

Avanços no entendimento da base genética de doenças hereditárias monogênicas da barreira epidérmica: novas pistas para os principais genes que podem estar envolvidos na patogênese da dermatite atópica.*

*Advances in understanding the genetic basis of inherited single gene skin barrier disorders: new clues to key genes that may be involved in the pathogenesis of atopic dermatitis**

Joey E Lai-Cheong¹

John A. McGrath²

Resumo: O maior conhecimento sobre as de sequências genômicas de DNA e as bases de dados genéticas levou à caracterização da base molecular de várias doenças hereditárias de pele. Nesta revisão resumimos algumas das descobertas recentes mais importantes quanto à definição das mutações patogênicas que causam as doenças hereditárias da barreira cutânea, levando a descamação ou aumento da perda hídrica transepidérmica, seja em doenças raras, (síndrome de Netherton ou ictiose em Arlequim) ou genodermatoses mais comuns (ictiose vulgar). Estas descobertas moleculares têm conduzido a diagnósticos mais acurados, melhor aconselhamento genético e, quando apropriado, à possibilidade de diagnóstico pré-natal baseado em DNA, assim como desenvolvimento de novas formas de tratamento, incluindo terapia gênica ou proteica. A identificação da base molecular destas doenças, especialmente ictiose vulgar, também propiciou importante entendimento das anormalidades genéticas de doença comum, a dermatite atópica. Assim, as pesquisas em doenças hereditárias monogênicas de pele relativamente raras não apenas trazem benefícios para os pacientes e famílias, mas também têm o potencial de trazer informações novas e significativas sobre doenças de pele muito comuns.

Palavras chave: Eczema; Epiderme; Ictiose; Mutação

Abstract: Increasing knowledge of genomic DNA sequences and genetic databases has led to the characterization of the molecular basis of several inherited skin disorders. In this review we summarize some of the major recent discoveries that have been made in defining the pathogenic mutations that cause inherited disorders of the skin barrier leading to skin scaling or increased transepidermal water loss in either rare disorders (Netherton's syndrome or harlequin ichthyosis) or more common genodermatoses (ichthyosis vulgaris). These molecular breakthroughs have led to more accurate diagnoses, better genetic counselling and, where appropriate, the feasibility of DNA-based prenatal diagnosis, as well as the possibility of developing newer forms of treatment, including gene or protein therapy. Identifying the molecular basis of these conditions, especially ichthyosis vulgaris, has also provided dramatic new insight into the genetic abnormalities in the common disorder, atopic dermatitis. Thus research on the relatively rare single gene inherited skin disorders not only has benefits for patients and their families with these uncommon conditions but also has the potential to yield fresh and significant new information about very common skin diseases.

Key words: Eczema; Epidermis; Ichthyosis; Mutation

* Trabalho realizado em St John's Institute of Dermatology, Division of Genetics and Molecular Medicine, The Guy's, King's and St Thomas' Hospitals Medical School, King's College London, UK

Conflito de interesses não declarado

¹ Grupo de Doenças Cutâneas Genéticas, St John's Institute of Dermatology, Divisão de Genética e Medicina Molecular, The Guy's, King's and St Thomas' Hospitals Medical School, King's College London, Reino Unido

² Grupo de Doenças Cutâneas Genéticas, St John's Institute of Dermatology, Divisão de Genética e Medicina Molecular, The Guy's, King's and St Thomas' Hospitals Medical School, King's College London, Reino Unido

INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas a base molecular de mais de duas mil doenças hereditárias monogênicas foi determinada. Mais de 25% destas têm um fenótipo cutâneo, tornando as doenças hereditárias de pele um dos grupos de doenças genéticas mais bem caracterizados. Para os clínicos, o acúmulo de dados moleculares traz muitos benefícios para os pacientes, pois os laboratórios de sequenciamento de DNA podem identificar mutações patogênicas em um determinado gene e permitem diagnósticos mais acurados.

