

**PAULA MORENO**

**TITULAÇÃO DA IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA NO PÊNFIGO VULGAR:  
CORRELAÇÃO COM A EVOLUÇÃO CLÍNICA DURANTE CORTICOTERAPIA.**

**Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação  
da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa  
de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina.**

**São Paulo 2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**PAULA MORENO**

**TITULAÇÃO DA IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA NO PÊNFIGO VULGAR:  
CORRELAÇÃO COM A EVOLUÇÃO CLÍNICA DURANTE CORTICOTERAPIA.**

**Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa  
Casa de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina.**

**Área de concentração: Otorrinolaringologia**

**Orientador: Prof. Dr. Ivo Bussoloti Filho**

**São Paulo 2006**

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

**Preparada pela Biblioteca Central da  
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**

Moreno, Paula

Titulação da imunofluorescência indireta no pênfigo vulgar:  
correlação com a evolução clínica durante a corticoterapia./  
Paula Moreno. São Paulo, 2006.

Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa  
de São Paulo – Curso de pós-graduação em Medicina.

Área de Concentração: Otorrinolaringologia

Orientador: Ivo Bussoloti Filho

1. Pênfigo 2. Técnica indireta de imunofluorescência para anticorpos

BC-FCMSCSP/19-2006

Dedico este trabalho:

- Ao meu pai Jesus, meu grande parceiro, amigo e incentivador.
- À minha mãe Aparecida, por torcer sempre pela minha felicidade.
- Aos meus filhos Paulo e Pedro, por serem a razão do meu viver, presentes de Deus.
- Às minhas filhas Patrícia e Priscila, por terem sido geradas no meu coração, presentes de Deus.
- Aos meus irmãos Andréa e Silvio, por serem meus eternos companheiros e amigos.
- Aos meus amigos Rosemary e Alexandre, irmãos por opção.
- À Teka, minha tia única.
- Ao Calil, por ter acreditado no meu trabalho, início de tudo.
- À Jaqueline, por sua dedicação integral.
- À Rachel, não somente aluna, mas grande amiga.
- Aos meus alunos, por serem o motivo da minha busca por mais conhecimento.
- Ao meu orientador, grande mestre e amigo, Professor Ivo, por ter sido essencial ao desenvolvimento e conclusão do meu trabalho.
- À Clínica Professor José Kós, meu berço.
- À Pró-Otorrino, minha casa.

*A vida se concretiza nos sonhos, me ensinou a nunca desistir.*

*Paula Moreno*

Agradeço:

- À Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.
- À Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.
- À secretaria da Pós-Graduação, Sônia Regina Alves, por seu constante apoio.
- Aos médicos otorrinolaringologistas da Santa Casa de São Paulo.
- Ao CNPq pelo apoio financeiro.
- À CAPES pelo apoio financeiro.

## ABREVIATURAS

ACs – Anticorpos

C – Complemento

Dsg – Desmogleína

HLA – Antígeno Leucocitário Humano

IL – Interleucina

IF – Imunofluorescência

IFD – Imunofluorescência Direta

IFI – Imunofluorescência Indireta

Ig – Imunoglobulina

Kda – quilodalton

MHC – Complexo de Histocompatibilidade Principal

PF – Pênfigo Foliáceo

PH – Pênfigo Herpetiforme

PPN – Pênfigo Paraneoplásico

PV – Pênfigo Vulgar

µm – Micrômetro

## SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	1
1.1- CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.2- EVOLUÇÃO NO DIAGNÓSTICO DO PÊNFIGO VULGAR.....	15
1.3- TÉCNICA DA IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA.....	18
1.4- REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2- OBJETIVO.....	33
3- CASUÍSTICA E MÉTODO.....	33
4- RESULTADOS.....	35
5- DISCUSSÃO.....	39
6- CONCLUSÕES.....	46
7- ANEXOS.....	47
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
FONTES CONSULTADAS.....	60
RESUMO.....	61
ABSTRACT.....	61
APÊNDICE.....	63

## 1- INTRODUÇÃO

### 1.1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

O termo pênfigo deriva da palavra grega “pompho”, que significa bolha, e por esta razão, na antigüidade, muitas afecções bolhosas foram denominadas de pênfigo (Grinspan, 1973). Os pênfigos dividem-se em: pênfigo vulgar (PV) mucosa dominante, pênfigo vulgar cutâneo-mucoso, pênfigo foliáceo (PF), pênfigo herpetiforme (PH), pênfigo paraneoplásico (PPN) e pênfigo mediado por Ig (imunoglobulina) A (Amagai, 1999).

O objeto deste estudo é o PV, que representa a forma mais freqüentemente encontrada no grupo dos pênfigos (Regeze, Scrubba, 1999).

O PV é uma bulose, doença dermatológica que afeta pele e mucosas com formação de bolhas intraepidérmicas. No passado, seu prognóstico era ruim. Lever, em 1965, revelou que 30 dos 33 pacientes estudados entre 1937 e 1949, não sobreviveram mais do que cinco anos (Lever, 1965). Após 1950, com advento da corticoterapia, o prognóstico da doença modificou-se bastante aumentando a sobrevida dos pacientes (Stanley – A, 1999; Sampaio, Rivitti, 1998).

A incidência exata da doença depende muito da população estudada (Stanley – B, 1999). Na população em geral, a incidência estimada é de 0.1 a 0.5 por 100.000 pessoas diagnosticadas por ano (Becker, Gaspari, 1993). Já, estudo epidemiológico feito em judeus de Jerusalém, revelou uma incidência anual de 1,6 por 100.000 indivíduos. Em Connecticut, a incidência foi de 0,42 por 100.000 e na Finlândia, onde existem poucos judeus e pessoas do Mediterrâneo, a incidência é muito menor, 0,76 por milhão (Pisant, 1974; Simon, 1980; Hietanen, Salo, 1982). Logo, a raça judia e os descendentes dos povos do Mediterrâneo são mais susceptíveis à doença (Stanley – B, 1999).

A população predominantemente atingida está na faixa dos cinquenta e sessenta anos, embora possa acometer também crianças e recém-natos (Azulay, 1997; Chowdhury, Natarajan, 1998; Parlowski et al, 2003).

A doença raramente evolui para a cura, remissões e exacerbações são freqüentes, pois é uma doença cíclica (Neville, 1995).

O PV pode estar associado a outras doenças auto-imunes como miastenia gravis, lúpus eritematoso, artrite reumatóide, síndrome de Sjögren, dentre outras (Azulay, 1997; Regeze, Scrubba, 1999). A associação entre pênfigo e malignidade já foi bem documentada (Krain, Bierman, 1974).

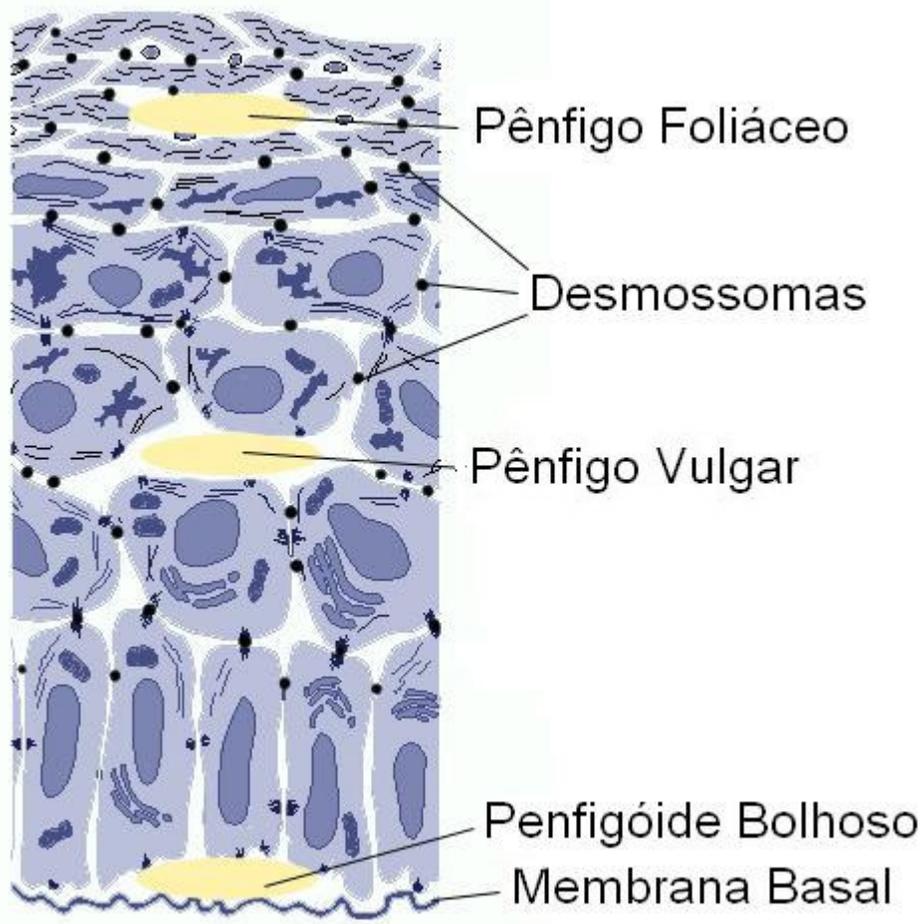
Diversas teorias já foram relatadas como hipóteses para o desenvolvimento do PV, porém, a mais aceita é de que seja uma doença imuno-mediada, ou seja, existe presença de anticorpos (acs) intercelulares no epitélio da pele e mucosas e também circulantes no sangue do paciente (Grinspan, 1973; Shafer, 1987). A doença pode ocorrer em indivíduos susceptíveis geneticamente quando, por indução de algum fator externo, há aumento suficiente do nível de acs para desencadear lesões bolhosas (Ahmed, 1983). Os fatores indutores externos compreendem cirurgias, infecções, reação a drogas, queimaduras, viroses e radiação ultra-violeta (Grispan, 1973).

As doenças de pele e mucosa imuno-mediadas são divididas em duas categorias principais, na dependência de onde as bolhas se localizam. As intra-epidérmicas ocorrem nos pênfigos e as sub-epidérmicas nos penfigóides (Sampaio, Rivitti, 1998) (Figura 1).

