

## PP010 - Ação da pentoxifilina nos dendrócitos dérmicos FXIIIa de placas de psoríase\*

### *Effects of pentoxifylline on dermal dendrocytes FXIIIa using psoriasis plaques as a model\**

Sueli Coelho da Silva Carneiro<sup>1</sup>  
Cleiton Alves<sup>4</sup>

Raphael Medeiros<sup>2</sup>  
Tullia Cuzzi<sup>5</sup>

Geraldo Magela Magalhães<sup>3</sup>  
Mirian Nacagami Sotto<sup>6</sup>

**Resumo:** FUNDAMENTOS – Não há consenso sobre o papel dos dendrócitos dérmicos (DD) nos eventos fisiopatológicos nos períodos de exacerbação e de acalmia da doença. A pentoxifilina (PTX) é uma metilxantina que inibe vários mecanismos inflamatórios.

OBJETIVO – Estudar os efeitos da PTX sobre os dendrócitos dérmicos de placas de psoríase com técnicas imunohistoquímicas.

MATERIAL E MÉTODOS – Trinta biópsias de placas de psoríase antes e após oito semanas de uso oral diário de 1.200mg de PTX foram incubadas com anticorpo primário de coelho antiFator XIIIa e anticorpo de ligação conjugado com fosfatase alcalina.

RESULTADOS – As células imunomarcadas Fator XIIIa+ foram proeminentes com morfologia dendrítica arborescente na derme papilar formando linha celular logo abaixo da epiderme e exibindo arranjo nodular ao redor dos vasos. Após tratamento, as células apresentaram-se com morfologia dendrítica e fusiforme, distribuídas ao redor dos vasos da derme papilar e predominantemente fusiformes dispostas paralelamente à junção dermoepidérmica retificada.

CONCLUSÕES – A PTX promove aumento do fluxo sanguíneo e diminuição da adesividade endotelial, com aumento dos mastócitos e DD FXIIIa. A PTX inibe o TNF-alfa, que implica a diminuição da expressão de receptores pelos DDs, como CCR7 e a manutenção do estímulo tecidual para sinalização e migração dos precursores, uma vez que os processos etiopatogênicos não são afetados pela droga

Palavras-chave: Células dendríticas; Pentoxifilina; Psoríase

**Abstract:** Background - There is no consensus about dermal dendrocytes (DD) function on physiopathological events on psoriasis. Pentoxifylline (PTX) is a methylxanthine that inhibits many inflammatory mechanisms

OBJECTIVE - The aim was to evaluate PTX effect on DD proliferation of psoriasis through immunohistochemical techniques

MATERIAL AND METHODS - Thirty psoriatic skin specimens before and 8 weeks after 1200mg/day PTX were incubated with primary rabbit antibody anti-factor XIIIa and binding antibody conjugated with alkaline phosphatase

RESULTS - Factor XIIIa+ DD were prominent with large cytoplasm and markedly dendritic morphology. They were present in a diffuse manner in the papillary dermis and around vessels. After PTX they became oval with scarce cytoplasm, showed no dendritic extensions, and were only present in some papillary bodies

CONCLUSION - PTX pharmacological action promotes vessel flow enhancement, endothelial cell adhesivity decrease, and mast cells and DD factor XIIIa+ increase. PTX has an inhibitory action on TNF alpha, which could imply in a decrease of DD receptor expression, as CCR7, and maintenance of the tissular stimulus to signalization and migration of precursors, since the etiopathogenic processes would not be affected by the drug

Keywords: Dendritic cells; Pentoxifylline; Psoriasis

\* Trabalho realizado pelo Departamento de Dermatologia/Hospital de Clínicas/Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP - São Paulo (SP), Brasil; Serviço/Disciplina de Dermatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto/FCM/UERJ - Rio de Janeiro (RJ), Brasil; Curso de Pós-Graduação em Dermatologia/Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/FM/UF RJ - Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

<sup>1</sup> Professora adjunta da FCM/UERJ, Rio de Janeiro (RJ), Brasil; Bolsista do CNPq; Pós-doutorado pela Universidade de São Paulo - USP - São Paulo (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Residente de Patologia HC/FMUSP - São Paulo (SP), Brasil.

<sup>3</sup> Doutor em Dermatologia - FM/UF RJ, Bolsista do CNPq; Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

<sup>4</sup> Biólogo - Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP - São Paulo (SP), Brasil

<sup>5</sup> Professora adjunta do Departamento de Patologia - FM/UF RJ, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

<sup>6</sup> Professora adjunta do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP - São Paulo (SP), Brasil.

## INTRODUÇÃO

A psoríase é doença inflamatória crônica, genética, imunomediada que apresenta lesões cutâneas eritemato-escamosas de distribuição variada, alterações ungueais e articulares, e acomete até 3% da população. É mais freqüente na terceira e quarta décadas, com um pico antes dos 30 anos e outro após os 50 anos, mas pode aparecer em qualquer idade e não tem preferência por sexo.<sup>1-4</sup>

Durante muito tempo aceitou-se como causa primária da doença a hiperproliferação ceratinocítica associada à diferenciação epidérmica anormal. Em 1978, as células T e os macrófagos foram identificados como as principais células do infiltrado inflamatório dérmico da psoríase,<sup>5-7</sup> e a partir de 1983, o fenótipo das células T foi identificado, CD4+ e CD8+, assim como o aumento das células das células dendríticas na derme.<sup>6,7</sup>

As células dendríticas (DC) são fundamentais para a imunofisiopatologia das doenças inflamatórias e infecciosas. Fazem parte do sistema imune inato, são apresentadoras de antígenos profissionais, cumprindo papel de vigilância e tolerância imunológicas. São encontradas virtualmente em todos os tecidos. Nos linfonodos, assim como nos órgãos linfóides secundários (baço e placas de Peyer), apresentam antígenos processados via molécula MHC I e II aos linfócitos T-naive, ativando-os e promovendo expansão clonal e diferenciação para linfócitos T efetores.<sup>8</sup>