Além disso, a natureza das mutações pode dar informações adicionais sobre padrões hereditários, assim como o provável curso clínico e prognóstico, melhorando o aconselhamento genético de modo geral. Em segundo lugar, o conhecimento da mutação genética específica na família torna possível fazer diagnósticos pré-natais baseados no DNA em gestações de risco subsequentes. Hoje é possível o diagnóstico durante o primeiro trimestre gestacional de uma variedade de genodermatoses graves através do exame do DNA fetal colhido por biópsia de vilosidade coriônica. E, em alguns países, os diagnósticos genéticos pré-implantação já são uma opção viável. Finalmente, um dos principais objetivos da pesquisa molecular em genodermatoses é desenvolver novos tratamentos que beneficiem os pacientes. Terapia gênica é uma ciência que está na primeira infância: há várias questões técnicas, práticas e de segurança que devem ser desenvolvidas e otimizadas; portanto, nos próximos anos, deve-se observar mais estudos-piloto sobre terapia gênica em humanos do que aplicações clínicas disseminadas de tais tratamentos. Em essência, os grandes e recentes avanços nas genodermatoses fazem parte do excesso de novas informações disponíveis, do acesso rápido a bases de dados abrangentes na internet e dos aprimoramentos tecnológicos para identificar doenças genéticas e detectar mutações. Clinicamente, neste momento, os resultados para pacientes afligidos por essas genodermatoses são menos impactantes: melhor diagnóstico e aconselhamento, mais opções para diagnósticos pré-natais e a perspectiva (mas não ainda realidade) de novas terapias moleculares que estão por vir. No entanto, pesquisa em genodermatoses também têm o potencial de dar novo entendimento à patogênese e fisiopatologia de doenças de pele, que são vistas com mais frequência na prática dermatológica. Nesta revisão enfocamos as descobertas genéticas recentes que permeiam certas formas de ictiose ou problemas na formação da barreira epidérmica. Os dados emergentes trazem benefícios imediatos mas limitados para pacientes e familiares com essas doenças raras, mas contribuem com novos entendimentos fantásticos sobre a patologia molecular de uma doença de pele muito mais comum - a dermatite atópica (DA).

Síndrome de Netherton

A Síndrome de Netherton (SN) (Figura 1A) é uma genodermatose rara, autossômica recessiva, associada a eritrodermia ictiosiforme congênita, anormalidades da haste do pêlo (por exemplo, tricorrexe invaginada) e uma tendência atópica associada a altos níveis de IgE circulante¹. Espera-se, portanto, que a identificação do gene para SN, dê pistas para a base molecular da DA. Em 2000, o gene para SN foi mapeado

no cromossomo 5q32 e identificado como SPINK5, que codifica o inibidor da serino-protease LEKTI (*lympho-epithelial Kazal-type related inhibitor*) [inibidor linfo-epitelial relacionado ao tipo Kazal]². Na SN, as mutações de perda de função no LEKTI levam ao aumento da atividade proteolítica na pele, afetando a descamação e a função de barreira^{3,5}. Em camundongos *spink5-null*, a proteólise anormal causa degradação das proteínas desmossômicas epidérmicas, principalmente da desmogleína¹ e da desmocolina¹, levando a uma perda prematura de desmossomas da camada córnea^{4,5}. Ademais, em camundongos transgênicos que têm uma mutação *nonsense spink5* (semelhante a SN humana), há um processamento aumentado da proteína epidérmica profilagrina, resultando em uma expressão excessiva de filagrina⁶. A filagrina propicia integridade estrutural à camada córnea, mas quando expressa em quantidade excessiva, pode levar a diminuição da coesão celular, possivelmente através de uma distribuição alterada de proteínas desmossômicas^{7,8}. Estas observações indicam claramente um papel importante da filagrina na regulação da função da barreira epidérmica. Por causa da associação de atopia e SN, no entanto, o DNA genômico de pessoas com DA foi examinado para mutações ou polimorfismos em SPINK5. Um polimorfismo missense específico, Glu420>Lys, foi demonstrado em associação a atopia, asma e DA, principalmente quando a herança é materna⁹. No entanto, o risco só é aumentado em quatro vezes e é evidente que alterações sequenciais no SPINK5 não são responsáveis por grandes fatores genéticos relevantes na maioria dos indivíduos com DA; portanto, outras doenças raras terão que ser dissecadas em nível molecular para que esta possível abordagem se prove mais esclarecedora quanto à fisiopatologia de doenças comuns de pele.

