be noted that only half of the patients with neurological symptoms similar to this syndrome, together with skin changes, have a fatty aldehyde dehydrogenase deficiency. Evaluating the urinary excretion of leukotriene B₄ and its metabolites and genetic studies of the ALDH3A2 gene can help diagnose; however, it is not essential for confirmation. These tests should be performed whenever possible for diagnostic confirmation and genetic counseling (1-4, 7). Furthermore, it is necessary to make a differential diagnosis from other forms of ichthyosis, such as X-linked recessive, vulgaris, lamellar, bullous, and non-bullous congenital ichthyosiform erythroderma. The treatment is multidisciplinary, and dermatological treatment involves the topical use of emollients, keratolytics, and, in some cases, the use of systemic retinoids (1-4, 7).

We present this case due to its importance, and this description is extremely valid mainly because of the rarity of the presentation, especially because these are triplet patients in which two of the twins have the syndrome and one of the twins does not. In addition, it serves as an alert to physicians for correct investigation, correct diagnosis, and multidisciplinary and dermatological follow-up.

Footnotes

Authors' Contribution: GRH conceived and designed the evaluation, evaluated the clinical data, revised the manuscript, and drafted the manuscript. MRRL participated in designing the evaluation, evaluated the clinical data, revised the manuscript, and helped to draft the manuscript. MLB participated in designing the evaluation, evaluated the clinical data, revised the manuscript, and helped to draft the manuscript. ALB participated in designing the evaluation, evaluated the clinical data, revised the manuscript, and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Conflict of Interests: The authors declare no conflict of interests.

Data Reproducibility: The dataset presented in the study is available upon request from the corresponding author during submission or after publication. The data are not publicly available due to the fact that they belong to the patient's electronic medical record, which can be accessed on the computers of the hospital where the patients were hospitalized.

Funding/Support: This study did not have financial support from any public or private agency. The patients were

hospitalized in public service at the Hospital das Clínicas of the Faculty of Medicine of Unesp, Botucatu.

Informed Consent: The authors have obtained the written informed consent of the patients or subjects mentioned in the article. The authors declare that no patient data appear in this article.

References

1. Arêdes MR, Mann EHA, de Oliveira TMFC, Lima GT, Silva MN, Simões CD, et al. [Sjögren-Larsson syndrome: genetic factors, symptoms, and treatment]. *Braz J Health Rev.* 2021;**4**(2):7159-66. Portuguese. <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n2-262>.
2. Benez MD, Fontenelle E, Tozzi BB, Presotto C. Do you know this syndrome? Sjögren-Larsson syndrome. *An Bras Dermatol.* 2010;**85**(6):951-3. [PubMed ID: 21308331]. <https://doi.org/10.1590/s0365-05962010000600033>.
3. Assunção JBG, Resende ML, Viegas AC, Furtado T. [Sjögren Larsson Syndrome]. *An Bras Dermatol.* 1973;**48**:21. Portuguese.
4. Lynch D, Waldman AT. *Sjögren-Larsson syndrome review.* 2008. Available from: www.uptodate.com.
5. Rizzo WB, Craft DA, Somer T, Carney G, Trafrova J, Simon M. Abnormal fatty alcohol metabolism in cultured keratinocytes from patients with Sjögren-Larsson syndrome. *J Lipid Res.* 2008;**49**(2):410-9. [PubMed ID: 17971613]. [PubMed Central ID: PMC3057183]. <https://doi.org/10.1194/jlr.M700469-JLR200>.
6. Isaac DL, Queiroz GH, Feres CC, Avila M. [Macular crystalline dystrophy in Sjögren-Larsson syndrome: case report]. *Arq Bras Oftalmol.* 2009;**72**(2):239-42. Portuguese. [PubMed ID: 19466337]. <https://doi.org/10.1590/s0004-27492009000200021>.
7. Roy U, Das U, Pandit A, Debnath A. Sjögren-Larsson syndrome: a rare disease of the skin and central nervous system. *BMJ Case Rep.* 2016;**2016**:10 1136/bcr-2016-215110. [PubMed ID: 27095813]. [PubMed Central ID: PMC4840703]. <https://doi.org/10.1136/bcr-2016-215110>.
8. Willemsen MA, IJlst L, Steijlen PM, Rotteveel JJ, de Jong JG, van Domburg PH, et al. Clinical, biochemical and molecular genetic characteristics of 19 patients with the Sjögren-Larsson syndrome. *Brain.* 2001;**124**(Pt 7):1426-37. [PubMed ID: 11408337]. <https://doi.org/10.1093/brain/124.7.1426>.
9. Rizzo WB. Sjögren-Larsson syndrome: explaining the skin-brain connection. *Neurology.* 1999;**52**(7):1307-8. [PubMed ID: 10227610]. <https://doi.org/10.1212/wnl.52.7.1307>.