Para que o corpo humano se forme e para que seus tecidos mantenham-se íntegros, as células necessitam permanecer unidas umas às outras (Amagai, 2003). Uma das mais importantes estruturas de adesividade celular no epitélio é o desmossoma (Kowalczyk et al, 1999). Esta molécula varia de 0,1 a 0,5 micrômetro ( $\mu\text{m}$ ) e é a maior junção intercelular

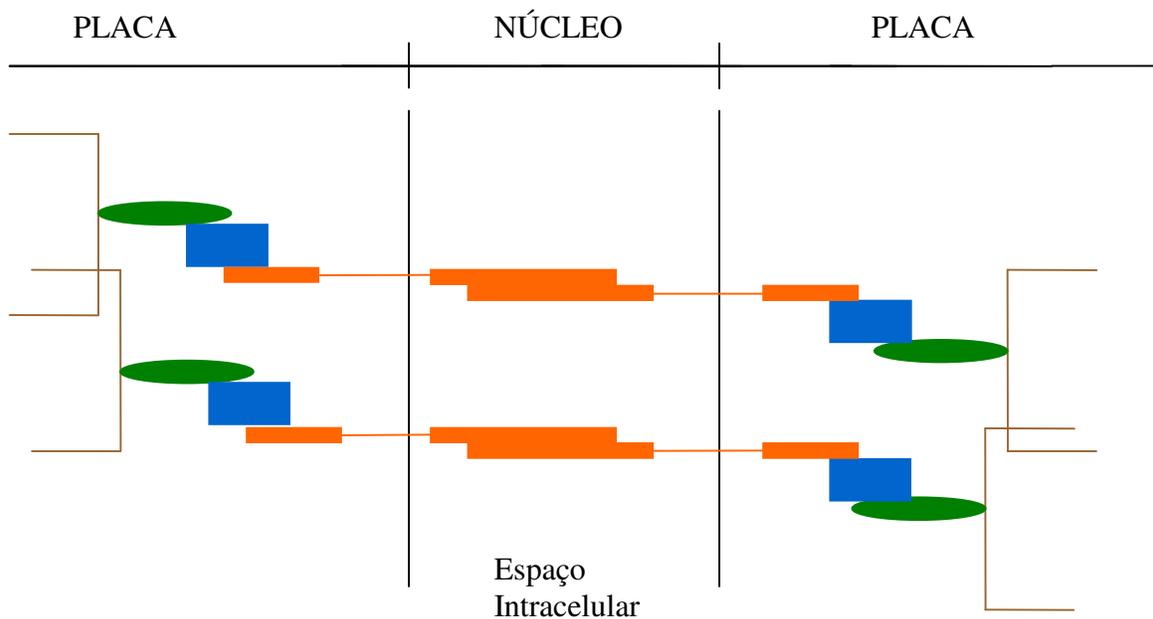
encontrada em tecidos que sofrem “stress” mecânico (Amagai, 2003) (Figura 2). Os desmossomas, que ancoram as células queratínicas umas às outras e à membrana basal subjacente, possuem papel importante na manutenção da integridade tecidual e provavelmente possuem a função de aumentar a resistência a traumas (Nousari, Anhalt, 1999; Kowalczyk et al, 1999). Os componentes dos desmossomas são a placoglobina, a desmoplaquina e a desmogleína (Dsg). Existem três subclasses de Dsgs: Dsg1, Dsg2 e Dsg3. A Dsg2 está expressa em todos os tecidos que possuem desmossomas, incluindo o epitélio simples e miocárdio, enquanto as Dsg1 e Dsg3 estão restritas ao epitélio escamoso estratificado, onde são formadas as bolhas nos pacientes com pênfigos (Amagai, 1999). As Dsgs são os alvos dos autoanticorpos no PV (Figura 1 e Figura 2).

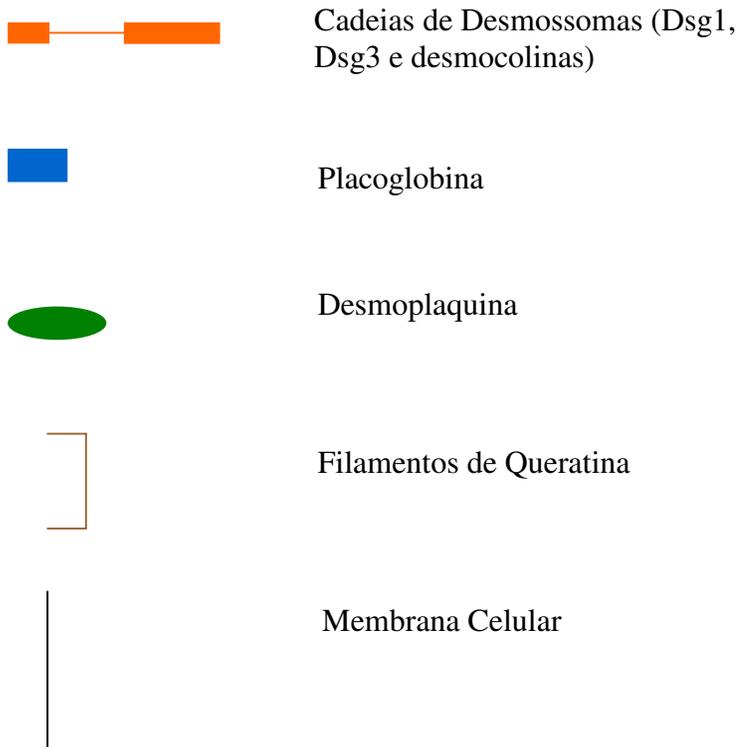
Figura 1. Esquema de tecido escamoso estratificado, evidenciando desmossomas.



Modificado de Erupções Vésico-bolhosas. In: Sampaio & Rivitti. Dermatologia, 1998.

Figura 2. Desenho esquemático do desmossoma.





Modificado de Udey, Stanley. Pênfigo: Doenças da autoimunidade antidesmossomas. JAMA Brasil, 2000; 4:2927-32.

Os queratinócitos são as células do epitélio escamoso estratificado. Quando ocorre disjunção destas células, há formação de fendas e este fenômeno se denomina acantólise. Como consequência deste processo surgem bolhas na pele e nas mucosas. Há, inicialmente, ligação dos acs nos espaços intercelulares do epitélio escamoso, progressivo alargamento do espaço intercelular entre os desmossomas, seguindo-se de sua ruptura. As placas de adesão dos desmossomas são observadas na periferia das células e os tonofilamentos retraem-se perinuclearmente. Segue-se edema intercelular e as células livres flutuam no interior da bolha (Azulay, 1997; Grinspan, 1973; Ioannides et al, 1991; Nousari, Anhalt, 1999; Rivitti et al, 1990).

Estas células adquirem forma mais esférica e são denominadas de células de Tzank, caracterizam-se pelo aumento e hipercromasia dos seus núcleos. Nos pênfigos, a fenda acantolítica é sempre suprabasal, ou seja, as células basais permanecem intactas ligadas à lâmina própria e produzem aspecto de fileira de pedras tumulares (Regeze, Scrubba, 1999).

Os determinantes antigênicos que reagem com os acs no PV estão presentes no espaço intercelular do epitélio escamoso de vários mamíferos. O antígeno é detectado na epiderme de fetos em torno de nove semanas e a precocidade de seu aparecimento pode denotar a sua provável importância na adesão intercelular da epiderme (Rivitti,1990).

Os antígenos envolvidos nesta enfermidade são as glicoproteínas Dsg1 e Dsg3 com 160 e 130 KDa respectivamente, fazendo parte das proteínas de adesão cálcio-dependente (Nousari, Anhalt, 1999; Silva et al, 2003). Os pacientes portadores de PV produzem acs anti-Dsg, sendo estes principalmente do tipo IgG, mas também podendo ser encontrados IgA e IgM. O C3 está freqüentemente presente, mesmo em lesões orais recentes. Em menor escala C1q e C4 podem ser demonstrados (Azulay, Azulay, 1997). A produção de acs é policlonal e a maioria das Igs é dos subtipos IgG1 e IgG4, sendo esta última primariamente detectada na fase ativa da doença. Pacientes em fase de remissão, assim como parentes saudáveis dos mesmos e também portadores dos HLA classe II, possuem níveis séricos baixos de IgG4 (Riechers et al, 1999; Harman et al, 2001).

Os autoanticorpos encontrados no soro de pacientes com PV são patogênicos e os níveis destes podem se correlacionar diretamente com a atividade da doença (Amagai et al, 1992; Sams, Jordan,1971). A patogenia destes acs pode ser demonstrada por transferência transplacentária de autoanticorpos de mães com PV para seus bebês (Chowdhury, Natarajan,1998). Também experimentalmente, mostrou-se que a adição de IgG de PV à cultura de pele humana causava acantólise na camada profunda da epiderme e que a transferência passiva de IgG de PV para

camundongos recém-nascidos levava à formação de vesículas intra-epidérmicas semelhantes às encontradas nos enfermos (Schlitz, Micheal, 1976; Anhalt et al, 1982).

Estudos envolvendo camundongos com mutação-alvo introduzida no gene Dsg3 reforçam a idéia de que os acs do pênfigo induzem à formação de bolhas interferindo diretamente com a função adesiva das Dsg (Koch et al, 1997; Udey, Stanley, 2000).

Os soros dos pacientes com PF contêm apenas acs anti-Dsg1 e causam lesões ao interferir com a função da Dsg1, onde não há Dsg3 para compensar, ou seja, na camada superficial da epiderme. Já na fase inicial do PV, quando há apenas produção de acs anti-Dsg3, as fendas se desenvolvem profundamente nas mucosas, onde a Dsg1 não compensará a perda de adesão mediada pela Dsg3. Com a evolução da doença, os soros passam a conter tanto acs anti-Dsg1 quanto anti-Dsg3 e, como a função das duas Dsgs está comprometida, surgem bolhas na pele e mucosas (Udey, Stanley, 2000) (Anexo 1).

Pacientes que desenvolvem lesões limitadas à mucosa têm autoanticorpos exclusivos anti-Dsg3, enquanto os indivíduos que desenvolvem lesões cutâneo-mucosas têm acs anti-Dsg3 e anti-Dsg1. Pacientes com lesões de pele possuem exclusivamente acs anti-Dsg1 e desenvolvem o PF (Amagai,1999; Udey,Stanley, 2000) (Anexo 2).

Estudos foram feitos para correlacionar acs anti-Dsg e achados clínicos nesta enfermidade. Seus objetivos eram comprovar a diferença clínica entre pacientes com PV que possuíam somente IgG anti-Dsg3 e os que possuíam IgG anti-Dsg 1 e 3 associados, e avaliar a existência de correlação entre fenótipo do pênfigo e o papel do ac anti-Dsg. O tipo predominantemente mucoso mostrou lesões principalmente orais com envolvimento cutâneo limitado. As lesões cutâneas não ultrapassavam de cinco ou seis em seu número e não eram maiores que cinco centímetros de diâmetro. O tipo cutâneo-mucoso mostrou envolvimento extenso da pele adicionado ao comprometimento oral. Geralmente, este tipo tende a ser

generalizado, logo, mais severo do que o primeiro, podendo ser fatal, já que uma grande área de pele perde sua barreira protetora causando intensa perda de líquido corporal e/ou infecção secundária (Amagai, 1999). Estudo com autoanticorpos anti-Dsg1 no PV revelou que a sua presença é preditiva de doença de maior gravidade (Harman et al, 2000).

Pode ocorrer desenvolvimento do PV em indivíduo que já seja portador de PF. A mudança do quadro clínico é acompanhada de alterações no perfil dos autoanticorpos. Acs anti-Dsg1 estão presentes no estágio de PF e acs anti-Dsg1 e 3 no estágio de PV (Ishii et al, 2000). Os autoanticorpos anti-Dsg determinam os achados clínicos nos pênfigos (Amagai, 1999).

Como a região onde existe maior expressão de Dsg3 é a cavidade oral, as lesões ocorrem preferencialmente neste local (Jamora et al, 2003). O balanço entre a doença oral e cutânea é determinado principalmente pela quantidade de Dsg3 e Dsg1, respectivamente (Harman et al, 2001).

As Dsgs são antígenos que também estão envolvidos no PH e no PPN (Amagai, 1999) (Tabela 1).