Ictiose em arlequim

Outra doença genética rara que pode nos dar pistas quanto aos principais genes para DA é a ictiose em arlequim (IA), uma doença autossômica recessiva (Figura 1B). Esta doença se apresenta ao nascimento por escamas espessas que parecem uma armadura,

envolvendo toda a pele, resultando em alterações na regulação térmica, no equilíbrio hídrico, e na proteção contra infecção. A camada queratinizada espessa também leva à contração da pele em torno dos olhos, causando ectrópio, dos lábios, causando everção, e, no tórax, com conseqüente dificuldade respiratória. As crianças nascidas com IA morrem com frequência nos primeiros dias de vida, mas alguns sobrevivem com cuidados clínicos apropriados e o uso precoce de retinóides.^{8,11} Na IA é evidente que existe uma barreira epidérmica muito anormal, mas é plausível que anormalidades menos comprometedoras no gene responsável por IA possam dar pistas para as disfunções da barreira epidérmica na DA.

Em 2005, a base genética de IA foi resolvida por dois grupos independentes usando tecnologia de chip para polimorfismo de um único nucleotídeo, com mapeamento homozigótico ou abordagem do gene candidato.^{12,13} O gene foi mapeado ao cromossomo 2q35, é conhecido como *ABCA12* e codifica uma proteína transmembrana reguladora envolvida no transporte lipídico. Deleção, truncagem e algumas mutações *missense* resultam numa proteína mal funcionante e causam a IA, enquanto a recolocação do alelo selvagem em queratócitos *null* cultivados leva à recuperação da secreção lipídica lamelar mediada por grânulos.^{12,14} Diferente das mutações altamente agressivas do *ABCA12* que aparecem na IA, é possível que polimorfismos funcionais menos graves possam estar presentes em alguns indivíduos com DA. Tais alterações sequenciais podem comprometer a integridade da barreira epidérmica, aumentar a perda de água pela epiderme e talvez, junto com outros fatores, resultar em dermatite atópica. Até o momento, no entanto, nenhum genótipo *ABCA12* específico foi associado à DA.

Ictiose Vulgar

Diferente da raríssima IA, a ictiose vulgar (IV) (Figura 1C) é o distúrbio de queratinização mais comum, e estima-se que afete uma em cada 250 pessoas.¹⁵ Os aspectos clínicos variam e incluem queratose pilar, escamas finas em braços e pernas e acentuação dos sulcos palmares, mas, em alguns casos, a descamação pode ser extensa e grave. Mais ainda, a co-existência de IV e DA é bem conhecida, e de 50% dos indivíduos com IV apresentam uma tendência a atopia.¹⁶ Assim, a elucidação da base molecular da IV poderá trazer novas idéias sobre a genética da DA. Já foi demonstrada a conexão entre IV, 1q21 e o complexo de diferenciação epidérmica,¹⁷ mas as mutações patogênicas só foram identificadas no gene que codifica a filagrina (FLG) em 2006. Principalmente as mutações homozigóticas e heterozigóticas compostas, incluindo as mutações recor-

rentes R501X e 2282del4, foram identificadas em várias pessoas de uma mesma família com IV. Na realidade, estas duas mutações recorrentes foram encontradas em cerca de 9% da população européia, mostrando, portanto, que as mutações de deleção no FLG são comuns. Além disso, mutações dominantes e semidominantes no FLG foram identificadas para explicar tanto os diferentes graus de expressão do fenótipo da IV quanto o padrão de herança. Algumas mutações que levam a ablação dos produtos processados da filagrina foram identificadas.¹⁵ A filagrina é um componente essencial da camada córnea e é clivada da pró-filagrina, causando agregação do citoesqueleto queratinoso durante a diferenciação terminal da camada granular da epiderme. A filagrina é então reticulada (*cross-linked*) por transglutaminases para a formação do envelope da célula cornificada. Na ausência de filagrina, a barreira epidérmica deixa de funcionar normalmente, aumentando a perda hídrica transepidérmica e levando a ictiose.