DERMATOPATHOLOGY

Pigmented eccrine poroma in an atypical location[☆]



Melissa de Almeida Corrêa Alfredo ^{id} ^a, Mariana Righetto de Ré Lai ^{id} ^a,
Luciane Donida Bartoli Miot ^{id} ^a, Gabriela Roncada Haddad ^{id} ^a, Aline Lutz Garcia ^{id} ^b,
Hélio Amante Miot ^{id} ^{a,*}

^a Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil

^b Department of Pathology, Faculty of Medicine, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil

Received 14 September 2021; accepted 28 October 2021

Available online 7 July 2022

KEYWORDS

Poroma;
Neoplasms;
Skin neoplasms

Abstract Eccrine poroma is the term that includes benign neoplasms of the terminal duct of the eccrine sweat glands, which may clinically and dermoscopically resemble other melanoma and non-melanoma skin tumors. They are often located on the extremities (especially palms and soles), presenting as normochromic or erythematous papules and nodules, measuring up to 2 cm. Pigmented variants are uncommon, accounting for less than 20% of cases. This report describes a 37-year-old man who developed a large pigmented eccrine poroma on his right shoulder, causing diagnostic difficulty. Histopathological examination revealed a nodular neoplasm consisting of small, monomorphic, cuboidal cells, with ample, eosinophilic cytoplasm and well-defined borders, in addition to conspicuous intercellular bridges, with melanin deposits diffusely distributed inside them. The absence of cytological atypia, cellular pleomorphism, increased mitotic activity, and necrosis foci corroborated the diagnostic exclusion of porocarcinoma, which can develop from eccrine poroma.

© 2022 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Eccrine poromas (EP) are benign neoplasms of the sweat glands consisting of epithelial cells with distal tubular differentiation (acrosyringium), representing approximately 10% of all sweat gland tumors. They are often located on the acral regions, especially the palms and soles, due to the

high density of eccrine glands in these areas but can affect any region of the skin.¹ Clinically, EPs present as normochromic or erythematous papules and nodules, but rarely as vegetative and ulcerative tumors. Pigmented variants are uncommon and may mimic other pigmented tumors, such as melanoma and pigmented basal cell carcinoma.²

This report describes a young adult patient with an atypical, pigmented EP lesion on the shoulder, clinically resembling other pigmented neoplasms, emphasizing the

[☆] Study conducted at the Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil.

* Corresponding author.

E-mail: helio.a.miot@unesp.br (H.A. Miot).

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2021.10.006>

0365-0596/© 2022 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

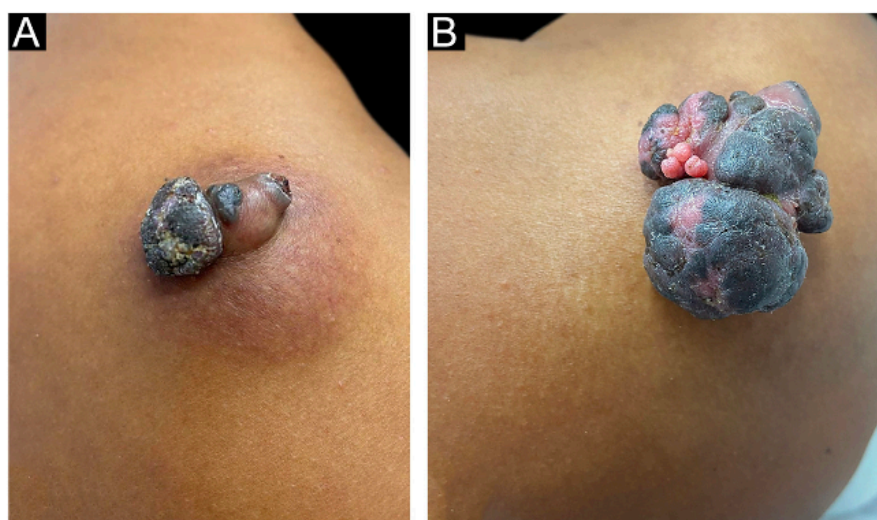


Figure 1 Pigmented eccrine poroma on the right shoulder. (A), Brownish tumor with infiltrated base, lobulated blackened areas, and crusted surface, at the first visit. (B), One year later, increase in tumor volume (5 × 4 cm), with a blackened, multilobulated appearance, and evident vegetative and exulcerated areas.

relevance of histopathological examination for diagnostic confirmation.

A 37-year-old dark-skinned male reported that he had a tumor showing progressive growth on the posterior region of the right shoulder, for one year and a half (Fig. 1A). Clinical examination disclosed a brownish vegetative tumor with a crusted surface and an infiltrated erythematous base, measuring 4 × 3 cm. Dermoscopy of the lesion showed a homogeneous image, without no structures suggestive of basal cell carcinoma or any criteria for melanocytic lesions.