Os dendrócitos dérmicos são observados na derme normal, podendo haver aumento dessas células em doenças inflamatórias e tumorais, mas não há consenso sobre seu papel nos mecanismos que ocorrem durante os períodos de exacerbação e de acalmia das lesões de psoríase.<sup>9,10</sup> São identificados pela positividade a diferentes marcadores. O FXIIIa, bem caracterizado por Cerio e cols.,<sup>10</sup> mostra-se como um bom marcador. As células FXIIIa+ têm seu número aumentado na derme papilar de lesões de psoríase Morganroth e cols.<sup>11</sup> observaram que as células dendríticas FXIIIa+ correspondem a 24,9% das células proliferativas das placas psoriásicas. Deguchi e cols.<sup>12</sup> relataram aumento significativo das células dendríticas FXIIIa+ na psoríase, mas não nas dermatites espongíóticas nem no líquen plano. Especula-se a semelhança entre elas e as LC (CD1a+ DR+).<sup>9,10</sup>

Os dendrócitos dérmicos vistos à microscopia eletrônica mostram abas membranosas (dendritos citoplasmáticos finos e alongados) que se dispõem ao redor da parede dos vasos. Naqueles localizados logo abaixo da epiderme (dendrócitos subepidérmicos), a aba se apresenta paralela à junção dermoepidérmica. Sua relação com os mastócitos é semelhante à de uma luva e uma bola de baseball. Na derme superficial estão rodeando os nervos não hialinizados.<sup>12</sup>

Os DDs predominam na derme papilar e na adventicial perivascular. O imunofenótipo expressa CD45(marcador HLe1) e CD34(marcador HPCA), além de Fator XIIIa, o que favorece a hipótese de origem nos imunoblastos da medula óssea. Nas lesões psoriásicas, eles expressam citocinas TNF- $\alpha$ , ICAM-1, IFN- $\gamma$  e IL-8.<sup>4</sup> Agem também na hemostasia, cicatrização de feridas e na fagocitose de algumas substâncias como hemossiderina e melanina.<sup>13</sup>

Existem três diferentes populações de células dendríticas FXIIIa positivas: células FXIIIa+/HLA-DR-, na camada mais interna dos vasos; células FXIIIa+/HLA-DR+ em uma segunda camada adjacente à anterior; e células FXIIIa+/HLA-DR+ ao redor de nervos ou distribuídas ao longo dos feixes colágenos. Também podem ser classificadas em três subtipos: CD1a-CD14-, CD1a+CD14- e CD1a-CD14+.<sup>14</sup>

As células dendríticas dérmicas FXIIIa+ podem ser induzidas pelo IFN- $\gamma$  a co-expressar ICAM-I. Na pele inflamada da psoríase, as células FXIIIa+ parecem migrar da derme papilar para a epiderme, juntamente com linfócitos e outras células inflamatórias, provavelmente pela expressão do ICAM-I.<sup>10</sup>

A pentoxifilina é uma metilxantina derivada da teobromina que tem como ação a flexibilidade dos eritrócitos, redução da viscosidade sangüínea, diminuição da concentração de fibrinogênio e ação sobre plaquetas e granulócitos. Inibe vários mecanismos inflamatórios, incluindo a cascata do complemento, a aderência dos neutrófilos, a produção de citocinas e a proliferação de fibroblastos dérmicos, e ainda eleva os níveis de cAMP nas células imunorreguladoras, associada à inibição das fosfodiesterase,<sup>15,16</sup> o que deve contribuir para tratar muitas doenças, entre as quais se inclui a psoríase.<sup>16</sup>

A placa psoriásica tem mecanismos autoperpetuantes. Estudar a possível ação da pentoxifilina nos dendrócitos dérmicos, encontrados em grande número na psoríase, motivou o desenvolvimento desta pesquisa, considerando estudos abertos e duplos-cegos mostrando a eficácia clínica da droga.<sup>16</sup>

## OBJETIVO

Estudar os efeitos da pentoxifilina sobre a proliferação das células dendríticas dérmicas, mediante técnicas de imuno-histoquímica utilizando como modelo lesões cutâneas de psoríase em placas.

## MATERIAL E MÉTODOS

A amostra constou de biópsias de placas de psoríase que fizeram parte da casuística de outros trabalhos de investigação aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa dos Hospitais Universitários Clementino Fraga Filho (UFRJ), Pedro Ernesto (UERJ)

e Hospital das Clínicas (FM-USP). As biópsias foram obtidas pelo mesmo observador com punch número 6 em área não exposta de um grupo de 30 pacientes ambulatoriais de ambos os sexos, com doença em atividade clínica, com confirmação histopatológica e após oito semanas de uso oral de pentoxifilina na dose de 1.200mg por dia. O tamanho amostral foi calculado considerando-se duas variáveis (Ho = 20%, Ha = 80%) com nível de significância 95%. O material foi fixado em formol tamponado a 10% e foi processado segundo as técnicas convencionais.

### **Análise histopatológica**

Cortes histológicos de cinco micrômetros foram corados pela hematoxilina-eosina e avaliados segundo características histopatológicas epidérmicas e dérmicas:

- Psoríase: hiperplasia psoriasiforme, hiper e paraceratose, microabscessos córneos, agranulose, atrofia suprapapilar e pústulas espongiiformes; derme papilar edematosa, com vasos tortuosos e aparentemente aumentados em número e infiltrado inflamatório linfocitário perivascular superficial.

- Dermatite psoriasiforme: hiperplasia psoriasiforme da epideme, com paraceratose, hipo ou agranulose e derme papilar com vasos proeminentes e infiltrado linfocitário discreto. Ausência de microabscessos córneos e de pústulas espongiiformes.

- Dermatite perivascular superficial: acantose epidérmica de leve a moderada, sem hiperplasia psoriasiforme, camada granulosa presente e derme superficial com infiltrado inflamatório linfocitário leve.