Tabela 1. Tipos de pênfigo e seus antígenos-alvo

Tipos	Ac	Antígenos alvo
1. Pênfigo vulgar (mucosa dominante)	IgG	Dsg3 (130 kDa)
2. Pênfigo vulgar (cutâneo-mucoso)	IgG	Dsg3 e Dsg1 (160 kDa)
3. Pênfigo foliáceo	IgG	Dsg1
4. Pênfigo herpertiforme	IgG	Dsg1 e Dsg3
5. Pênfigo paraneoplásico	IgG	Dsg1 e Dsg3 Plectina (500 kDa) Desmoplaquina I, II (250,210 kDa) BGAG1 (230 kDa) Envoplaquina (190 kDa)

---

Modificado de Autoimmunity against desmosomal cadherins in pemphigus. Amagai, 1999.

Embora seja claro que acs anti-Dsg causem lesões do tipo pênfigo, ainda não há um entendimento completo da disfunção imune que leva à produção destes acs (Udey, Stanley, 2000).

Existe uma predisposição imunogenética bem estabelecida nesta doença (Nousari, Anhalt, 1999).

Os fatores genéticos responsáveis pela susceptibilidade ao PV estão situados na região classe II do sistema HLA (Glorio et al, 1999).

A susceptibilidade genética, associada a alelos HLA-DRB1\*0402 e vários subtipos HLA-DR14, foi descrita em várias populações como: judeus ashkenazi, italianos, japoneses, indianos e sardinianos. O papel exato dos alelos HLA no PV ainda não está totalmente claro, embora uma correlação entre produção de autoanticorpos e a herança HLA em familiares saudáveis tenha sido descrita. Foi também proposto que, certos aminoácidos da molécula DRB1 possam exercer papel crucial na união de alguns auto-peptídeos da Dsg3 (González-Escribano et al, 1998).

A importância em se identificar os alelos que conferem susceptibilidade se dá pelo seu papel na resposta imune e com finalidade de se descobrir novos caminhos imunoterápicos (Glorio et al, 1999).

O MHC é uma região de genes com diferentes alelos, cujos produtos são expressos nas superfícies de várias células e exercem um papel importante nas respostas imunes aos antígenos protéicos. Formam um sistema para apresentar peptídeos antigênicos às células T, as quais investigam, no organismo, a presença de proteínas estranhas. Existem dois tipos diferentes de

produtos do gene do MHC: moléculas da classe I e classe II. As células T reconhecem então, antígenos estranhos ligados à molécula MHC classe I ou à molécula classe II (Abbas et al, 2000).

No PV, como em outras doenças imuno-mediadas, genes selecionados do MHC classe II e/ou seqüências que codificam aminoácidos que representam resíduos de contato no sulco de ligação a peptídeos dos antígenos MHC classe II encontram-se em maior representação (Wucherpfennig et al, 1995).

O sistema imune possui importante propriedade que é a capacidade de identificar e responder aos antígenos estranhos e não reagir aos que considera seu. Quando este sistema não responde a estes antígenos, surge a tolerância imunológica e quando existe necessidade de se manter a resposta e reconhecimento aos antígenos próprios, ocorre a autotolerância (Abbas et al, 2000).

Todos os indivíduos possuem potencial para reagir contra seus próprios antígenos, pois todos herdam genes que tem capacidade de codificar receptores linfocitários que podem reconhecê-los. A auto-imunidade é evitada por um processo de seleção, que impede a maturação de alguns linfócitos específicos de antígenos próprios e por mecanismos que inativam os linfócitos auto-reativos que estão amadurecendo, e esta pode ser consequência de anormalidades primárias das células B, das células T ou ambas (Abbas et al, 2000). A inabilidade de regular ou controlar a reatividade do linfócito T a antígenos próprios podem conduzir e desenvolver as doenças imuno-mediadas (Lin et al, 1997). Os linfócitos T auxiliares (Th) possuem papel de destaque em todas as respostas imunes às proteínas porque são reguladores essenciais (Abbas et al, 2000).

Os linfócitos Th são importantes na patogênese do PV por diferentes razões como:

- Numa resposta autoimune, a produção precoce de interleucina (IL) 4 favorece a ação do Th2, e é acompanhada de IL5 e IL13 que são capazes de modular a ativação das células B produtoras de acs.
- As citocinas do Th2 como IL4 e IL13 favorecem a produção de acs da classe IgE e subclasse IgG4 e, como já dito anteriormente, estes predominam na fase ativa do PV.
- Os autoanticorpos do Th2 regulam a IgE e podem ser detectados no soro do paciente com PV na sua fase ativa (Riechers et al, 1999).

Estudos científicos *in vitro* almejam descobrir como as células T Dsg3 específicas auxiliam as células B na produção de acs (Riechers et al, 1999).

Em pacientes com PV em atividade, são encontrados os autoanticorpos Th2 dependentes e do subtipo IgG4, enquanto na fase de remissão, os autoanticorpos encontrados são Th1 e da subclasse IgG1. Pessoas saudáveis que possuem HLA classe II similares ou idênticos aos encontrados no PV, também desenvolvem respostas de células T autoreativas à Dsg3. Células T de pacientes com PV produzem citocinas Th1 e Th2 e de indivíduos normais produzem Th0. Isto sugere que células T Dsg3 específicas podem produzir alvos que modulam a célula T a passar a produzir os autoanticorpos patogênicos (Hertl, Riechers, 1999).

Como as respostas de anticorpos contra antígenos da proteína são dependentes de células T e, como estas são reguladoras da imunidade, estudos da imunopatogênese do pênfigo têm enfatizado as células T ao invés das células B (Udey, Stanley, 2000).

A presença de células T, com prevalência de Th2, em lesões do PV e a presença de granulócitos e mastócitos, com sinais claros de ativação do processo inflamatório nas lesões, intensificam a imunogenicidade de epítomos subdominantes. A disseminação determinante é evidente nos pacientes com PV nos quais autoanticorpos reativos com a Dsg3 surgem primeiro e

anticorpos anti-Dsg1 se desenvolvem subsequentemente e este fenômeno pode explicar a evolução clínica da doença (Udey, Stanley, 2000; Caproni et al, 2001).

Logo, os fatores-chave para o desenvolvimento do PV incluem: o MHC genes classe II, a estrutura dos antígenos desmogleínicos e o papel do autoanticorpo no dano à adesão celular, além de fatores ambientais e genéticos que induzem a produção de acs contra as Dsg (Anhalt, Diaz, 2001).

As lesões bolhosas podem aparecer na pele do couro cabeludo, tronco e extremidades e também nas mucosas de várias regiões do corpo humano como na glândula, vulva, faringe e esôfago (Grinspan, 1973; Udey, Stanley, 2000). Na otorrinolaringologia, a doença se torna importante, pois a mucosa oral está quase sempre acometida, por ser revestida por epitélio escamoso estratificado, tecido alvo na patogênese da doença. Muitas vezes, é o primeiro sítio de aparecimento da enfermidade (Grinspan, 1973; Azulay, 1997).

Na boca, podem surgir uma ou várias bolhas que se rompem com facilidade formando erosão avermelhada e dolorosa. As regiões mais frequentemente acometidas são a mucosa jugal posterior e gengiva. As lesões orais possuem bordas bem definidas e podem tornar-se evidentes antes do aparecimento das lesões cutâneas (Sampaio, Rivitti, 1998). Embora as bolhas sejam as lesões principais e mais frequentes, já houve relato de caso com lesões orais polipóides múltiplas atingindo a gengiva, lábios, mucosa jugal e língua (Burgan et al, 2003).

Seguem abaixo algumas ilustrações das lesões mucosas e cutâneas dos pacientes estudados.

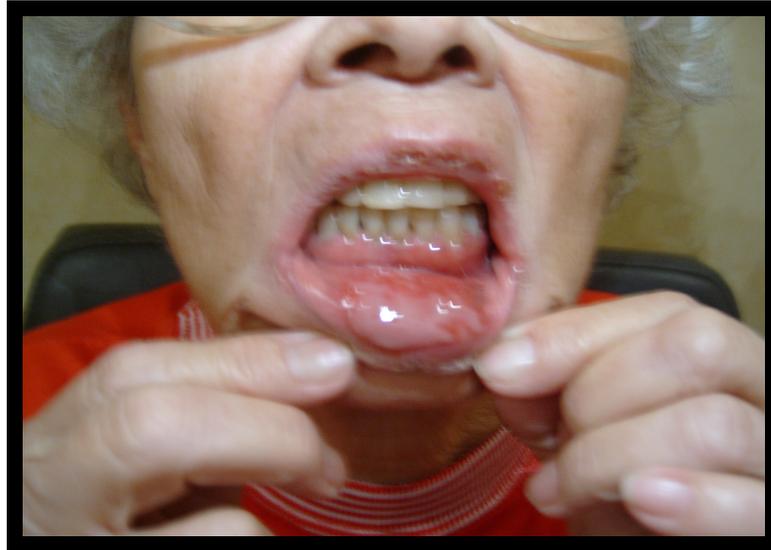


Ilustração 1 – Lesão ulcerada em mucosa labial, comprometimento gengival



Ilustração 2 – Aspecto de mucosa labial após 10 dias de tratamento com prednisona



Ilustração 3 – Lesão ulcerada em mucosa jugal



Ilustração 4 – Lesão cutânea crostosa em cotovelo



Ilustração 5 – Lesão cutânea crostosa em região torácica



Ilustração 6 – Lesão cutânea crostosa em face



Ilustração 7 – Lesão ulcerada em palato duro

Em geral, três parâmetros principais devem ser levados em conta para um diagnóstico específico de PV: (1) os achados clínicos, (2) os achados histológicos e (3) os dados da imunofluorescência direta (IFD) e imunofluorescência indireta (IFI) (Morrison, 2001).

Os testes de imunofluorescência (IF) são de grande valor, permitindo localizar nos tecidos a reação antígeno-anticorpo e os diversos tipos de Igs e frações do complemento envolvidos neste processo. Os métodos de IF usados são dois: direto e indireto (Rivitti et al, 1990). Pela IFI, encontram-se autoanticorpos antiepiteliais circulantes e, pela IFD, os imunossoros se fixam nos espaços intercelulares da epiderme, logo acima da camada basal (Proença et al, 1999). O teste diagnóstico padrão-ouro para o PV é a IFD podendo permanecer positivo por vários anos mesmo após a regressão das lesões. Por muitas vezes, a titulação da IFI é proporcional à severidade da doença, porém como em alguns casos isto não é observado, recomenda-se não guiar a terapia apenas pelos da IFI (David et al, 1989).

## 1.2- EVOLUÇÃO NO DIAGNÓSTICO DO PÊNFIGO VULGAR

Em 1941, Coons et al localizaram pela primeira vez, antígenos utilizando acs fluorescentes.

Em 1943, Civatte, em estudo sobre o diagnóstico histopatológico da dermatite de Duhring-Brocq, separou os pênfigos verdadeiros de outros processos bolhosos. Foi o primeiro autor a descrever que, nos pênfigos, a formação das bolhas ocorreria por acantólise.

Em 1950, Coons e Kaplan introduziram métodos de congelação, filtros ópticos e iluminações especiais para técnica de imunofluorescência (IF).

Em 1954, Weller e Coons descreveram a técnica de IFI, utilizando culturas de vírus expostos a soros humanos antivírus, seguindo exposição a acs ligados a substâncias fluorescentes.

Em 1958, Goldwasser e Shepard utilizaram a IF para detecção de acs fixadores de complemento.

Em 1961, Wilgram et al, através de estudos de microscopia eletrônica, descreveram o dano aos tonofilamentos como sendo os eventos primários que levam à acantólise.