Due to the pandemic (COVID-19), the surgical excision was delayed for one year, leading to lesion growth. Upon reassessment, the patient had a vegetative, erythematous-violaceous tumor with a blackish-brown, infiltrated surface, with a slightly erythematous base, measuring 5 × 4 cm (Fig. 1B), which gave off a foul odor. The patient had no palpable lymph node enlargement or other relevant alterations on physical examination.

The lesion was submitted to total excision, with a safety margin, under the hypotheses of nodular melanoma, proliferating trichilemmal cyst, pigmented basal cell carcinoma, and pigmented dermatofibrosarcoma protuberans (Bednar's tumor).

The histopathological examination revealed a well-defined nodular neoplasm, connected with the epidermis, consisting of small, monomorphic, cuboidal cells, with ample, eosinophilic cytoplasm and well-defined borders, in addition to conspicuous intercellular Bridges. There were melanin deposits diffusely distributed inside the neoplasm. Moreover, intracytoplasmic lumens and ductular formations delineated by cuticles (Figs. 2-4) were observed in some tumor cuboidal cells. The tumor lobules did not show stromal retraction or peripheral nuclear palisading.

The absence of cytological atypia, cellular pleomorphism, increased mitotic activity, and foci of necrosis corroborated the exclusion of porocarcinoma as a diagnosis.

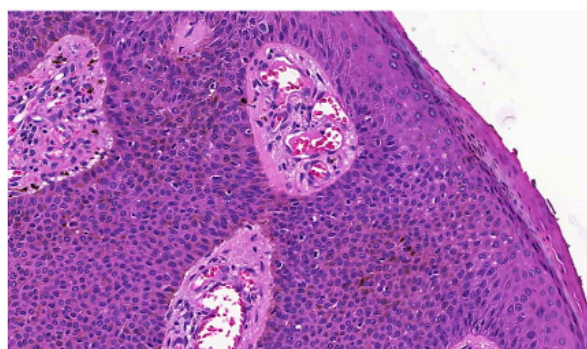


Figure 2 Pigmented eccrine poroma (Hematoxylin & eosin, ×100). Neoplasm consisting of small cuboidal cells with ample cytoplasm (smaller than the keratinocytes), with melanin deposition diffusely distributed within the neoplasm. The neoplasm is connected to the epidermis but there is no peripheral palisading.

tic possibility. Polyclonal CEA (carcinoembryonic antigen) immunostaining was negative (Fig. 5).

The first EP description was reported by Pinkus et al. (1956), who described five cases of benign plantar tumors, whose histological assessment indicated a neoplasm that affected the terminal duct of the sweat glands.³

Histopathologically, EP is a benign tumor that originates in the intraepidermal portion of the sweat duct. Its etiology remains uncertain and it is a slow-growing tumor, with heterogeneous features; however, it is associated with trauma, radiation, and growth over scar tissue.⁴ The acral occurrence implies a differential diagnosis, mainly with myrmecia, squamous cell carcinoma (epithelioma *cuniculatum*), pyogenic granuloma and amelanotic nodular melanoma. Surgical excision with complete removal of the

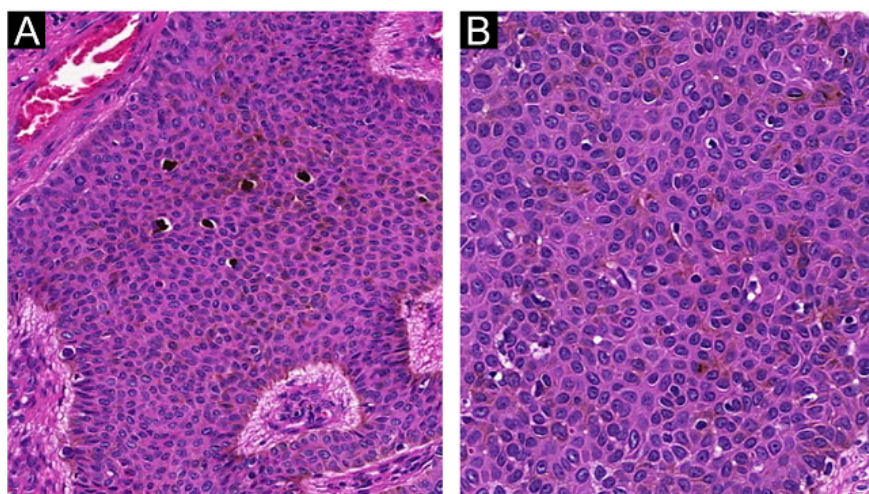


Figure 3 Pigmented eccrine poroma. (A), Area with evident intratumoral melanocytes (Hematoxylin & eosin, $\times 100$). (B), Detail of the formation of incipient intracytoplasmic lumens inside the tumor (Hematoxylin & eosin, $\times 400$).