### **Demonstração da população de dendrócitos dérmicos fator XIIIa+:**

Cortes histológicos de 4 micrômetros foram obtidos a partir de material processado por técnicas histológicas de rotina e embebido em parafina. Colhidos em lâminas previamente preparadas com solução adesiva de três amino-propyltriethoxy-silane (Sigma Chemical Co., St.Louis, MO/USA, cód. A3648), foram desparafinados em 2 banhos de xilol, a 56°C durante 30 minutos à temperatura ambiente durante 20 minutos, a seguir hidratados em seqüência decrescente de etanol (absoluto, 95 % e 70 %) e água corrente durante cinco minutos, cada.

Para efetuar a exposição antigênica o material foi submerso em solução de ácido cítrico 0,01M, pH 6,0 em água destilada e aquecido em forno de microondas, por dois ciclos de 10 minutos em potência máxima. Após o resfriamento, em temperatura ambiente, o material foi lavado em água corrente durante 10 minutos.

O bloqueio da peroxidase endógena foi feito através de três incubações em água oxigenada 3% por 10

minutos cada, em câmara escura. O material foi novamente lavado em água destilada por 10 minutos e incubado com o anticorpo primário, coelho antiFator XIIIa (Calbiochem-Novabiochem corporation, La Jolla, CA, USA, cód 233502) diluído 1:200 em solução 1% de albumina bovina fração V (SERVA, Heidelberg/Alemanha, cód. 11930) em TBS-HCl (*Tris Buffer Solution* – Ácido Clorídrico), pH 7,4, por uma noite a 4°C.

Após duas lavagens com TBS – HCl, por cinco minutos cada, foi feita a incubação com o polímero de marcação Dako EnVision, Alkaline phosphatase (Dako corporation, Carpinteria, Ca/USA, cód. K4017), para anticorpos de coelho e camundongo, em diluição pronta para uso, durante 30 minutos à temperatura ambiente. A seguir o material foi lavado em TBS-HCl, por cinco minutos, duas vezes.

A revelação dos sítios de reação foi feita com cromógeno *New Fuchsin Substrate* (Biogenex, San Ramon, CA/USA, cód. HK183-5K) durante 5-10 minutos. A intensidade de cor foi controlada com microscópio óptico, por intermédio de controles positivos.

Os cortes histológicos foram, a seguir, lavados em água corrente por 10 minutos e contracorados com hematoxilina de Harris por um minuto. Após lavagem foram desidratados em cadeia ascendente de etanol, diafanizados por xilol e montados com lâmina de vidro e resina Permount (FISHER Scientific, Fair Lawn, NJ/USA, cód. SP15-100).

Cortes histológicos de dermatofibroma foram utilizados como controles positivos; o negativo foi obtido pela omissão do anticorpo primário.

### **Quantificação de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+**

De cada um dos casos, antes e após o tratamento, foram tomadas imagens digitais de campos seqüenciais de cada um dos níveis da derme: superficial (subepidérmica), média e profunda com objetiva de 20x e ocular de 10x. Para a digitalização das imagens utilizou-se a câmera digital Pixera (Pixera corporation/USA) montada em microscópio óptico Nikon, modelo Eclipse 400. Nesse aumento, a área obtida, de cada imagem, correspondia a 0,54mm<sup>2</sup> e foi aferida pelo programa de análise de imagem Image – Pro Express, versão 4.0 para Windows 95/98 (Media Cybernetics – The Imaging Experts, MD/USA).

Com o auxílio do mesmo programa de imagem fez-se a quantificação manual do número de dendrócitos de cada uma das imagens obtidas/caso e, para facilitar o reconhecimento, as imagens foram ampliadas com zoom digital. O total de células contadas nas diferentes imagens de cada caso era dividido pelo total de área, obtendo-se a média de células/unidade de área de derme (0,54mm<sup>2</sup>).

### **Análise estatística dos resultados**

Fez-se a comparação da população de DDFXIIIa+ dos casos antes e após o tratamento com a pentoxifilina, pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Utilizou-se o programa de estatística Graph Pad Prism versão 3.00 para Windows (GraphPad software, San Diego, CA). Estabeleceu-se o nível de significância em 95% ( $p \leq 0,05$ ).

## **RESULTADOS**

### **Análise histopatológica**

A análise dos espécimes antes do tratamento revelou 13 casos com quadro histopatológico característicos de psoríase;<sup>13</sup> com quadro de dermatite psoriasiforme e três com quadro histopatológico de dermatite perivascular superficial.

Após o tratamento, oito espécimes apresentaram quadro histopatológico de psoríase,<sup>13</sup> de dermatite psoriasiforme, e oito de dermatite perivascular sem hiperplasia psoriasiforme da epiderme.

### **Demonstração de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+**

Foram considerados 58 valores (29 antes e 29 depois do tratamento), uma vez que três casos foram desprezados por não apresentar tecido suficiente para marcação.

Os dendrócitos dérmicos fator XIIIa+ em ambos os grupos foram facilmente demonstrados pela imunomarcagem citoplasmática, em vermelho fúcsia, pelo cromógeno utilizado. Exibiam citoplasma ora amplo com prolongamento dendríticos evidentes, ora mais alongados, fusiformes ou de citoplasma ovóide. Distribuíam-se principalmente na derme papilar, ao redor dos vasos e, por vezes, lado a lado abaixo da epiderme (Figuras 1 A e B). Em alguns casos formavam arranjos nodulares ao redor de estruturas vasculares da derme papilar (Figuras 1 C e D).

Nos espécimes tomados após o tratamento, eram também numerosos, com predomínio de células fusiformes sobre as dendríticas (Figura 2).

### **Análise comparativa da população de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+ das biópsias antes e após o tratamento com pentoxifilina**

A quantificação da população de dendrócitos dérmicos foi realizada sem que se soubesse o protocolo da biópsia (se de antes ou após o tratamento). Essa quantificação foi realizada por duas vezes, pelo mesmo observador (Quadro 1).

A figura 3 demonstra a distribuição do número de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+ nos dois grupos, nas duas quantificações realizadas.

Fez-se também a análise comparativa de biópsias pareadas (antes e após o tratamento) que exibiam

quadro histopatológico característicos de psoríase antes do tratamento (Figura 4).