Em 1964, Beutner e Jordon foram os primeiros autores a relatarem a presença de acs anti-moléculas de ancoragem intercelular, acs estes detectados através da IFI, do tipo imunoglobulina (Ig) G. Este estudo relata então, a patogenia da bolha acantolítica e confirma ser o PV uma doença imuno-mediada.

Em 1965, Beutner et al demonstraram a presença de autoanticorpos, através da IFI, no soro de 12 em 16 pacientes estudados. Os mesmos autores demonstraram que os títulos de acs possuíam relação com a presença das lesões de pele, sendo maiores na presença de bolhas extensas e ausentes no período de remissão em uso de corticoterapia.

Em 1965, Braun-Fanco e Vogell descreveram os desmossomas como sendo os sítios principais no desenvolvimento da acantólise.

Em 1966, Waldorf et al, em estudos imunofluorescentes no PV, confirmaram a presença de acs nos espaços intercelulares da epiderme de pacientes com esta doença, em 10 de 17 casos investigados.

Também em 1966, Stringa et al, em estudos de IF em pacientes com pêfígo, encontraram complemento (C) 3 e gamaglobulina IgG na pele destes enfermos.

Em 1967, Cormane e Chorzelski confirmaram a possibilidade de demonstrar, através da IFD e IFI, a presença do C concomitantemente à presença de globulina nas células profundas da epiderme, adjacente às lesões bolhosas em quatro pacientes com PV.

Em 1968, Beutner et al relataram que, além do C ser demonstrado na epiderme, o nível sérico do mesmo encontrava-se diminuído nos pacientes com pêfígo.

Em 1971, Jordon et al demonstraram que a IFD é uma importante ferramenta na detecção de Ig e C no paciente com PV mesmo na ausência de acs circulantes no soro deste paciente.

Em 1979, Park et al demonstraram que a doença possuía uma incidência maior em judeus, embora pudesse ser encontrada em vários grupos raciais e que estaria associada a uma prevalência aumentada do fenótipo antígeno leucocitário humano (HLA) HLA-DRw4, podendo sugerir que fatores genéticos realmente predisõem ao desenvolvimento da doença.

Em 1982, Anhalt et al demonstraram que a transmissão passiva de IgG de pacientes com PV para camundongos recém-natos induzia a doença nos animais e evidenciaram assim, que a imunidade humoral possuiria papel importante na patogênese da doença.

Em 1984, Avalos et al descreveram que a perda da tolerância ao antígeno da superfície da célula epidérmica juntamente com a formação de autoanticorpos iniciam a doença. Revelaram também, que os autoanticorpos são cruciais para o diagnóstico da enfermidade.

Em 1986, Anhalt et al, avaliando o papel do C na patogenia do pêfingo, concluíram que o C e suas frações possuiriam função amplificadora da acantólise, mas que não são necessários para o desenvolvimento da mesma.

Em 1988, Eyre e Stanley identificaram o antígeno alvo no PV, uma glicoproteína de 130 quilodaltons (KDa), a Dsg3.

Em 1994, Gately e Nesbitt, relataram a importância de estudos imunofluorescentes na avaliação laboratorial das buloses imuno-mediadas e referem que estes exames se tornaram procedimentos essenciais para o diagnóstico acurado destas doenças.

Em 1999, Stanley-B avaliou a aparência dos desmossomas em estudos ultraestruturais das bolhas. Apesar de acreditar que estudos de microscopia eletrônica não são fáceis de interpretar, considerando o momento dos eventos, concluiu que, em pelo menos em algum estágio da acantólise, os desmossomas são destruídos.

Em 1999, Amagai et al relataram que a demonstração da presença do autoanticorpo IgG anti-queratinócito de superfície é essencial para se fazer o diagnóstico do PV.

Em 2005, Chow et al demonstraram a importância da ativação das células T para o início e coordenação da resposta humoral nas doenças auto-imunes cutâneas.

Também em 2005, Tron et al revelaram que outros gens além dos já conhecidos do complexo de imunocompatibilidade principal (MHC) podem estar envolvidos na susceptibilidade da doença, como demonstrado em estudo utilizando marcadores microsatélites nas diferentes regiões do MHC.

### 1.3- TÉCNICA DA IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA

A partir de 1964, a IF passou a ter um importante papel no diagnóstico e na investigação da patogênese do PV e de outras dermatoses (Rivitti et al, 1990).

Os autoanticorpos antiepiteliais no soro dos pacientes com PV ativo possuem padrão específico para esta doença, ou seja, para substância intercelular. Estes acs são detectados pela IFI (Jordon et al, 1971).

Os elementos da técnica da IF são anti-soros marcados, corantes fluorescentes e microscópio de fluorescência. Estes anti-soros são complexos formados por proteínas séricas que atuam como acs, aos quais se agregam substâncias fluorescentes, genericamente denominadas fluocromos. Estes anti-soros são obtidos através de animais imunizados ou a partir de seres humanos normais ou acometidos por doenças envolvendo produção de proteínas imunoativas (Rivitti et al, 1990). O fluocromo mais utilizado é o isotiocianato de fluoresceína por ser o olho humano mais sensível a essa radiação luminosa e proporciona uma coloração esverdeada (Rivitti et al, 1990; Kanitakis, 2001).

A técnica mais utilizada para detecção de acs circulantes é a IFI em dois tempos, pois fornece uma boa combinação entre sensibilidade e rapidez (Kanitakis, 2001). Nesta técnica, o soro é incubado em uma diluição inicial de 1:10 com substrato epitelial de 4-5 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) de espessura, por 30-40 minutos. É lavado com solução salina por 10-15 minutos e após este período, o substrato é novamente incubado com soro animal contendo fluocromos preparados contra Ig humana (direcionado para todas as Igs e suas frações). Após uma segunda lavagem com solução salina, os fragmentos devem ser colocados com agentes nucleares para que haja uma melhor identificação das células dentro do substrato. Finalmente, montam-se lâminas e estas são examinadas através de microscópio fluorescente com filtros especiais. A IFI permite a titulação de acs em várias diluições do soro em solução salina e determina a maior diluição com fluorescência visível (Kanitakis, 2001).

O substrato utilizado para detectar os acs circulantes na IFI é de grande importância na sensibilidade do teste. Em geral, o esôfago de porco de guiné é o melhor extrato para se detectar os acs no PF e o esôfago de macaco é mais sensível para acs do PV (Stanley-B, 1999). Este último provavelmente por possuir maior expressão de antígenos Dsg3 (Kanitakis, 2001; Cozzani et al, 1994). Dependendo do substrato, mais de 75% dos pacientes com todos os tipos de pênfigo possuem IgG antiepitélio circulantes. Pacientes com doença inicial ou já na fase de remissão podem apresentar IFI negativa (Stanley-B, 1999).

A IFI é uma técnica sensível para o diagnóstico de PV, uma vez que pode estar positiva em pacientes com doença ativa (Kanitakis, 2001). Além disso, pode possuir fator prognóstico, já que os títulos de acs circulantes mostram correlação com a atividade da doença, mesmo não sendo considerada absoluta. Contudo, os títulos de acs podem ser um índice a mais no seguimento terapêutico dos pacientes (Rivitti et al, 1990). A IFI possui boa especificidade, embora possa ocorrer falsa positividade em soros contendo acs para antígenos da superfície celular. Estes acs semelhantes ao pênfigo são encontrados em pessoas normais ou em pacientes com infecções, queimaduras ou com alguma reação a drogas e são incapazes de fixar o complemento (Krasny et al, 1987).

Diante destes fatos, surgiu a dúvida de como a IFI se comporta nos pacientes deste estudo e sua relação com a atividade, severidade e resposta à corticoterapia.

#### 1.4- REVISÃO DE LITERATURA

Em 1965, Beutner et al, estudando autoanticorpos no PV em 16 pacientes, encontraram em três destes, comprometimento extenso e IFI com titulação de 1:120. No mesmo estudo, quatro de seis pacientes em fase de remissão após uso de corticosteróides, não apresentavam acs

detectáveis. Sugeriram então, que haveria associação da titulação de acs com a atividade da doença.

Em 1966, Chorzelski et al demonstraram que em quatro pacientes com PV sob tratamento, os títulos de acs se reduziram juntamente com a diminuição das lesões e que em 1 paciente, na presença de recidiva, os valores dos títulos de acs se elevaram.

Em 1968, Beutner et al estudaram a IFI de 95 pacientes com PV, utilizando como substrato esôfago de macaco. Titulações de 1:100 foram encontradas em 25 pacientes com lesões extensas, em quatro pacientes com lesões moderadas e em um paciente com lesões leves. Os títulos de acs reduziram-se proporcionalmente com o desaparecimento das lesões. Dos 28 pacientes que não apresentavam lesões, 21 tinham títulos de acs negativos.

Em 1970, Cormane e Petzoldt, em estudos de IFI, encontraram níveis maiores de acs (1:64 a 1:512) utilizando como substrato o esôfago de coelho. Utilizando pele humana como substrato, estes títulos foram menores (1:16 a 1:32).

Em 1971, Sams e Jordon, em estudo comparando a correlação dos títulos de acs com a atividade da doença no pênfigo e penfigóide, verificaram que existe relação entre a atividade e os títulos nos pênfigos, mas não nos penfigóides. A droga utilizada neste estudo para tratamento dos pacientes foi a prednisona, com dose inicial de 80mg/dia, dose esta reduzida gradativamente de acordo com a melhora clínica.

Com relação à mortalidade, Lever em 1972, estudando 36 pacientes com PV, verificou taxa de mortalidade de 8% em doentes tratados com metotrexate e prednisona no período de 1961 a 1970. Em 1974, Krain relatou que dos 49 pacientes com PV tratados na Universidade da Califórnia, apenas quatro (8,2%) morreram por complicações da doença ou de seu tratamento.

Em 1976, Rosenberg et al correlacionaram a dose máxima diária de corticóide com a taxa de mortalidade em 107 pacientes com pênfigo de 1949 a 1970. Em 90 pacientes com PV houve

correlação direta entre a mortalidade e alta dose diária de corticóide necessária para controle da doença. Destes 90 doentes 83 apresentaram lesões orais, 49 apresentaram lesões faríngeas e 18 com lesões laríngeas.

Em 1977, Lever e Schaumburg-Lever, em estudo sobre o uso de imunossupressores e prednisona no PV, avaliaram 63 pacientes com diagnóstico da doença entre 1961 e 1965. Concluíram que a associação com imunossupressores como metotrexate, ciclofosfamida e azatioprina exigiram baixa dose de manutenção da prednisona reduzindo assim, a taxa de mortalidade conseqüente ao tratamento com altas doses de corticosteróide.

Em 1978, Weissman et al estudaram 24 pacientes com PV e analisaram a correlação dos títulos de acs com o estágio da doença. Obtiveram positividade entre achados imunológicos e atividade clínica da enfermidade na maioria dos pacientes. Neste estudo, dez pacientes apresentavam lesões extensas, nove com lesões cutâneo-mucosas moderadas e cinco com lesões leves atingindo apenas mucosa. O substrato utilizado foi pele humana normal, pois na experiência dos autores possuía maior sensibilidade quando comparada ao esôfago de porco de guiné e lábio de rato. Todos os pacientes foram tratados com prednisona, cuja dose inicial foi de 120mg/dia sendo reduzida gradualmente. A maior titulação obtida foi de 1:320 em dois pacientes com doença severa, porém, em nove pacientes a titulação de acs não teve correlação com a severidade da doença.