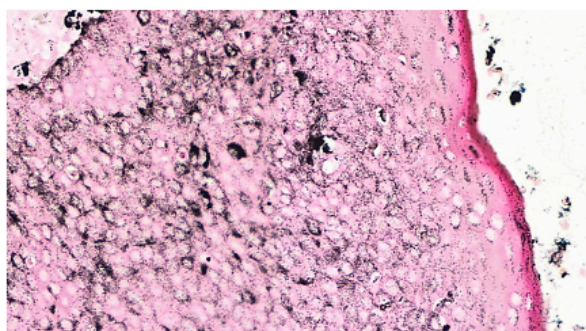


Figure 4 Pigmented eccrine poroma (Fontana-Masson, $\times 100$). Diffuse intratumoral deposition of melanin granules, showing a greater intensity than that of the overlying epidermis.

neoplasm is the treatment of choice, which leads to complete healing of the lesion.

The pigmented variant of EP is uncommon, corresponding to only 17% of cases, and has been previously described in individuals with different phototypes. Its diagnosis is chal-

lenging due to its rarity, and because it can be mistaken for other pigmented tumors such as melanoma, seborrheic keratosis, pigmented basal cell carcinoma, and Bednar's tumor.^{5,6} These characteristics make histopathological analysis crucial for diagnostic confirmation and exclusion of malignancy. In these cases, there are numerous dendritic melanocytes dispersed among the tumor cells, giving the neoplasm the pigmented appearance. However, pigmented forms do not imply a different prognosis or local behavior from non-pigmented forms of EP.

Eccrine porocarcinoma, which can also be pigmented, is the main differential diagnosis on histopathological examination, inasmuch as it has a slow growth, and incisional biopsies may reveal components with apparent benign characteristics, delaying the diagnosis.^{7,8} The malignant transformation of eccrine poromas is suggested by these intratumoral findings of porocarcinomas, which indicates the removal of the entire suspicious lesion, whenever possible, for the anatomopathological study with an extensive evaluation of the neoplasm, regarding cell atypia, circumscribed architecture, mitotic activity, foci of necrosis, and cell pleomorphism.^{9,10} Immunohistochemical demonstration

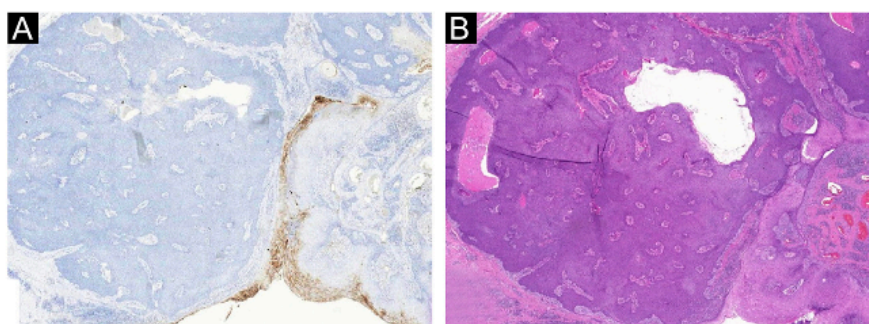


Figure 5 Pigmented eccrine poroma. (A), Negative immunostaining for polyclonal carcinoembryonic antigen (CEA). (B), Comparative image of the neoplasm (Hematoxylin & eosin, $\times 10$).

of positivity with polyclonal CEA in the cytoplasm of tumor cells and in glandular lumen formations, helps in the differentiation from other epithelial neoplasms. It should be noted that negative CEA immunostaining can occur in up to 23% of porocarcinomas, especially if the monoclonal antibody is used.^{5,11}

Dermatologists should be aware of the diagnosis of slow-growing pigmented tumors, even outside the palms and soles, due to the possibility of a pigmented EP, a tumor with a favorable prognosis after extensive surgical excision.

Financial support

None declared.

Authors' contributions

Melissa de Almeida Corrêa Alfredo: Design and planning of the study; approval of the final version of the manuscript; critical review of the literature; critical review of the manuscript; intellectual participation in the propaedeutic and/or therapeutic conduct of the studied cases.

Mariana Righetto de Ré Lai: Approval of the final version of the manuscript; critical review of the literature; critical review of the manuscript; intellectual participation in the propaedeutic and/or therapeutic conduct of the studied cases.

Luciane Donida Bartoli Miot: Design and planning of the study; approval of the final version of the manuscript; critical review of the manuscript; intellectual participation in the propaedeutic and/or therapeutic conduct of the studied cases.

Gabriela Roncada Haddad: Approval of the final version of the manuscript; critical review of the manuscript; intellectual participation in the propaedeutic and/or therapeutic conduct of the studied cases.

Aline Lutz Garcia: Approval of the final version of the manuscript; critical review of the manuscript; intellectual participation in the propaedeutic and/or therapeutic conduct of the studied cases.