## **DISCUSSÃO**

A análise histopatológica da amostra revelou uma tendência à normalização da epiderme nos casos pós-tratamento com pentoxifilina. Oito espécimes, após o tratamento, apresentaram quadro histopatológico de dermatite perivascular, com ausência de hiperplasia psoriasiforme da epiderme, e 13 espécimes apresentaram quadro de dermatite psoriasiforme, sem microabscessos córneos, pústulas espongiiformes e aspecto angiomatoso papilar.

As células Fator XIIIa+, nas amostras antes do tratamento, apresentaram-se com citoplasma amplo e morfologia nitidamente dendrítica. Algumas vezes, os prolongamentos citoplasmáticos eram menos evidentes, de aspecto fusiforme ou ovóide. Após a intervenção com PTX, as células FXIIIa+ fusiformes eram predominantes. Tais aspectos se correlacionaram com a tendência à normalização do aspecto histológico, com diminuição da acantose e dos microabscessos de Munro e/ou pústulas espongiiformes de Kogoj (figuras 1 e 2). Esses achados estão em conformidade com a descrição de Sueki et al.<sup>12</sup> sobre DDs em repouso e ativados.

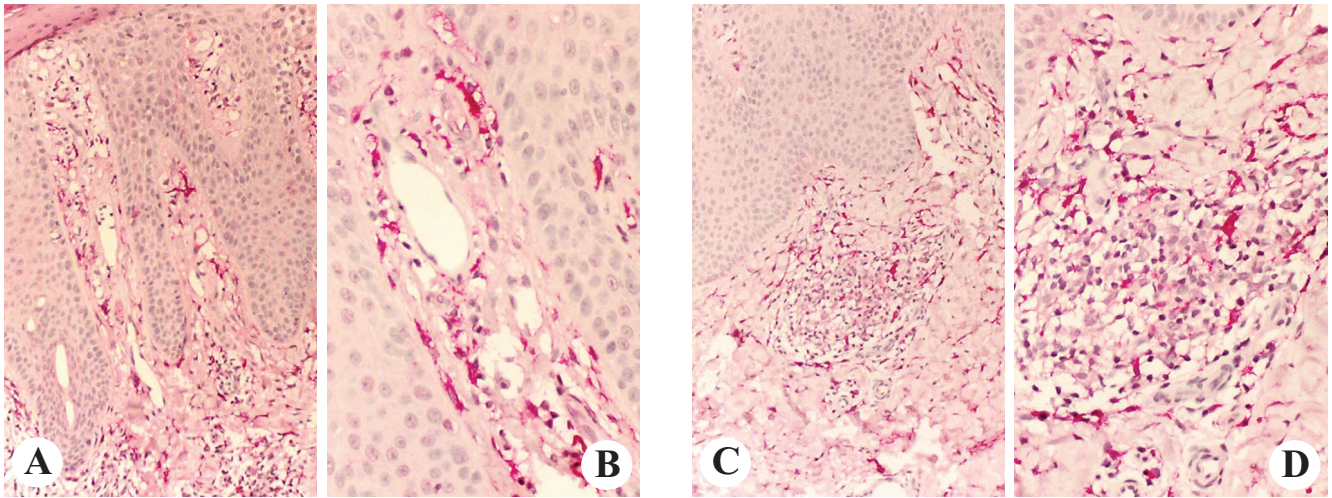
Monteiro e cols.,<sup>17</sup> utilizando GPIb-alfa como marcador, demonstraram que os DDs se transformam de polidendríticos em arredondados, com morfologia histiocitóide quando explantes de pele são mantidos em cultura. Esse fenômeno é facilitado pela degranulação dos mastócitos, o que pode ser relevante para a coexistência de DDs e células com fenótipo histiocítico em algumas doenças.

Após o tratamento de oito semanas com a pentoxifilina, verificou-se aumento estatisticamente significativo na contagem das células dendríticas FXIIIa+ na derme ( $p=0,0035$ ;  $p=0,0064$ , na primeira e na segunda quantificação, respectivamente). A análise das biópsias que exibiam quadro histopatológico característico de psoríase antes do tratamento, pareadas com os espécimes pós-tratamento, confirmaram esses resultados ( $p=0,013$ ) (Figuras 3 e 4) Essa resposta precoce dos dendrócitos dérmicos questiona a ação da pentoxifilina sobre essas células.

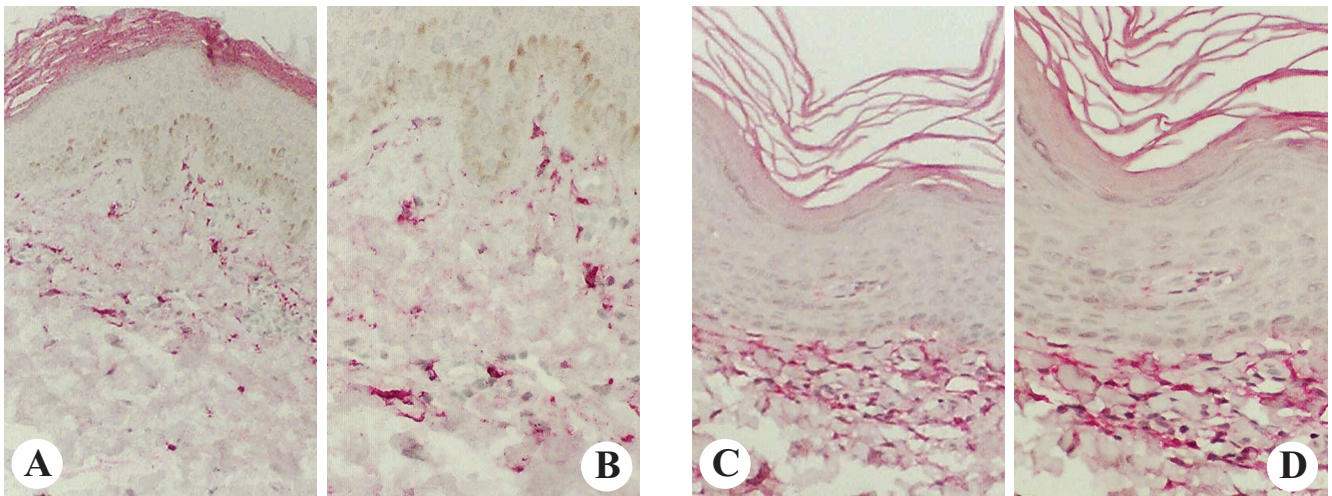
Os dendrócitos dérmicos compõem um grupo heterogêneo com funções distintas, e em algumas situações há correlação inversa entre sua densidade e a das LCs.<sup>18,19</sup> Grande número de DDs pode ser encontrado em processos destrutivos do epitélio<sup>20</sup> – em lesões tumorais ou de grande remodelação, principalmente pela quimiotaxia autócrina (célula Fator XIIIa+) e parácrina (fibroblastos) dos monócitos circulantes que proliferam e se diferenciam localmente.<sup>21</sup>