Em 1978, O'Loughlin et al, em trabalho relatando o seguimento dos níveis de acs em 17 pacientes com PV, mostraram que seis pacientes que obtiveram sucesso terapêutico com os imunossupressores azatioprina e metotrexate e/ou corticoterapia com prednisona, manifestaram longo período de remissão clínica e imunológica. Evidenciaram também que nem sempre é necessária manutenção terapêutica para preservar o período de remissão. Estes autores monitorizaram a dosagem de acs séricos e teciduais para regular a terapia.

Em 1979, Judd e Lever utilizaram a IFD e IFI em 63 pacientes para diagnóstico e monitorização da severidade do PV. Evidenciaram que a IFI é inferior a IFD para o diagnóstico, uma vez que pode estar negativa no início do quadro. Encontraram negatividade da IFI em 41% dos pacientes em vigência de tratamento, porém com lesões presentes, e positividade em 45% dos pacientes sem lesões e já sem tratamento há mais de um ano.

Em 1980, Fitzpatrick e Newcomer revisaram 20 casos extraídos da literatura e acompanharam 19 pacientes atendidos na Universidade da Califórnia com objetivo de avaliar a correlação dos títulos de acs do pênfigo e a atividade da doença. Relataram que títulos de acs menores que 1:80 refletem o nível de atividade da doença em aproximadamente 90% dos casos, porém, titulação maior de acs é encontrada igualmente em doença ativa ou não. Concluíram que o nível de acs não pode servir totalmente como guia para a terapia nem tampouco como indicador de prognóstico.

Savin, em 1981, publicou artigo sobre alguns fatores que poderiam afetar o prognóstico no PV e penfigóide. Os resultados mostraram que, como os pacientes com penfigóide possuem faixa etária maior, estes morrem mais rapidamente após início da corticoterapia, não havendo tempo suficiente para estes manifestarem os efeitos adversos do tratamento, além disso, necessitam de doses menores para controle dos sintomas. Enquanto que, os pacientes com PV são mais jovens e sobrevivem tempo suficiente para apresentar os efeitos cumulativos e fatais de doses altas e prolongadas de esteróides.

Em 1981, Creswell et al avaliaram a correlação entre a atividade da doença e os títulos de acs circulantes. Estudaram 21 casos de pênfigo, sendo 11 de PV. Houve boa correlação em seis pacientes, nenhuma em sete e correlação relativa em oito pacientes. Relataram que existe uma tendência dos títulos de acs em acompanhar a atividade da doença, mas que estes níveis não seriam de grande valor no controle clínico como guia para terapia ou prognóstico de recidivas.

Neste trabalho, o substrato utilizado foi pele humana normal. O tratamento variou de paciente para paciente: a prednisona, o ouro, a azatioprina, a ciclofosfamida e os esteróides tópicos foram usados em várias doses e combinações. Em geral, as doses destes agentes foram modificadas de acordo com o quadro clínico e não somente pela avaliação dos níveis de acs. O maior título encontrado neste estudo foi de 1:1280 em cinco pacientes, quatro destes com doença severa e um com doença moderada. Em dois pacientes que apresentavam doença leve, os maiores títulos foram de 1:160 e 1:640.

Em 1981, Feibelman et al demonstraram, em estudo com 16 pacientes, que o esôfago de macaco é um substrato mais sensível do que o esôfago de porco de guiné para demonstrar acs séricos em pacientes com PV. Criteriosa análise foi feita para comparar os títulos séricos de acs em pacientes com PV em atividade utilizando estes dois substratos. Neste estudo, cinco pacientes com doença em atividade apresentaram titulação positiva quando usado substrato de esôfago de macaco na IFI e este exame negativo quando utilizado o esôfago de porco de guiné. Além disso, os valores obtidos no primeiro são maiores, em várias diluições, aos títulos obtidos no segundo, ao mesmo tempo em que o inverso não ocorreu. Relatam que a razão pela sensibilidade diferente entre estes substratos é desconhecida.

Em 1982, Levene publicou artigo de revisão sobre tratamento do PV severo e relatou pulsoterapia com prednisolona na dose de 1g/d infundida em 15 minutos por um período de três dias. Relatou que esta técnica pode trazer controle rápido do PV severo e subseqüentemente reduzir a dose de manutenção deste corticosteróide. Em relação ao PV leve e/ou moderado, este mesmo autor descreve o tratamento recomendado por Lever e Schaumburg-Lever em 1977: 40mg/d de prednisona em dias alternados associados a 20mg semanais de metotrexate ou 150mg/d de azatioprina ou 100mg/d de ciclofosfamida. A dose de corticosteróide é diminuída gradualmente, quando um bom controle é obtido, durante um ano ou mais de tratamento.

Em 1982, Ahmed e Moy publicaram um estudo sobre as causas de morte no PV em 13 pacientes. A infecção foi a principal causa de morte e septicemia ocorreu em nove dos 13 doentes. A pele foi porta de entrada destas infecções sendo o *Staphylococcus aureus* o principal agente etiológico. Os sinais e sintomas da inflamação foram freqüentemente mascarados pelas altas doses de corticosteróides. Este estudo demonstrou que por esta razão, a corticoterapia prolongada é um fator significativo que contribui para a morte destes pacientes.

Em 1984, Lever e Schaumburg-Lever publicaram um artigo sobre o tratamento do PV complementando estudo anterior publicado por eles em 1977. Naquele trabalho, fizeram uma revisão sobre o tratamento de 84 pacientes com PV entre 1961 e 1982. Entre 1961 e 1975, 63 pacientes foram acompanhados até 1982. Destes, seis pacientes morreram em consequência das altas doses de prednisona utilizadas no tratamento e nove morreram de causa não correlacionada com a doença. Oito pacientes ainda apresentavam lesões com necessidade de tratamento, cinco pacientes não apresentavam mais lesões, porém, permaneciam com medicação e 35 pacientes não apresentavam mais lesões e não estavam sob tratamento. Entre 1976 e 1981 foram incluídos 21 pacientes novos. Destes, 13 tinham doença leve e oito apresentavam doença severa requerendo altas doses de prednisona. Nestes últimos 21 pacientes não houve caso fatal. Nos casos mais severos recomendaram altas doses de prednisona, de 200mg a 400mg/dia, e nos casos leves a moderados recomendam 40mg de prednisona em dias alternados associado a agente imunossupressor diariamente.

Em 1984, Bystryn, em artigo de revisão sobre terapia adjuvante no pênfigo, relatou que o prognóstico da doença vem melhorando nas últimas décadas, porém, muitos fatores, além da instituição do tratamento com drogas adjuvantes, são responsáveis pela maior sobrevivência e menor incidência de remissões. O uso da terapia adjuvante como drogas imunossupressoras, ouro e dapsona, deveriam ser consideradas se (1) o paciente tiver uma contra-indicação para

corticoterapia sistêmica ou se desenvolver um importante efeito colateral ao corticosteróide; (2) o paciente não responder a uma alta dose de corticosteróide (240mg/d); ou (3) repetidas recorrências da atividade da doença mesmo em uso de corticoterapia.

Em 1987, Sabolinski et al avaliaram a especificidade do substrato para acs antiepiliais em 50 pacientes com PV e PF. Confirmaram que acs do PV alcançam níveis maiores quando utilizado o substrato de esôfago de macaco, enquanto no PF, títulos maiores são encontrados com esôfago de porco de guiné. Relataram que a escolha do substrato afeta a detecção dos acs do pênfigo e sugeriram a utilização de dois substratos na rotina diagnóstica dos acs do pênfigo.

Em 1987, Sampaio et al publicaram avaliação da plasmáfereze como opção terapêutica no PV e PF endêmico. Neste estudo, três pacientes eram portadores de PV e quatro de PF endêmico. A paciente (1) portadora de PV era do sexo feminino, 15 anos, e apresentava lesões bolhosas disseminadas. Não apresentava boa resposta a prednisona (60mg/dia) e sulfona (100mg/dia) em um mês de evolução. Após a plasmáfereze, a queda da titulação de acs na IFI foi discreta apesar da melhora clínica, não houve aparecimento de novas lesões e a paciente iniciou dose de corticosteróide inferior à dose a qual estava resistente. A paciente (2) era do sexo feminino, 41 anos, apresentava erosões na mucosa oral, bolhas nas axilas e lesões vegetantes na vulva, tinha cinco meses de evolução e estava sem tratamento prévio. A paciente (3) era também do sexo feminino, 32 anos, apresentava erosões na mucosa oral, bolhas nas coxas e lesões vegetantes na vulva, com um ano de evolução e não relatava tratamento prévio. Nas pacientes (2) e (3), a plasmáfereze levou a quase remissão total das lesões, iniciando-se após, corticoterapia em dose baixa, utilizaram prednisona (30mg/dia). Nestas pacientes, houve aumento isolado da titulação da IFI intercalado com a queda progressiva de acs, sem repercussão clínica. Houve titulação relatada de 1:200 no 4º dia de plasmáfereze, chegando a 1:10 no 14º dia e 1:100 no 18º dia seguido de queda gradativa dos valores. A plasmáfereze não deve ser feita na ausência de

imunossupressão pois há o risco de rebote por mecanismo de regulação por “feedback”, o que é minimizado ou suprimido pelo uso concomitante de corticosteróide.

Em 1987, Aberer et al fizeram estudo prospectivo de 37 pacientes portadores de PV severo tratados com combinação de corticosteróide na dose de 80 a 200mg/d, de acordo com o peso e severidade da doença, e 2 a 3mg/d de azatioprina com dose máxima de 250mg/d. Os títulos de acs foram monitorizados por IFI. Vinte e nove pacientes tiveram acompanhamento por quatro a seis anos desde o início da terapia. No final da avaliação, 27 pacientes estavam vivos (93%), duas mortes ocorreram sem relação com a terapia, 13 pacientes estavam assintomáticos e sem tratamento por mais de 132 meses, 11 permaneceram sob controle clínico mas com títulos de acs ainda presentes requerendo baixas doses de terapia de manutenção, 5 pacientes (17%) estavam bem controlados mas não livres da doença. Efeitos colaterais foram raros e, quando presentes, foram relacionados ao uso de corticosteróides. Houve apenas uma morte relacionada à doença ou à terapia devido à tuberculose pulmonar. Os resultados mostraram que o tratamento com azatioprina e corticosteróides é altamente efetivo e seguro levando a um longo período de remissão e possibilidade de cura.

Em 1988, Seidenbaum et al estudaram o curso e o prognóstico do pênfigo. Revisaram 115 casos ocorridos de 1960 a 1980, destes 95 casos eram de PV. Dos cinco fatores que poderiam influenciar nos resultados apenas dois foram estatisticamente relevantes: a localização da lesão inicial e o intervalo entre o início dos sintomas e a instituição do tratamento. Pacientes que possuíam apenas lesões cutâneas no início do quadro, apresentando pênfigo foliáceo, possuíam maior porcentagem de remissão clínica e menor de exacerbações. Neste estudo, pacientes com lesões orais possuíam pior prognóstico e responderam mais lentamente a terapia e necessitaram maiores doses de esteróides por períodos maiores. Concluíram que a dose de 120mg/dia é efetiva na maioria dos casos e reduz a frequência de casos fatais. Quanto ao tempo

de instituição da terapia revelaram que quanto mais tarde o início do tratamento pior o prognóstico.