Hélio Amante Miot: Approval of the final version of the manuscript; critical review of the manuscript.

Conflicts of interest

None declared.

References

1. Sawaya JL, Khachemoune A. Poroma: a review of eccrine, apocrine, and malignant forms. *Int J Dermatol*. 2014;53:1053-61.
2. Mousawi A, Kibbi AG. Pigmented eccrine poroma: a simulant of nodular melanoma. *Int J Dermatol*. 1995;34:857-8.
3. Pinkus H, Rogin JR, Goldman P. Eccrine poroma; tumors exhibiting features of the epidermal sweat duct unit. *AMA Arch Derm*. 1956;74:511-21.
4. McMeekin TW, Baerg RH, Snyder AJ, Ishibashi PL. Eccrine poroma. Review of the literature and case report. *J Am Podiatr Med Assoc*. 1988;78:43-6.
5. May LM, Sam YS, Jingxiang H, Derrick ACW. Pigmented eccrine poroma of the palm clinically mimicking a seborrheic keratosis. *JAAD Case Rep*. 2016;2:171-3.
6. Nakagawa K, Okabayashi A, Kishida M, Kinoshita R, Yoshida Y, Imanishi H, et al. Case of pigmented eccrine poroma macroscopically simulated a malignant neoplasm with uptake of (18) F-fluorodeoxyglucose on positron emission tomography/computed tomography. *J Dermatol*. 2015;42:926-7.
7. Ishida M, Iwai M, Yoshida K, Kagotani A, Okabe H. Pigmented porocarcinoma: a case report with review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6:3033-5.
8. Hara K, Kamiya S. Pigmented eccrine porocarcinoma: a mimic of malignant melanoma. *Histopathology*. 1995;27:86-8.
9. Abarzua A, Alvarez-Veliz S, Moll-Manzur C. Concomitant poroma and porocarcinoma. *An Bras Dermatol*. 2017;92:550-2.
10. Uchiyama J, Jardim MML, Valente NYS, Camargo M. The transition between a poroma and a porocarcinoma evidenced by the dermoscopy. *An Bras Dermatol*. 2019;94:230-2.
11. Mahalingam M, Richards JE, Selim MA, Muzikansky A, Hoang MP. An immunohistochemical comparison of cytokeratin 7, cytokeratin 15, cytokeratin 19, CAM 5.2, carcinoembryonic antigen, and nestin in differentiating porocarcinoma from squamous cell carcinoma. *Hum Pathol*. 2012;43:1265-72.

Tipo de estudo: Investigação

TÍTULO: Fatores associados a variabilidade do enrugamento estimulado da pele.

Conflitos de interesse: nenhum

RESUMO

Introdução: O enrugamento estimulado da pele (EEP) é um fenômeno comum caracterizado pelo surgimento de rugas e sulcos na pele, após imersão prolongada em água. O fenômeno depende da ação do sistema nervoso autônomo e da integridade das glândulas sudoríparas, decorrendo da vasoconstrição e redução do volume das polpas digitais.

Objetivo: Avaliar as variáveis físicas, químicas e individuais que interfiram no EEP.

Métodos: Condução de nove experimentos consecutivos, com 14 voluntários adultos, de ambos os sexos, submetidos a testes repetidos do tempo para EEP com variação da temperatura, pH, pressão, osmolaridade, viscosidade e estímulo simpático (café expresso). O desfecho foi o tempo para a identificação de três rugas em um dos dedos das mãos, imersas em diferentes soluções.

Resultados: Houve grande variabilidade individual nos tempos para o EEP com água filtrada (156 a 1.800s), apesar de haver assimetria consistente entre os lados, não se associou com a mão dominante ($p=0,78$). Houve variação circadiana para o EEP, mais rápido durante o dia, que à noite (-26% ; $p<0.01$). Água quente (40°C), água destilada, aumento da pressão hidrostática, pH ácido (3,5). e estímulo com café foram fatores que aceleraram o EEP em comparação com água filtrada ($p\leq 0.01$).

Conclusão: O tempo para EEP foi influenciado por fatores físicos, químicos e circadianos. Estes resultados esclarecem elementos fisiológicos e permitem o desenvolvimento de testes não-invasivos da integridade da resposta simpática.

FUNDAMENTOS:

O enrugamento estimulado da pele (EEP) caracteriza-se por ondulações reversíveis, predominantemente nas palmas e plantas, que decorre da resposta vasoconstrictora, que induz à redução do volume das extremidades, a qual é controlada pelo sistema nervoso autônomo, e depende da integridade das glândulas sudoríparas ecrinas (GSE).

O processo de EEP ocorre em etapas, iniciando com o contato da pele e a entrada de líquido através dos ductos sudoríparos. Em seguida, ocorrem alterações na concentração de eletrólitos que são sinalizados (via aferente) e desencadeiam uma resposta simpática que reduz o diâmetro dos vasos sanguíneos, levando à redução do volume das polpas digitais e o surgimento de rugas e sulcos.