Dermatite Atópica

Dermatite atópica (Figura 1D) é um problema de pele comum, com complexa etiologia em que é importante a interação entre fatores genéticos e ambientais. O achado de mutações comuns no FLG em uma proporção significativa da população européia levou os investigadores a avaliar a prevalência de patologia da filagrina na DA. Para as mutações R501X e 2282del4, a frequência de combinação de alelos na DA é 0,330 comparada com 0,042 na população não atópica, portanto demonstrando como são realmente comuns estas mutações.¹⁶ Estas descobertas não ocorreram até 2006 principalmente devido a dificuldades técnicas vividas por muitos pesquisadores na amplificação do gene *FLG* (muitas repetições homólogas com pouca diferença de sequenciamento). Como o sequenciamento de DNA se tornou possível, o achado frequente das mutações no *FLG* na DA foi realmente uma descoberta incrível. É claro, a perda da expressão da filagrina não dá uma explicação completa para as bases genéticas da DA em todos os pacientes. É provável que a DA seja de fato uma doença heterogênea, onde algumas pessoas têm um defeito primário da barreira epidérmica graças à mutação do gene *FLG*, enquanto outras apresentam anormalidades imunológicas primárias ou suscetibilidades primárias alternantes a infecção ou inflamação ou, mais provavelmente, uma combinação de vários fatores genéticos que influenciam estas respostas cutâneas. É interessante que as mutações *FLG* também sejam um fator predisponente para asma, mas somente quando associadas à DA e não à asma clínica como uma entidade isolada.^{16A} descoberta da base molecular da SN, com evidência de



FIGURA 1: DOENÇAS GENÉTICAS DA BARREIRA EPIDÉRMICA. A: UM LACTENTE COM SÍNDROME DE NETHERTON, COM AS CARACTERÍSTICAS TÍPICAS DE ERITRODERMIA ICTIOSIFORME E DESCAMAÇÃO DIFUSA NA FACE E NO PESCOÇO; B: CARACTERÍSTICAS CLÁSSICAS DA ICTIOSE EM ARLEQUIM: PELE QUEBRADIÇA, COM ASPECTO DE ARMADURA, COM EVERSÃO E ECTRÓPIO; C: DESCAMAÇÃO SUPERFICIAL FINA EM MEMBRO SUPERIOR DE PACIENTE COM ICTIOSE VULGAR; D: ERITEMA COM ESCORIAÇÕES TÍPICAS EM ÁREAS DE FLEXÃO, NA FOSSA ANTECUBITAL DE PACIENTE COM DERMATITE ATÓPICA.

mutações com perda de função no gene *SPINK5* que codifica *LEKTI*, trouxe à luz o papel talvez pouco reconhecido das proteases na fisiopatologia da inflamação da pele associada com altos níveis de IgE. Em relação a DA, foi demonstrado que *LEKTI* inibe a produção de duas proteinases, *hK5* e principalmente *hK7*, encontradas em níveis elevados na DA.¹⁴ Inibição da *hK7* e restauração da atividade da *LEKTI* podem, portanto, ser terapêuticas futuras potenciais para melhorar a conduta em DA. A elucidação do defeito

genético na IA, ou seja, o gene *ABCA12*, foi fundamental para nosso entendimento da função da barreira epidérmica. Embora a tendência a atopia não seja parte da IA, sabe-se que a proteína *ABCA12* transporta glucosilceramida, um componente importante da barreira lipídica da camada córnea.¹² Assim, a reposição deste componente lipídico na forma de preparado tópico pode ser utilizado como tratamento não apenas da IA, mas talvez como agente suplementar para outros problemas de pele seca mais fre-

quentes, como DA. A demonstração da mutação *FLG* na DA, no entanto, talvez seja a chave mais promissora de novos tratamentos, por exemplo com drogas que influenciem o controle pós-transcricional de expressão de genes ou outras estratégias que restaurem a expressão da proteína filagrina na pele, assim restabelecendo a integridade da barreira cutânea. É bastante provável que terapias que restaurem a expressão da proteína filagrina na pele apareçam dentro de poucos anos e tragam um grande benefício para uma proporção significativa de pessoas com DA.