Os dendrócitos dérmicos FXIIIa+ mostram





**FIGURA 1:** Dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+ em lesão de psoríase antes de tratamento. As células imunomarcadas mostram-se proeminentes com morfologia dendrítica arborescente e presentes na derme papilar (A). Formam linha celular logo abaixo da epiderme (B). Exibem arranjo nodular ao redor de vasos da derme papilar (C e D). Anticorpo policlonal antiFator XIIIa; sistema EnVision e cromógeno new fuchsin. A e C (aumento original X200). C e D (aumento original X400)



**FIGURA 2:** Dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+ em pele de psoríase após tratamento com pentoxifilina (1.200mg/dia por oito semanas). Células imunomarcadas com morfologia dendrítica e fusiforme, distribuídas ao redor dos vasos da derme papilar em biópsia de pele que exhibe epiderme com acantose moderada (A e B). Células imunomarcadas predominantemente fusiformes dispostas paralelamente à junção dermoepidérmica retificada (C e D). Anticorpo policlonal antiFator XIIIa; sistema EnVision e cromógeno new fuchsin. A e C (aumento original X200). C e D (aumento original X400)

íntima relação com os mastócitos e com linfócitos migratórios. Na pele humana normal estão concentrados na derme superior, próximo à epiderme e ao redor dos microvasos superficiais, e em pequena quantidade entre os feixes colágenos da derme reticular. Os dendrócitos humanos são ovalados ou arredondados à ME, com núcleo discretamente indentado e abundante retículo endoplasmático rugoso (RER). Por técnica de reconstituição tridimensional, observa-se que expansões de seu citoplasma estão em relação íntima com os mastócitos.<sup>22</sup> A substância P e outros neuropeptídeos induzem a degranulação dos mastócitos e contribuem para supra-regular a libera-

ção de TNF-alfa. Os DDs Fator XIIIa+ ativados mostram hipertrofia do citoplasma, aumento do RER e do complexo de Golgi.<sup>22,23</sup> A degranulação dos mastócitos e a liberação de substâncias como o TNF-alfa podem ser responsáveis diretos pelas alterações dos DDs.<sup>23</sup> O papel preciso dos DDs Fator XIIIa+ ainda não foi completamente esclarecido. A expressão do Fator XIIIa pelos DDs depende em parte da liberação local de citocinas, entre elas o TNF-alfa liberado na epiderme e na derme, e pela degranulação dos mastócitos.<sup>22</sup> A fagocitose dos grânulos dos mastócitos pelos DDs Fator XIIIa+ pode representar um processo autolimitado com redução da supra-expressão de TNF-alfa.

**QUADRO 1:** Número de dendrócitos dérmicos por unidade de área em biopsias de psoríase antes e após o tratamento com pentoxifilina (1.200mg/dia por oito semanas)

<b>Casos Antes</b>	<b>1ª medida</b>	<b>2ª medida</b>	<b>Casos Depois</b>	<b>1ª medida</b>	<b>2ª medida</b>
103	20,83	7,16	109	32	25,3
105	46,6	33,3	110	32,16	29
82	51,5	62,3	111	9,83	8,5
115	7,3	9	21	39	44,6
46	11,6	10,5	79	37,16	44,6
63	43,3	61	93	50,6	54
16	26,6	31,3	120	56,5	53,5
51	12,6	12,16	65	47	51
15	17	10	80	17,6	23,16
24	10,16	11,16	39	32,16	45,5
6	13,5	15,16	31	14,16	17,83
69	19,3	16,5	49	30,3	31,16
5	11	18,16	70	8,6	10
9	38,6	38	52	66	66,3
107	12,16	13,6	99	97,5	100,6
17	30	30,16	33	37,6	43,83
19	57,5	65,3	26	37	31
37	16,16	19,83	50	31,6	32,83
4	3,83	4,3	90	48,3	50,16
73	8,16	7,6	84	35	29,5
89	47,6	53	121	20,16	21
86	21,83	27,16	41	46,6	59,6
7	30,83	33,16	42	48,8	58,4
112	16,83	19,6	101	35,6	37,83
116	13,8	15,4	67	35,3	33,6
83	41,25	43,75	29	27	30
47	8,6	10,3	119	29,16	32,3
81	31,3	45,16	91	40,5	46
92	36,5	37,5	57	65,16	57

Essas células mostram atividade fagocítica durante e após a divisão, e essa atividade é infra-regulada no estágio migratório.<sup>24</sup> Baixas concentrações de TNF-alfa aumentam a migração dos dendrócitos, enquanto altas concentrações a reduzem.<sup>24</sup>

Griffin e cols.<sup>25</sup> encontraram degranulação de mastócitos e aumento de células Fator XIIIa+ em número e tamanho após tratamento tópico com alfa-hidroxiácidos (AHAs). Esses autores, apesar de não conseguirem explicar o fenômeno, consideraram-no responsável pelos efeitos positivos contra o fotoenvelhecimento (reparação com estimulação de fibroblastos).