A associação entre o EEP e a atividade do sistema nervoso autônomo foi estabelecida ao verificar que pacientes com lesões centrais, medulares ou periféricas (nervos ou fibras finas) não apresentam capacidade de enrugamento das polpas digitais. Pacientes com displasia ectodérmica anidrótica e hanseníase também não enrugam, já portadores de fibrose cística (aumento do Cloro no suor), enrugam com mais facilidade.

Os fatores que interferem no processo de EEP, afetando o tempo de imersão necessário para o enrugamento digital, ainda não são completamente elucidados.

OBJETIVOS:

Avaliar elementos físicos, químicos e individuais que interfiram no tempo para EEP dos dedos, tais como: temperatura, pressão, pH, osmose e estímulo simpático em adultos saudáveis.

MÉTODOS:

Ensaio experimental que executou 9 experimentos em 14 voluntários saudáveis, de ambos os sexos, com média de 28,2 (desvio padrão: 9,2) anos de idade. Os participantes não possuíam histórico de doença neurológica, ingestão de café por uma hora ou ter praticado atividade física/sexual nas 3 horas anteriores ao teste.

O primeiro experimento consistiu na definição dos dedos-teste ao realizar a submersão de ambas as mãos (exceto polegar) em água filtrada à temperatura ambiente (AFTA), com a determinação do dedo que forma três rugas em menor tempo (Figura 1), além da simetria e a interferência da mão dominante.

Posteriormente, averiguou-se a interferência da temperatura ao comparar AFTA com água gelada e à 40°C, enquanto que o terceiro teste avaliou o impacto da pressão ao contrapor a imersão em AFTA imersa a uma profundidade de 30 cm.

O quarto experimento analisou o efeito do pH com vinagre de álcool (pH 3,5) e, após, com solução de bicarbonato (pH 8.0), enquanto que o quinto explorou a ação da osmolaridade, utilizando água destilada e solução saturada de NaCl (36%) para comparar com AFTA.

O sexto verificou a interferência do meio oleoso (óleo de soja), ao comprar a imersão em óleo com AFTA.

Por fim, avaliou-se a influência do estímulo simpático por meio da imersão das mãos em AFTA imediatamente após ingestão de uma dose de café expresso (*Ristretto*) e a interferência do ciclo circadiano no processo de enrugamento, realizando-se medidas em água filtrada às dez da manhã e às dez da noite.

O projeto foi aprovado no comitê de ética. Os tempos foram registrados em segundos. Em cada experimento, os valores de cada participante foram comparados entre os grupos por modelo linear generalizado de efeitos mistos. Foi considerado significativo p-valor $\leq 0,01$.

RESULTADOS:

Houve grande variabilidade individual nos tempos para o EEP com água filtrada (156 a 1.800s), apesar de haver assimetria consistente entre os lados, não se associou com a mão dominante ($p=0,78$), os dedos preferenciais também variaram na amostra.

Os resultados dos experimentos de acordo com o ritmo circadiano, água morna, variação de pH, pressão, osmolaridade, ou estímulo simpático estão dispostos nas figuras 2 a 5, todos mostraram diferença entre os tempos ($p\leq 0,01$). Nenhum dos participantes enrugou após exposição ao meio oleoso.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES:

EEP é um fenômeno complexo e mal compreendido, que pode demonstrar a integridade dos sistemas sudoríparos écrino e neurológico (simpático). Sua origem filogenética deve se referir à maior habilidade de preensão de instrumentos em situações de estresse (caça, luta).

Sexo feminino, idade avançada e doenças crônicas são elementos conhecidos como retardantes do EEP. A alteração com o ciclo circadiano ocorre de forma similar a outras medidas de tônus simpático, como a variabilidade da frequência cardíaca.

A temperatura e pressão devem aumentar a efetividade que o líquido penetra no ducto da GSE, favorecendo a resposta.

Nossos resultados avançam na compreensão de estímulos que interfiram no tempo individual para EEP, especialmente, o vinagre aquecido resultou em uma redução consistente do tempo de todos os participantes. Água destilada se aproxima da osmolaridade do suor, podendo sinalizar para a GSE maior sudorese.

Estes resultados podem levar à viabilização de testes de baixo custo da integridade neurológica periférica, podendo ser de grande valia na dermatologia para rastreio precoce em doenças que acometem o sistema nervoso, como na hanseníase.