Em 1989, David et al avaliaram a IFD e a IFI de 24 pacientes em fase de remissão clínica. Analisaram os níveis de acs do PV no período de remissão, como também avaliaram a possibilidade de depósitos de IgG e C3 na epiderme servir como indicadores imunológicos para a atividade da doença e controle terapêutico. Foram incluídos 13 homens e 11 mulheres neste estudo. O diagnóstico de PV foi confirmado por critérios histológicos e de IF. No início deste trabalho, todos os pacientes estavam em fase de remissão clínica de seis meses a quatro anos, recebiam prednisona oral na dose de cinco a 20mg/dia ou em dias alternados. Os pacientes foram avaliados a cada dois meses por 20 meses e IFD e IFI executadas por duas vezes em cada doente com intervalo de seis meses entre cada teste. Nos pacientes com IF negativa repetida, a administração de prednisona foi descontinuada. O substrato utilizado foi pele humana. No momento do diagnóstico, o maior valor obtido na IFI foi de 1:640 em um paciente; dois pacientes apresentaram titulação de 1:320; dois apresentaram valores de 1:160; três tinham títulos de 1:80; um paciente tinha título de 1:40; dois indivíduos apresentavam valores de 1:20; dois indivíduos valores de 1:10; sete pacientes apresentavam IFI negativa e três pacientes não tinham realizado a IFI. Durante o período de remissão, os valores de IFI foram negativos em 17 pacientes no 1º e no 2º exame e sete pacientes apresentaram títulos entre 1:10 e 1:80. Houve recorrência das lesões, durante o período de remissão, em oito pacientes. Os autores relataram que, quando os pacientes estão em fase ativa da doença, o principal parâmetro para redução da dose do corticosteróide é a resposta clínica. Os títulos de acs circulantes podem ajudar no controle da evolução da doença, mas, em determinados pacientes, não é um parâmetro confiável. As variações de resultados podem ocorrer dependendo do substrato utilizado. Quando o paciente estiver na fase de remissão clínica, a decisão de como e quando reduzir a dose do corticosteróide pode ser difícil, pois nesta

fase a IFI é menos útil do que quando a doença está em atividade. Durante a fase de remissão, a IFD parece ser mais sensível do que a IFI. Os autores acreditam que a terapia não deve ser suspensa até a negatividade da IFD e IFI.

Em 1990, Ratnam et al avaliaram o esquema terapêutico de 22 pacientes com PV. Os pacientes foram divididos em dois grupos: o primeiro recebeu uma alta dose de prednisolona (120mg/dia) e o outro recebeu uma dose baixa (60mg/dia). Todos os pacientes submeteram-se a terapia coadjuvante com imunossupressor. Os pacientes foram acompanhados por cinco anos e inicialmente um controle mais rápido foi adquirido pelo grupo de regime de alta dose. Porém, não houve benefício em longo prazo, neste grupo, no que diz respeito à frequência das recidivas ou incidência de complicações.

Em 1990, Maceira e Souza Marques estudaram a IFI em 24 casos de pênfigo no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Revelaram que a detecção de autoanticorpos circulantes através da IFI nem sempre é possível, principalmente no PF. Neste estudo nove pacientes apresentavam PV e dentre eles, seis com IFI positiva (66,6%), 15 pacientes apresentavam PF e dentre eles, seis com IFI positiva (40%).

Em 1991, Ioannides et al estudaram a expressão dos antígenos do PF, do PV e do pênfigo eritematoso em 16 áreas diferentes da pele humana normal, utilizando a IFI de soros com altos títulos de acs. No PV, a mucosa oral e o couro cabeludo foram as regiões de maior expressão de antígenos. O soro de dois pacientes com PV utilizados no estudo apresentava títulos de 1:640 quando testados em substrato de esôfago de porco de guiné.

Em 1991, Piamphongsant e Ophaswongse publicaram estudo sobre o tratamento do pênfigo de acordo com a severidade do quadro, avaliando a eficiência dos regimes combinados de prednisona ou prednisolona e prévio tratamento de ciclofosfamida assim como dapsona ou ouro isolados ou com terapia coadjuvante. Neste estudo, também correlacionaram os títulos de

acs com a severidade da doença e relataram que titulação maior que 1:80 estava relacionada com doença severa. Neste estágio, recomendaram associação do imunossupressor ao corticosteróide para controle da doença e minimização das complicações correlacionadas à corticoterapia em altas doses.

Em 1994, Ratnam e Pang publicaram artigo sobre o valor da IFD negativa no controle do pênfigo em remissão. Neste estudo, 19 pacientes foram acompanhados na fase de remissão clínica por pelo menos seis meses e em uso de 10mg/dia de prednisolona. Após seis meses a um ano de remissão clínica, a IFD era executada em pele normal ou próxima a área da biópsia anterior. A IFI era feita após três meses do diagnóstico inicial utilizando substrato de esôfago de macaco. Inicialmente havia positividade da IFI em dez dos 19 pacientes com PV (52,6%). Todos os pacientes do estudo tinham IFI negativa quando o tratamento foi descontinuado baseado no resultado da IFD.

Em 1996, Carson et al, em estudo sobre a influência do tratamento no curso clínico do PV, revelaram que a prednisona é a droga mais utilizada para o tratamento do pênfigo, sendo necessário avaliar cuidadosamente a necessidade de se associar outros imunossupressores ao tratamento desta doença.

Em 1996, Werth publicou estudo retrospectivo, caso-controle, visando determinar a eficácia da pulsoterapia na remissão da doença ou redução subsequente da dose de glicocorticóide oral no PV. Quinze pacientes com PV que não responderam à corticoterapia em baixa dose (<40mg/d) foram incluídos na análise e acompanhados por pelo menos 500 dias após início do tratamento. Nove pacientes receberam pulsoterapia e seis, apenas prednisona oral. Todos os doentes encontravam-se no mesmo estágio inicial. Seis dos nove pacientes que receberam pulsoterapia mostraram melhora do PV. Em quatro dos nove, qualquer terapia com corticosteróide foi descontinuada e estes permaneceram em remissão por um longo período. Os

seis pacientes que não utilizaram a pulsoterapia não obtiveram longo período de remissão sem o uso do corticosteróide oral. Os resultados mostraram que a pulsoterapia é potencialmente efetiva no tratamento de pacientes com PV severo.

Enk e Knop, em 1997, apresentaram artigo relatando suas experiências no tratamento do PV com micofenolato de mofetila em 12 pacientes. Estes foram previamente tratados com prednisolona (2mg/Kg) e azatioprina (1,5 a 2mg/Kg) com alguma melhora, porém, houveram recidivas após a suspensão da corticoterapia. Como resultado, relataram que 11 dos 12 pacientes responderam bem ao tratamento com o micofenolato e permaneceram sem recidivas por um período de 12 meses. Relataram fato importante que, em dois meses, nenhum título de acs foi detectado pela IFI.

Em 1998, Chowdhury e Natarajan relataram caso de pênfigo vulgar neonatal com IFI no valor de 1:160 ao nascimento utilizando como substrato esôfago de macaco. A dosagem de acs circulantes da mãe era de 1:160 na mesma data.

Em 1999, Stanley-A, em artigo publicado sobre a terapia em PV, relatou que a prednisona é a droga de escolha para o tratamento desta doença, porém, em altas doses, seus efeitos adversos são os principais causadores de complicações letais. Relatou, ainda, que a terapia adjuvante diminuiu a taxa de mortalidade para menos que 10%, porém afirmou que existem poucos estudos-controle sobre essas terapias. Neste mesmo trabalho, afirmou que a terapia com o micofenolato de mofetila era extremamente útil como terapia adjuvante mas com custo três ou quatro vezes maior que a azatioprina. Em referência ao estudo de Enk e Knop, de 1997, relatou que, na sua experiência, o declínio dos títulos de acs no PV não ocorreu tão rapidamente com uso de glicocorticóide, azatioprina e ciclofosfamida.

Em 1999, Stanley-B relatou que, dependendo do substrato utilizado na IFI, mais de 75% dos pacientes com todos os tipos de pênfigo possuem acs IgG antiepitélio circulantes. Pacientes

com doença localizada e nas fases inicial e de remissão, geralmente possuem IFI negativa. Afirmou que existe uma correlação positiva, porém inexata, entre os títulos de acs antiepitélio e a atividade da doença. Também relatou que o acompanhamento destes pacientes dia-a-dia, durante a atividade da doença, é mais importante do que o acompanhamento dos níveis de acs.

Em 1999, Proença et al publicaram artigo sobre doenças bolhosas recomendando tratamento com corticosteróides no PV com dose inicial de 80 a 100mg/d de prednisona ou dose equivalente de outros esteróides. Na experiência dos autores, os resultados obtidos com prednisona, triancinolona e dexametasona foram praticamente iguais. Mostraram que a dose deve ser reduzida de acordo com o quadro clínico e recomendaram a associação com azatioprina na dose de 150mg/d quando a resposta ao corticosteróide não for satisfatória. Relataram que a ciclofosfamida também se mostrou eficaz como droga adjuvante. Na experiência dos autores, avaliando os seus casos nos últimos 15 anos, o PV respondeu melhor ao tratamento em comparação com o que é referido na literatura do hemisfério norte. Utilizando doses menores de corticosteróides e imunossupressores, houve um maior índice de remissões completas e cura.

Em 2001, Jarzabek-Chorzelska et al publicaram artigo sobre o uso de mais de um substrato na IFI para o diagnóstico do pênfigo. Relataram que o uso de pelo menos dois substratos aumentaria a sensibilidade do teste e ajudaria a diferenciar os principais subtipos de pênfigo. Foram estudados 15 pacientes com PV, tendo sido utilizados como substrato esôfago humano, esôfago de porco de guiné, esôfago de macaco e pele humana. O resultado deste trabalho revelou que, no PV, o esôfago humano e de macaco foram os substratos de maior sensibilidade para o diagnóstico.

Em 2004, Herzog et al estudaram quatro pacientes com PV severo que não responderam bem à terapia única de corticosteróide havendo necessidade de associação com imunoglobulina

endovenosa. Demonstraram que, nestes quatro pacientes, houve melhora clínica e diminuição da titulação dos autoanticorpos dosados pela IFI.

Em 2005, Zagorodniuk et al compararam a IFI e o método ELISA no diagnóstico sorológico do PV. Na IFI, foi utilizado o esôfago de macaco como substrato. Avaliaram 32 pacientes com PV e obtiveram, na IFI, 81% de sensibilidade e 100% de especificidade. No teste ELISA, detectaram 81% de sensibilidade e apenas 94% de especificidade. Os resultados mostraram que o método ELISA é comparável à IFI em sensibilidade e inferior em especificidade para o PV.

Em 2005, PL Ng et al fizeram uma comparação entre a IFI e o teste ELISA para o diagnóstico de pênfigo, usando dois substratos: esôfago de macaco e pele humana normal. Foram estudados 29 casos de pênfigo sendo 13 de PF e 15 de PV. Os resultados mostraram que o teste Elisa foi mais sensível que a IFI, pois o ELISA mostrou-se positivo em todos os 29 casos, já a IFI foi negativa em quatro casos (86% de positividade). Um destes quatro pacientes repetiu a IFI após três meses e houve positividade de 1:80. Em três pacientes, com doença clinicamente importante, a titulação da IFI foi bastante baixa (1:20) contrastando com os valores do Elisa que foram altos (113-178, onde taxa normal seria igual ou menor que 20). Porém em um paciente, também com doença clinicamente importante, houve positividade na IFI de 1:80 e ELISA com valor abaixo de 50. Em todos os casos de PV, o esôfago de macaco foi um substrato superior ou igual à pele humana normal para IFI.