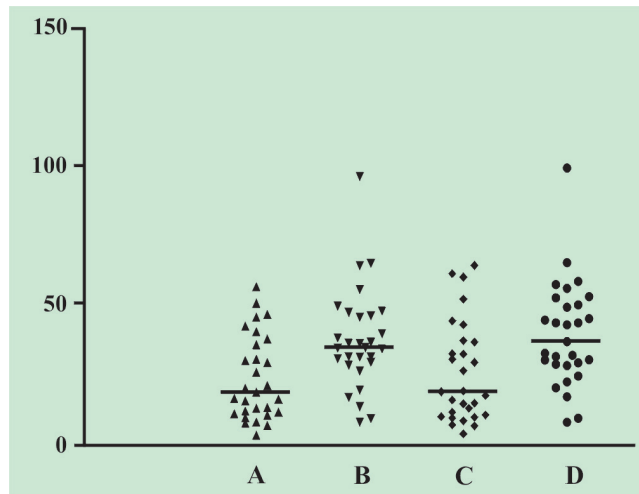
Ortonne e cols.,<sup>26</sup> tratando um paciente com urticária pigmentosa com Puva, observaram diminuição do sinal de Darier e melhora do prurido. O exame histopatológico antes, durante e após a fotoquimioterapia revelou aumento no número de grânulos de mastócitos livres e progressiva diminuição do número dos mastócitos dérmicos. Isso sugere que a puva-

terapia exerce seu efeito benéfico por destruição direta dessas células e estimula sua degranulação. No entanto, a histaminemia avaliada nesse paciente antes e após a irradiação não estava alterada.

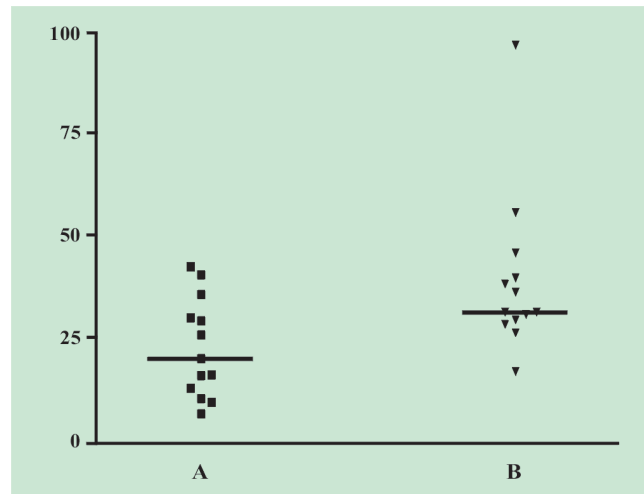
Piérard e cols.<sup>27</sup> quantificaram DD FXIIIa+ em pacientes tratados com psoralenos e luz ultravioleta, encontraram grande aumento no número, tamanho e distribuição tecidual em relação aos controles e consideraram que tais achados refletiam alterações vasculares em resposta à imunomodulação do ultravioleta ou modificações na estrutura do tecido conjuntivo causadas pela irradiação.

Narbut e cols.<sup>28</sup> encontraram aumento de células dendríticas subtipos mielóide e plasmocitóide no sangue periférico após exposição a baixas doses de radiação solar símile (SRR) que poderia refletir o elevado recrutamento de DC na pele como parte da resposta ao UVR. É bem conhecido o fato de que muitas LCs presentes na epiderme migram para os linfonos-

Número de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+/0,54mm<sup>2</sup> de área dérmica em lesões de psoríase.



**FIGURA 3:** Número de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+/0,54mm<sup>2</sup> de área dérmica de lesões de psoríase antes (A e C) e após (B e D) tratamento com pentoxifilina (1.200mg/dia por oito semanas)  
Barra - mediana  
A e B – primeira quantificação; B > A (p = 0,0035)  
C e D – segunda quantificação; D > C (p = 0,0064)  
Teste não paramétrico de Mann-Whitney



**FIGURA 4:** Número de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+/0,54mm<sup>2</sup> de derme em lesões de doentes com psoríase com quadro histopatológico característico antes (A) e suas respectivas biópsias após tratamento (B) com pentoxifilina (1.200mg/dia por oito semanas)  
Barra - mediana; B > A (p = 0,013)  
Teste não paramétrico de Mann-Whitney

dos após a UVR, e, ao mesmo tempo, a mobilização de precursores LC, dos DDs mielóides é observada.<sup>29</sup>

Neste trabalho foi encontrado aumento significativo dos DDs Fator XIIIa+ após oito semanas de uso da PTX. A resposta clínica desses pacientes mostrou que a média da diferença entre o Pasi final e o inicial foi de -4,681, com variação estatística significativa (p=0,001 – teste dos postos sinalizados de Wilcoxon). Quando comparada com a do grupo que usou placebo, a variação não mostrou diferença significativa na variação do Pasi (p=0,71 – teste de Mann-Whitney) (Magalhães e cols., dados não publicados).

Omulecki, em 1996, fez um estudo aberto de 22 pacientes usando pentoxifilina 1.200mg/28 dias e nove usando placebo, e encontrou diferença estatisticamente significativa (p<0.05) a favor da pentoxifilina.<sup>30</sup>

Rigoni & Carneiro<sup>31</sup> publicaram um estudo aberto com pentoxifilina em 22 pacientes com psoríase, dos quais 18 completaram o estudo. O Pasi inicial variou de 8,4 a 38,2, e o final, de 0 a 25. Cerca de 60% (12) dos pacientes tiveram resposta boa e ótima (regressão do Pasi entre 50 e 100%).