REFERÊNCIAS

1. Wilder-Smith EP. Stimulated skin wrinkling as an indicator of limb sympathetic function. Clin Neurophysiol. 2015 Jan;126(1):10-6.
2. Kava J, Dunlap E, Tanaka H. Water immersion skin wrinkling: modulation by common participant characteristics. Int J Dermatol. 2022 Dec;61(12):1481-1486.
3. Kareklas K, Nettle D, Smulders TV. Water-induced finger wrinkles improve handling of wet objects. Biol Lett. 2013 Jan 8;9(2):20120999.
4. Collins PAW, DiDonato RM, Thomson K, Brazil M. A proof-of-concept assessment in healthy volunteers of stimulated skin wrinkling to determine the presence or absence of digital nerve blockade. Can J Anaesth. 2021 Aug;68(8):1279-1280.
5. Grinbaum E, Shahwan A, Eliyahu A, Shay R, Rozen N, Rubin G. The optimal duration for the wrinkle test in a clinical setting. Sci Rep. 2022 May 25;12(1):8877.



Figura 1. Enrugamento estimulado da pele. Desfecho principal dos experimentos, formação de três ou mais rugas nos dedos das mãos.

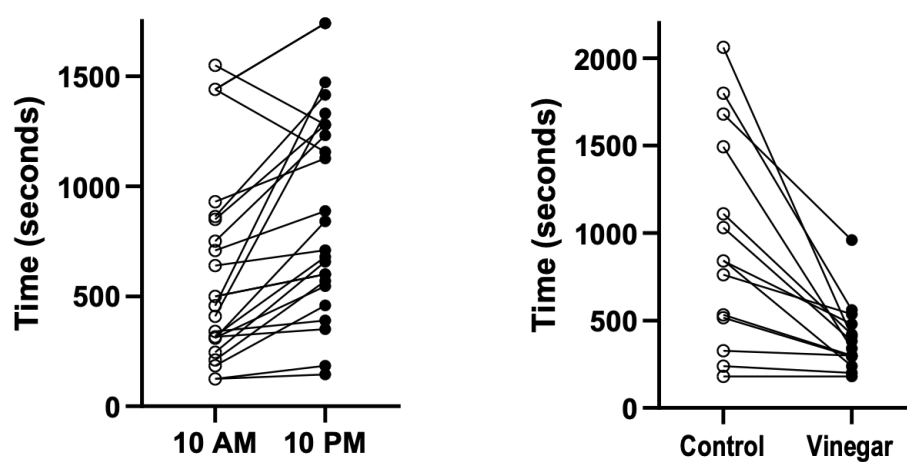


Figura 2. Enrugamento estimulado da pele. Comparação entre os tempos de enrugamento nos diferentes horários do dia (10AM e 10PM), e no mesmo momento com vinagre de álcool (pH = 3,5).

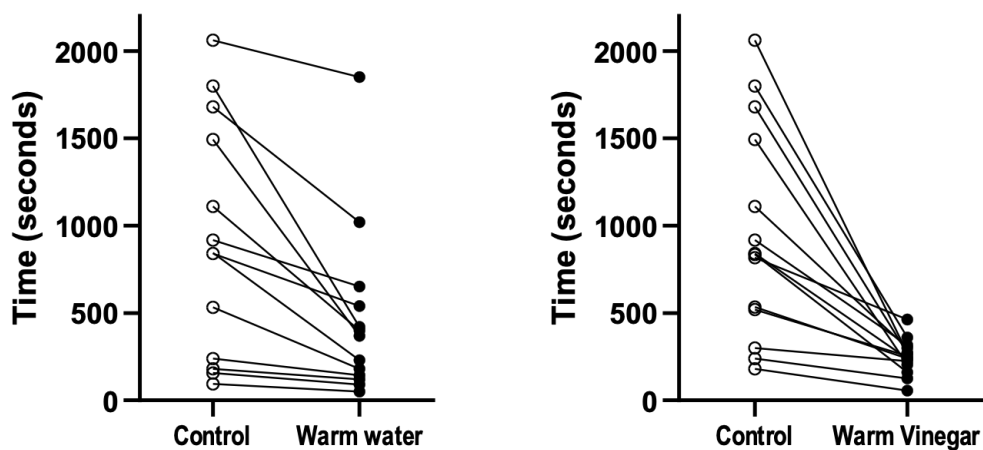


Figura 3. Enrugamento estimulado da pele. Comparação entre os tempos de enrugamento com água morna (40°C), com vinagre de álcool (pH = 3,5) aquecido.