CONCLUSÕES

A caracterização molecular de doenças de pele hereditárias monogênicas, tais como IA, SN e IV é importante não apenas para pacientes e seus familiares, mas também para nosso entendimento da fisiologia e patologia da epiderme. Isto tem implicações diretas para problemas mais comuns de disfunção epidérmica, como a DA. No futuro, espera-se que a análise sistemática dos papéis de várias proteínas envolvidas, como LEKTI, glucosilceramida e principalmente filagrina, na manutenção da integridade epidérmica, contribua para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e assim represente um benefício direto da pesquisa sobre tradução em genodermatoses raras para o tratamento de problemas de pele muito comuns encontrados por dermatologistas em sua prática diária. ✍

REFERÊNCIAS

1. Netherton EW. A unique case of trichorrhhexis nodosa; bamboo hairs. *AMA Arch Derm.* 1958;78:483-7.
2. Chavanas S, Garner C, Bodemer C, Ali M, Teillac DH, Wilkinson J, et al. Localization of the Netherton syndrome gene to chromosome 5q32, by linkage analysis and homozygosity mapping. *Am J Hum Genet.* 2000;66:914-21.
3. Sprecher E, Chavanas S, DiGiovanna JJ, Amin S, Nielsen K, Prendiville JS, et al. The spectrum of pathogenic mutations in *SPINK5* in 19 families with Netherton syndrome: implications for mutation detection and first case of prenatal diagnosis. *J Invest Dermatol.* 2001;117:179-87.
4. Descargues P, Deraison C, Bonnart C, Kreft M, Kishibe M, Ishida-Yamamoto A, et al. *Spink5*-deficient mice mimic Netherton syndrome through degradation of desmoglein 1 by epidermal protease hyperactivity. *Nat Genet.* 2005;37:56-65.
5. Descargues P, Deraison C, Prost C, Fraïtag S, Mazereeuw-Hautier J, D'Alessio M, et al. Corneodesmosomal cadherins are preferential targets of stratum corneum trypsin- and chymotrypsin-like hyperactivity in Netherton syndrome. *J Invest Dermatol.* 2006;126:1622-32.
6. Hewett DR, Simons AL, Mangan NE, Jolin HE, Green SM, Fallon PG, et al. Lethal, neonatal ichthyosis with increased proteolytic processing of filaggrin in a mouse model of Netherton syndrome. *Hum Mol Genet.* 2005;14:335-46.
7. Presland RB, Kuechle MK, Lewis SP, Fleckman P, Dale BA. Regulated expression of human filaggrin in keratinocytes results in cytoskeletal disruption, loss of cell-cell adhesion, and cell cycle arrest. *Exp Cell Res.* 2001;270:199-213.
8. Lawlor F, Peiris S. Harlequin fetus successfully treated with etretinate. *Br J Dermatol.* 1985;112:585-90.
9. Walley AJ, Chavanas S, Moffatt MF, Esnouf RM, Ubhi B, Lawrence R, et al. Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease. *Nat Genet.* 2001;29:175-8.
10. Hovnanian A. Harlequin ichthyosis unmasked: a defect of lipid transport. *J Clin Invest.* 2005;115:1708-10.
11. Lawlor F, Peiris S. Progress of a harlequin fetus treated with etretinate. *J R Soc Med.* 1985;78(Suppl 11):S1920.
12. Akiyama M, Sugiyama-Nakagiri Y, Sakai K, McMillan JR,