Embasados nos resultados ora obtidos, os autores postulam que a resposta clínica não se correlaciona com a ação da PTX sobre os dendrócitos dérmicos. Sua ação farmacológica nos vasos sangüíneos aumenta o fluxo e diminui a adesividade das células no endotélio,<sup>16</sup> podendo aumentar a quantidade de mastócitos e de DDs FXIIIa+, células intimamente relacionadas

com a microvasculatura e que se encontram muito próximas umas das outras nas placas psoríásicas.<sup>32</sup>

A PTX não parece ter ação sobre os mastócitos, aumentando ou diminuindo seu número nem provocando ou impedindo sua degranulação. No entanto, a imunomodulação exercida pela PTX poderia explicar o aumento do número de mastócitos e sua degranulação com subsequente aumento do número de DDs Fator XIIIa+. Haveria, assim, um provável recrutamento intenso de células dendríticas da pele, como ocorre com a exposição à radiação ultravioleta.<sup>28,29</sup> Sabe-se também que substâncias inibidoras dos mediadores dos mastócitos não melhoram a placa psoríásica.<sup>27</sup>

O aumento da população de DDs FXIIIa+ após o tratamento com PTX também poderia ser explicado pela diminuição da migração dessas células da derme para os órgãos linfóides secundários. Como a PTX possui ação inibitória sobre o TNF-alfa, tal efeito poderia implicar a diminuição da capacidade dos DDs Fator XIIIa+ de expressar receptores, como CCR7, que é crucial para a migração e maturação dessas células (expressão de CD80 e CD86) nos linfonodos, como ocorre para as células dendríticas epidérmicas.

Estudos recentes têm demonstrado que a ativação/maturação das células dendríticas ocorre independentemente da expressão do CCR7 e diminuição da expressão do CCR4, indicando duas vias distintas e independentes, mas correlatas, para diferenciação



final. Assim, a ativação do processo de maturação dos dendrócitos dérmicos sem o aumento da expressão do CCR7 – responsável pelo processo de migração – levaria a um estágio intermediário com papel tolerogênico. Parece que a inibição do TNF- $\alpha$  diminui a expressão do CCR7, levando também a um retardo da maturação, ativação, migração e apresentação de antígenos aos linfócitos T-naive nos linfonodos, e efeito tolerogênico. O aumento da população de dendrócitos dérmicos Fator XIIIa+, observado após o tratamento com a PTX, poderia ser explicado, então, pela manutenção do estímulo tecidual para sinalização e migração de precursores de células dendríticas, uma vez que os processos etiopatogênicos não seriam afetados pela droga.<sup>24,33-40</sup>

O questionamento sobre o aumento do número de mastócitos e sua degranulação na placa psoriásica após o tratamento, sem a repercussão clínica de prurido e histaminemia, ainda está para ser respondido. Seriam os mecanismos fisioimunopatogênicos da

degranulação causada pela imunomodulação diferentes daquele que ocorre na reação de hipersensibilidade do tipo I?

## CONCLUSÃO

Os resultados observados poderiam estar relacionados com a fase inicial da ação da droga. Talvez o uso de PTX por tempo maior pudesse bloquear o estímulo tecidual lesivo na psoríase, uma vez que houve tendência de melhora clínica e histopatológica das lesões com o tratamento por oito semanas. □

## AGRADECIMENTOS

Antonia de Mesquita e Elizabeth D'Ávila: histotécnicas do Serviço de Anatomia Patológica do HUCFF/UFRJ; ao CNPq e a FAPERJ, pelo apoio financeiro; à AVENTIS-PHARMA, pelo fornecimento dos comprimidos de pentoxifilina

## REFERÊNCIAS

- Christophers E, Mrowietz U. Epidermis Disorders of Persistent Inflammation, Cell Kinetics and Differentiation. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, editors. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 5 th. New York: Mc Graw Hill; 1999.
- Sampaio SAP, Rivitti EA. Dermatologia. São Paulo: Artes Médicas; 1998.
- Arruda LH, Campbell GAM, Takahashi MD. Psoríase. An Bras Dermatol. 2001;76:141-67.
- Ferrandiz C, Pujo RM, Garcia-Patos V, Bordas X, Smandia JA. Psoriasis of early and late onset: a clinical and epidemiologic study from Spain. J Am Acad Dermatol. 2002; 46: 867-73.
- Krueger JG. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents. J Am Acad Dermatol. 2002;46:1-23
- Krueger GG. Pathogenic interactions of keratinocytes and T lymphocytes in psoriasis. In: Maibach HI, editor. Psoriasis. New York: Marcel Dekker; 1998.
- Krogh HK, Bjerke R. Identification of subpopulation of mononuclear cells in psoriatic lesions. Acta Derm Venereol. 1979;87:21-5.
- Banchereau J, Steinman TM. Dendritic cells and the control of immunity. Nature. 1998;392:245-52.
- Deguchi M, Aiba S, Ohtani H. Comparison of the distribution and numbers of antigen-presenting cells among dermatoses mediated by lymphocytes T: CD1a+, factor XIIIa+, and CD68+ cells in eczematous dermatitis, psoriasis, lichen planus and graft-versus-host disease. Arch Dermatol Res. 2002; 284:297-302.
- Cerio R, Griffiths CEM, Cooper KD. Characterization of factor XIIIa positive dermal dendritic cells in normal and inflamed skin. Br J Dermatol. 1989; 121:421-31.
- Morganroth GS, Chan LS, Weinstein GD. Proliferating Cells in Psoriatic Dermis Are Comprised Primarily of T Cells, Endothelial Cells, and Factor XIIIa+ Perivascular Dendritic Cells. J Invest Dermatol. 1991; 96:333-40.
- Sueki H, Telegan B, Murphy GF. Computer-Assisted Three-Dimensional Reconstruction of Human Dermal Dendrocytes. J Invest Dermatol. 1995; 105:704-8.
- Nickoloff BJ, Griffiths CE. Lymphocyte trafficking in psoriasis: a new perspective emphasizing the dermal dendrocyte with active dermal recruitment mediated via endothelial cells followed by intra-epidermal T-cell activation. J Invest Dermatol. 1990;95:35s-7s.
- Nestle FO, Zheng XG, Thopson CB. Characterization of dermal dendritic cells obtained from normal human skin reveals phenotypic and functionally distinctive subsets. J Immunol. 1993; 151:6535-45.
- Ely H. Pentoxifylline therapy in dermatology. A review of localized hyperviscosity and its effects on the skin. Dermatol Clin. 1988;6:585-608.
- Gilhar A, Grossman N, Kahanovicz S, Reuveni H, Cohen S, Eitan A. Antiproliferative effect of Pentoxifylline on Psoriatic and normal epidermis. In vitro and in vivo studies. Acta Derm Venereol (Stockh). 1996;76:437-41.
- Monteiro MR, Murphy EE, Galaria NA. Cytological alterations in dermal dendrocytes in vitro: evidence for transformation to a non-dendritic phenotype. Br J Dermatol. 2000; 143:84-90.
- Al-Saleh W, Delvenne P, Arrese JE, Nikkels AF, Piérard GE, Boniver J. Inverse modulation of intraepithelial Langerhans' cells and stromal macrophage/dendrocyte