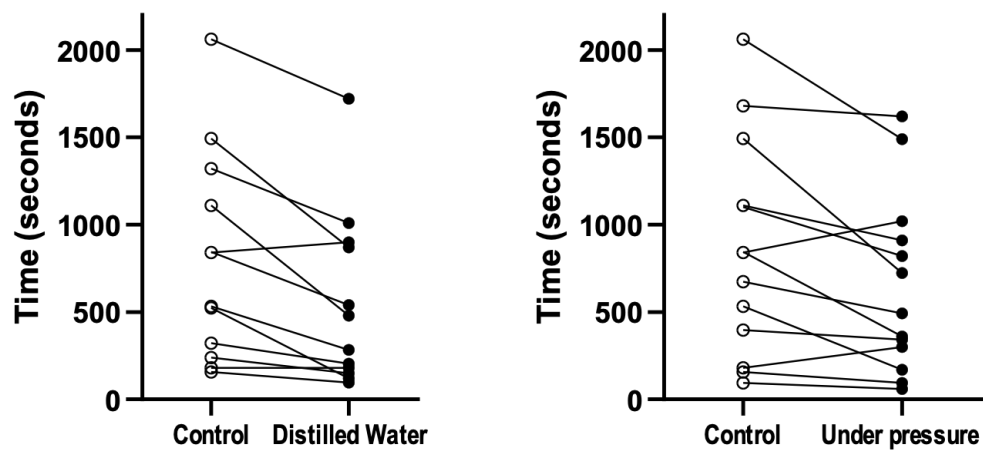


Figura 4. Enrugamento estimulado da pele. Comparação entre os tempos de enrugamento com água destilada e com água sob pressão de 30 cm.

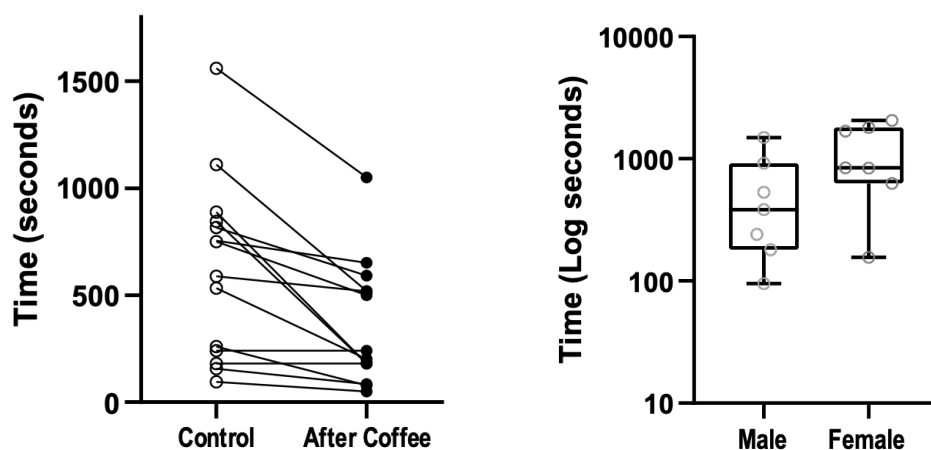


Figura 4. Enrugamento estimulado da pele. Comparação entre os tempos de enrugamento após ingerir café expresso, e diferença entre os sexos dos tempos de enrugamento.

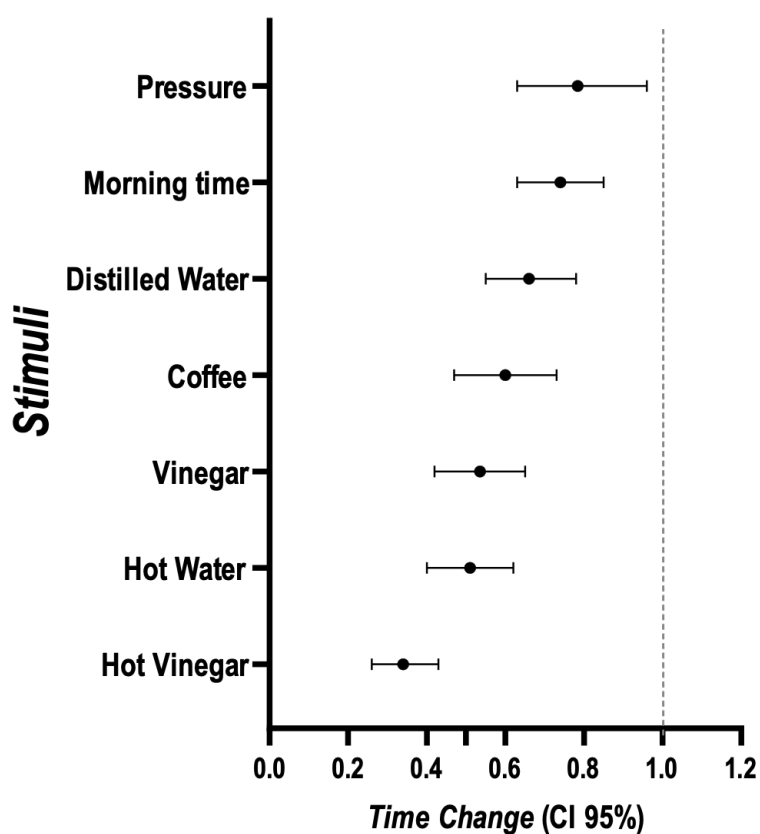


Figura 6. Representação da mudança média (IC 95%) do tempo para o enrugamento dos experimentos em relação à água filtrada à temperatura ambiente.