## 2- OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar a titulação da IFI nos pacientes acompanhados em consultório particular, na Clínica Professor José Kós e no serviço de pós-graduação da Pró-

Otorrino, no período de junho de 2000 a julho de 2004, com diagnóstico de PV mucoso e cutâneo-mucoso, correlacionando estes valores à presença e extensão do acometimento da pele e mucosa durante o tratamento corticoterápico.

### 3- CASUÍSTICA E MÉTODO

Este trabalho é um estudo clínico prospectivo onde participaram 18 pacientes, 13 do sexo feminino e cinco do sexo masculino, com diagnóstico de PV firmado através da clínica, do exame histopatológico, da IFD e IFI, examinados pelo mesmo profissional, na Clínica Professor José Kós, no serviço de pós-graduação da Pró-Otorrino e em consultório particular, na cidade do Rio de Janeiro.

Foi utilizado como critério de inclusão todos os pacientes com diagnóstico de PV, firmado como acima descrito, brasileiros, sem qualquer tipo de tratamento prévio para esta doença. Foram excluídos os pacientes sem diagnóstico confirmado de PV ou doentes com PV que já tenham sido submetidos a qualquer tratamento anterior para esta enfermidade. Todos os pacientes assinaram termo de consentimento.

O exame histopatológico foi realizado do material biopsiado da mucosa oral, em área perilesional, após infiltração de solução de xilocaína com adrenalina na concentração de 1:100.000. O material para execução da IFD também foi removido da mesma forma, porém este material foi colocado em solução de transporte, meio de Michel, a fim de preservar o material para imunofluorescência. Estes exames foram executados no Laboratório Professor Basílio, professor titular da cadeira de anatomia patológica da Faculdade de Medicina Uni-Rio, reconhecidamente capaz na cidade do Rio de Janeiro.

Para a IFI, o sangue foi coletado pelo Laboratório de Análises Clínicas Lanacli e enviado para o ARUP Laboratories, estes situados na cidade do Rio de Janeiro e nos Estados Unidos respectivamente. O substrato utilizado na IFI foi o esôfago de macaco.

A IFI foi executada no momento do diagnóstico, no segundo e quarto mês de corticoterapia, tempos estes escolhidos arbitrariamente.

A droga utilizada inicialmente nos 18 pacientes foi a prednisona, na dose de 60mg/dia, sendo esta reduzida individualmente de acordo com a regressão do quadro clínico. Dois pacientes com hipertensão arterial sistêmica, que faziam uso regular de 50mg/dia de captopril, apresentaram descontrole dos níveis pressóricos, havendo necessidade de substituição da prednisona pelo deflazacort a partir da segunda semana de tratamento. Foi utilizado então, 60mg/dia de deflazacort com o objetivo de diminuir a retenção hídrica. A redução da dose desta droga seguiu o mesmo critério utilizado no uso da prednisona.

Os pacientes foram protocolados clinicamente para controle de informações de seu histórico, doença, dados de diagnóstico e evolução (Anexo 3).

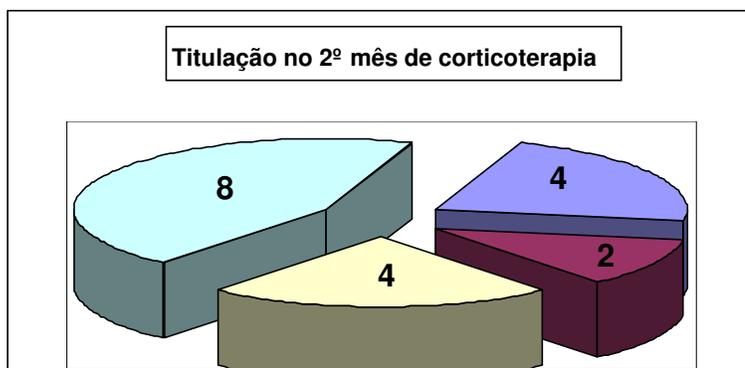
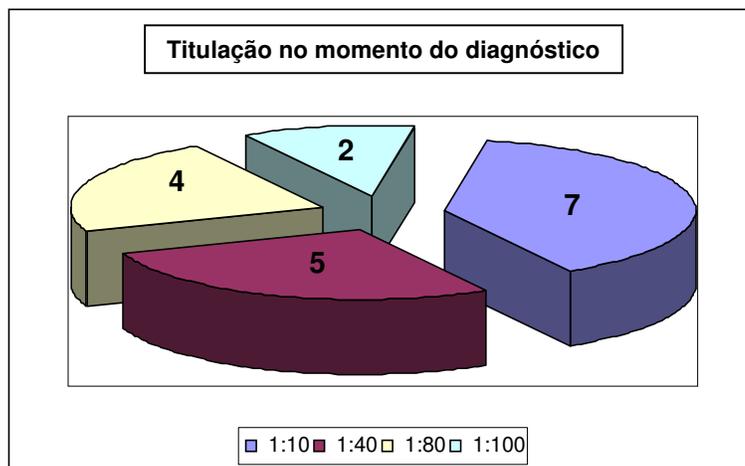
As lesões foram classificadas em leve, moderada e severa de acordo com a Tabela 2.

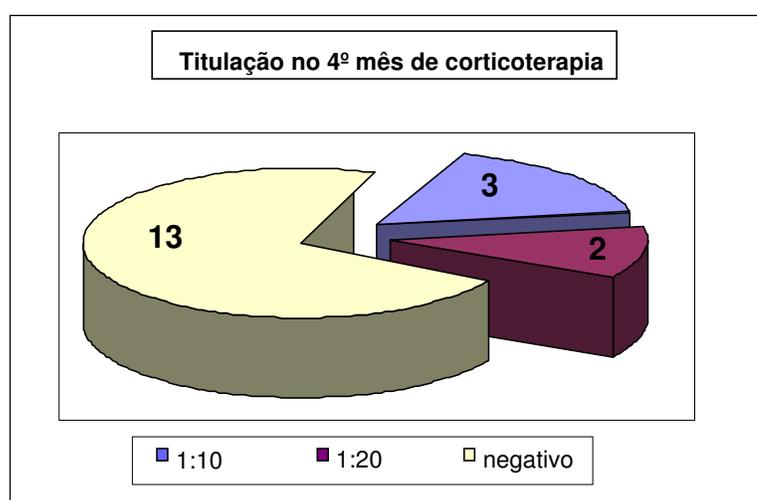
Tabela 2. Graduação clínica do acometimento cutâneo-mucoso

Grau	Número e tipos de lesões
Leve	Até 5 lesões mucosas com até 3 cm
Moderada	6 ou mais lesões mucosas ou lesões maiores que 3 cm

#### 4- RESULTADOS

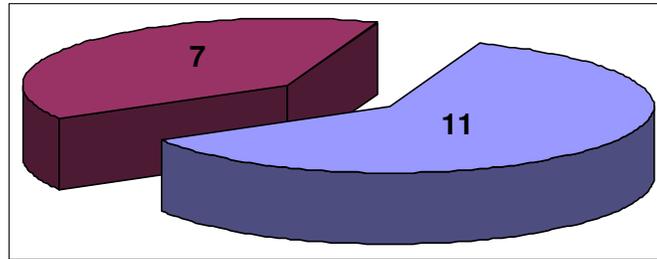
Dos 18 pacientes incluídos no trabalho, 2 tiveram títulos de IFI iguais a 1:100 (11,11%), quatro apresentaram títulos iguais a 1:80 (22,22%), cinco iguais a 1:40 (27,77%) e sete pacientes iguais a 1:10 (38,88%) no momento do diagnóstico. Após dois meses de tratamento, oito pacientes negativaram os títulos da IFI (44,44%), quatro apresentaram títulos iguais a 1:40 assim como também 1:10 (22,22%) respectivamente e dois pacientes apresentaram valores iguais a 1:20 (11,11%). No quarto mês de avaliação, 13 pacientes obtiveram IFI negativa (72,22%), dois obtiveram títulos iguais a 1:20 (11,11%) e três iguais a 1:10 (16,66%) (Gráficos abaixo e Anexo 4).





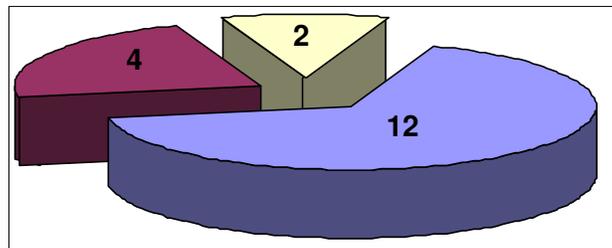
Quanto ao comprometimento da pele e mucosa oral, 11 indivíduos apresentaram lesões somente da mucosa oral (61,11%) e sete apresentaram lesões cutâneo-mucosas (38,88%) no momento do diagnóstico. No segundo mês, 12 pacientes não apresentavam mais lesões, correspondendo a 66,66% do total, quatro pacientes possuíam algumas lesões cutâneas (22,22%) e dois pacientes apresentavam apenas lesões mucosas sem comprometimento da pele (11,11%). No quarto mês de tratamento, os 18 pacientes não apresentavam lesão (Gráficos a seguir e Anexo 5).