- populations in human papillomavirus-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Virchow Arch.* 1995;427:41-4.
19. Piérard-Franchimont C, Arrese JE, Nikkels AF, Al-Saleh W, Delvenne P, Piérard GE. Factor XIIIa-positive dermal dendrocytes and proliferative activity of cutaneous cancers. *Virchow Arch.* 1996; 429: 43-6.
  20. Hermanns-Lê T, Paquet P, Piérard-Franchimont C, Arrese JE, Piérard GE. Regulatory function of factor XIIIa-positive dendrocytes in incipient toxic epidermal necrolysis and graft-versus-host reaction. *Dermatology.* 1999;198:184-6.
  21. Silverman JS, Tamsen A. Interactive CD34 positive fibroblasts and factor XIIIa-positive histiocytes in cutaneous mesenchymal tumors. *Am J Dermatopathol.* 1998;20:317-20.
  22. Sueki H, Whitaker D, Buchbaum M, Murphy GE. Novel interactions between DDs and mast cells in human skin. Implications for hemostasis and matrix repair. *Lab Invest.* 1993;69:160-72.
  23. Yoo YH, Park BS, Whitaker-Menezes D, Korngold R, Murphy GE. Dermal dendrocytes participate in the cellular pathology of experimental acute graft-versus-host disease. *J Cutan Pathol.* 1998;2:426-34.
  24. Jonuleit H, Knop J, Erik AH. Cytokines and their effects on maturation, differentiation and migration of dendritic cells. *Arch Dermatol Res.* 1996;289:1-8.
  25. Griffin TD, Murphy GE, Suek H. Increase factor XIIIa transglutaminase expression in dermal dendrocytes after treatment with a-hydroxy acids: potential physiologic significance. *J Am Acad Dermatol.* 1996;34:196-203.
  26. Ortonne JP, Forestier JY, Souteyrand P, Thivolet J. Mastocytes cutanés, histaminémie et photochimiothérapie orale. *Ann Dermatol Venereol.* 1980;107:129-34.
  27. Piérard GE, Nikkels A, Arrese Estrda J, Bem Mosbah T, Piérard-Franchimont C. Dermal dendrocytes and photochemotherapy. *Virchows Archiv Pathol Anat.* 1991;418:311-4.
  28. Narbutt J, Skibinska M, Lesiak A, Wozniacka A, Sysa-Jedzejowska A, Cebula B, et al. Exposure to low doses of solar-simulated radiation induces an increase in the myeloid subtype of blood dendritic cells. *Scand J Immunol.* 2004;60:429-35.
  29. Jacob T, Ring J, Udey MC. Multistep navigation of Langerhans dendritic cells in and out of the skin. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108:688-96.
  30. Omulecki A, Broniarczyk-Dyla G, Zak Prelich, M. Is pentoxifylline effective in the treatment of psoriasis? *J Am Acad Dermatol.* 1996; 34: 714-5.
  31. Rigoni ACM, Carneiro SCS. Estudo Aberto com Pentoxifilina em Pacientes com Psoríase. *An Bras Dermatol.* 2001; 76:39-49.
  32. Nakamura M, Toyoda M, Morohashi M. Pruritogenic mediators in psoriasis vulgaris: comparative evaluation of itch-associated cutaneous factors. *Br J Dermatol.* 2003; 149:718-30.
  33. Cuzzy-Maya T, Sidbury R, Epstein W, Fukuyama K. Trombomodulin expression on dermal cells in normal and psoriatic skin. *Arch Dermatol Res.* 1998; 290:233-9.
  34. Boislevé F, Kerdine-Romer S, Rougier-Larzat N, Pallardy M. Nickel and DNCB induce CCR7 expression on human dendritic cells through different signalling pathways: role of TNF-alpha and MAPK. *J Invest Dermatol.* 2004;123:494-502.
  35. Schmuth M, Neyer S, Rainer C, Grassegger A, Fritsch P, Romani N, et al. Expression of the C-C chemokine MIP-3 alpha/CCL20 in human epidermis with impaired permeability barrier function. *Exp Dermatol.* 2002;11:135-42.
  36. Geissmann F, Dieu-Nosjean MC, Dezutter C, Valladeau J, Kayal S, Leborgne M, et al. Accumulation of immature Langerhans cells in human lymph nodes draining chronically inflamed skin. *J Exp Med.* 2002;196:417-30.
  37. Morel Y, Truneh A, Costello RT, Olive D. LIGHT, a new TNF superfamily member, is essential for memory T helper cell-mediated activation of dendritic cells. *Eur J Immunol.* 2003;33:3213-9.
  38. Matsushima H, Yamada N, Matsue H, Shimada S. The effects of endothelin-1 on degranulation, cytokine, and growth factor production by skin-derived mast cells. *Eur J Immunol.* 2004; 34:1910-9.
  39. Banchereau, Pascual V, Palucka AK. Autoimmunity through cytokine-induced dendritic cell activation. *Immunity.* 2004;20:539-50.
  40. Lin H-I, Chu S-J, Wang D, Feng N-H. Pharmacological modulation of TNF production in macrophages. *J Microbiol Immunol Infect.* 2004;37:8.

---

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Sueli Carneiro

Rua Farma de Amoedo, 140 - apt. 601 - Ipanema

22420-020 - Rio de Janeiro - RJ

Tel. (21) 2522-2156 / 2562-2580

E-mail: Sueli@bucff.ufrj.br