**Acometimento de pele e mucosa no diagnóstico**



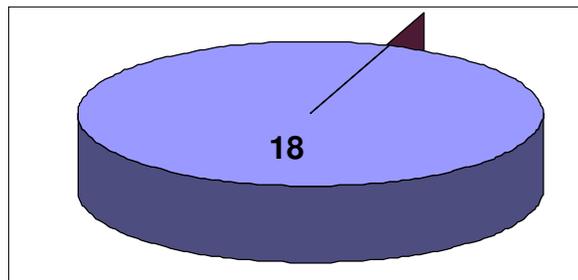
■ Mucosa ■ Cutânea-Mucosa

**Acometimento de pele e mucosa no 2º mês de corticoterapia**



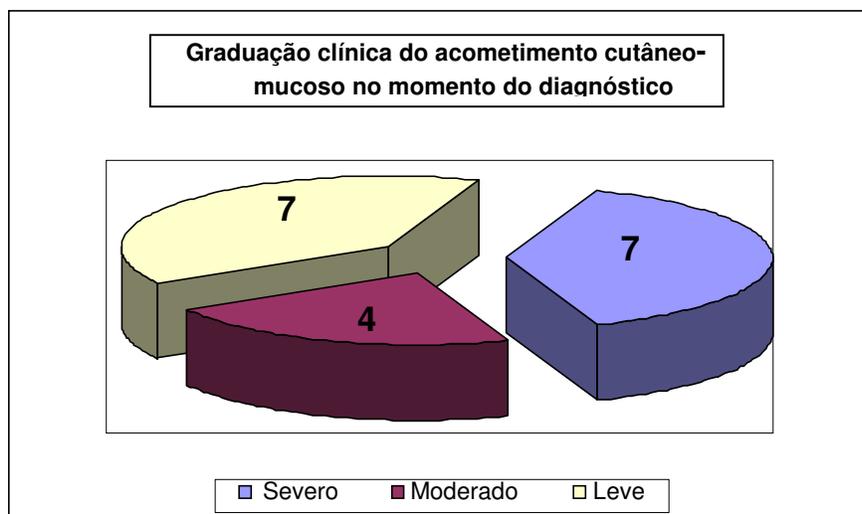
■ Sem Lesão ■ Cutânea ■ Mucosa

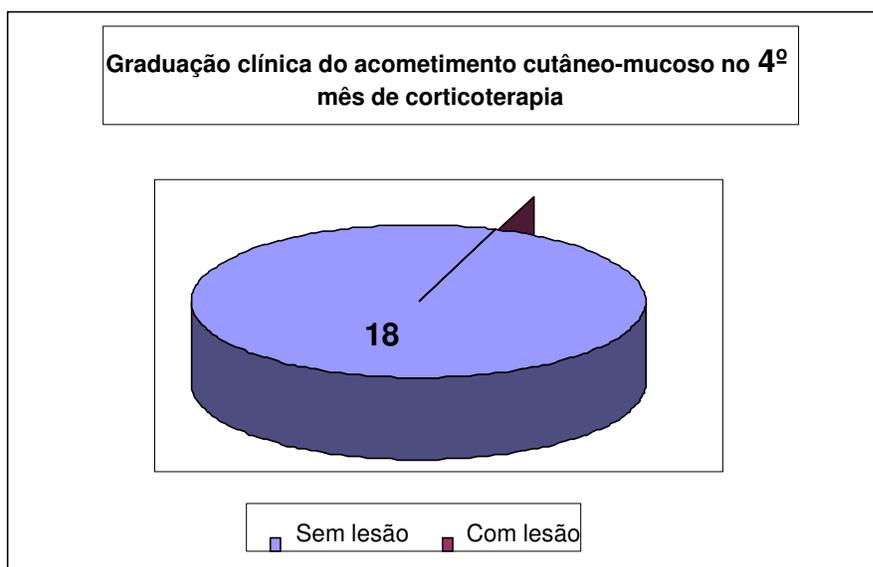
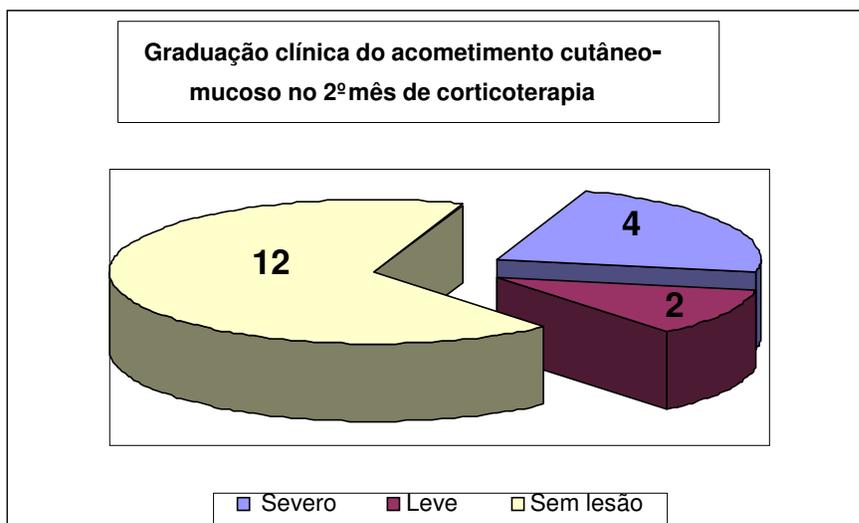
**Acometimento de pele e mucosa no 4º mês de corticoterapia**



■ Sem lesão ■ Com lesão

Em relação à severidade das lesões, no momento do diagnóstico, sete pacientes encontravam-se no grau severo (38,88%), quatro no grau moderado (22,22%) e sete pacientes no grau leve (38,88%). No segundo momento da avaliação, quatro dos sete pacientes do grau severo permaneceram neste nível de classificação apresentando apenas lesões cutâneas; um paciente evoluiu para o grau leve e os dois restantes não mais apresentaram lesões. Dos quatro pacientes do grau moderado, três evoluíram com ausência de lesões e um migrou para o grau leve. Todos os sete pacientes do grau leve deixaram de apresentar lesões neste segundo mês de tratamento. No quarto mês de corticoterapia, nenhum indivíduo apresentava lesão (Gráficos abaixo e Anexo 6).





A comparação dos títulos de IFI no momento do diagnóstico com o tipo de lesão neste mesmo momento (mucosa ou cutâneo-mucosa) não se mostrou estatisticamente significativa ( $P = 0,811$ ) (F teste). A relação entre a resposta clínica inicial após dois meses de corticoterapia e os níveis de acs à IFI no momento do diagnóstico apresentou significância estatística ( $P < 0,001$ ) (F teste). Por fim, a cura clínico-laboratorial após quatro meses de tratamento em comparação à titulação inicial da IFI também mostrou significância estatística ( $P < 0,001$ ) (F teste) (Anexo 7).

Os pacientes permanecem em acompanhamento a cada um ou dois meses.

## 5- DISCUSSÃO

Desde a descrição dos acs séricos do pênfigo e penfigóide por Beutner et al em 1965, ênfase foi dada na sua demonstração como parte do diagnóstico.

No PV, os acs intercelulares podem ser detectados no sangue dos pacientes pela IFI em algum estágio da doença.

Existe uma grande controvérsia sobre se existe ou não correlação dos títulos de acs com a atividade da doença. A maioria dos autores acredita nesta direta correlação.

O trabalho de Beutner et al de 1965 sugeriu haver associação da titulação de acs com a atividade do PV. Em 1968, com um maior número de pacientes estudados, Beutner et al mostraram esta mesma relação e evidenciaram que um grande número de doentes sem lesões tinham títulos de acs negativos, como visto também no nosso estudo, onde 72,22% dos pacientes sem lesão tinham titulação negativa. O estudo de Chorzelski et al, em 1966, verificou relação entre a atividade da doença e os níveis de acs em uma amostra de apenas quatro pacientes. Em 1971, Sams e Jordon examinaram somente três pacientes com PV, mas evidenciaram boa relação entre a titulação de acs e a atividade da doença. Weissmann et al em 1978, encontraram correlação positiva entre a melhora clínica induzida pelo esteróide e a queda dos títulos de acs, exatamente o mesmo que ocorreu com os meus 18 pacientes. No estudo destes autores, também ocorreu o inverso: aumento dos acs com a exacerbação da doença, o que até poderia ter acontecido com os doentes estudados por mim se houvesse ocorrido piora clínica em algum caso. Neste mesmo trabalho, assim como o de Creswell et al em 1981, verificou-se que quanto mais severa a doença, maior os níveis de acs, porém, estes últimos relataram que o controle da

titulação de acs possuiu pouco valor no manejo clínico dos pacientes. Piamphongsant e Ophaswongse, em 1991, também correlacionaram os títulos de acs com a severidade da doença, relatando que títulos maiores do que 1:80 estavam relacionados à doença severa. No meu trabalho, a grande maioria dos casos considerados severos também possuía a maior titulação apesar de não ter havido significância estatística. Pude observar a redução dos títulos ao longo da melhora clínica dos doentes. Em 1994, Ratnam e Pang obtiveram apenas 52,6% de positividade na IFI em 19 pacientes com PV no momento do diagnóstico.

Em 2005, Zagrodniuk et al, comparando a IFI ao método ELISA para o diagnóstico sorológico do PV, encontraram IFI com 81% de sensibilidade e 100% de especificidade e apenas 94% de especificidade no ELISA e o mesmo valor de sensibilidade (81%). Artigo publicado no mesmo ano por PL Ng et al revelou que o teste ELISA foi mais sensível que a IFI com valores de 100% e 86% respectivamente. Obtive 100% de sensibilidade e especificidade na IFI para o PV uma vez que todos os pacientes apresentaram positividade à IFI no momento do diagnóstico, o qual foi firmado através dos dados clínicos e também da IFD.

Em 1989, David et al relataram que a dosagem sérica de acs circulantes pode ajudar no controle da evolução da doença, porém, isto não ocorreu em 100% dos pacientes. Isto se deu principalmente no período de remissão, pois os dados da IFI foram mais confiáveis como guia na terapia na fase aguda da doença do que na remissão.

Judd e Lever, em 1979, estudaram 63 pacientes com PV e não encontraram relação direta dos títulos de acs pela IFI e a atividade da doença, contrário aos trabalhos citados anteriormente. Os autores relataram que em apenas seis dos 63 pacientes estudados, houve relação direta desses dados e estes pacientes receberam altas doses de prednisona em consequência da severidade da doença. Entretanto, nos pacientes que não receberam altas doses do corticosteróide, não houve correlação da severidade da doença e os títulos de acs na sua totalidade. O substrato utilizado

neste estudo foi o esôfago de porco de guiné. Sabendo que o substrato pode influenciar nos resultados do exame, interrogamos os achados destes autores, uma vez que os mesmos não utilizaram um dos substratos mais sensível para o estudo do PV segundo a literatura.

Em 1980, Fitzpatrick e Newcomer mostraram relação estatisticamente significativa entre a titulação da IFI e atividade da doença, mas não encontraram confiabilidade na dosagem seriada de acs servindo como guia no tratamento e prognóstico do PV nos casos cuja titulação era acima de 1:80. Como dos meus 18 pacientes 16 tiveram títulos máximos de 1:80, esta relação se mostrou confiável.

O trabalho de Maceira e Souza Marques de 1990 relatou que a detecção de acs circulantes através da IFI nem sempre é possível. Encontraram, neste estudo, 33,4% de negatividade na IFI dos pacientes com PV, porcentagem bem maior de falso-negativo daquela achada por mim (0% de negatividade à IFI).

Um dos pontos mais importantes é elucidar se o controle seriado dos títulos de acs através da IFI é útil ou não no acompanhamento dos pacientes com PV.

Como relatado por David et al, em 1989, e Stanley-B, em 1999, dependendo do substrato utilizado, o resultado da IFI pode sofrer variações.

Diferentes substratos podem ser utilizados para a realização do teste de IFI: esôfago de macaco (Feibelman et al, 1981; Sabolinski et al, 1987; Ratnam e Pang, 1994; Chowdhury e Natarajan, 1998; Jarzabek-Chorzelska et al, 2001; PL Ng, 2005; Zagorodniuk et al, 2005), esôfago de coelho (Cormane e Petzoldt, 1970), pele humana (Cormane e Petzoldt, 1970; Weissman et al, 1978; David et al, 1989; Jarzabek-Chorzelska et al, 2001; PL Ng, 2005), lábio de rato (Weissman et al, 1978) e esôfago de porco de guiné (Judd e Lever, 1979; Feibelman et al, 1981; Sabolinski et al, 1987; Ioannides et al, 1991).

Sabolinski et al, em 1987, concordaram com os resultados de Feibelman et al, em 1981, ao afirmarem que o esôfago de macaco é o melhor substrato para o diagnóstico de PV quando comparado ao esôfago de porco de guiné. Segundo estes últimos autores, a razão pela diferença na sensibilidade dos substratos ainda não é conhecida.

Sabolinski et al, no mesmo estudo, sugeriram a utilização de dois substratos na avaliação dos títulos de acs, e Jarzabek-Chorzelska et al, em 2001, referiram que isto aumenta a sensibilidade do teste e ajuda a diferenciar os tipos de pênfigo. Embora sabendo que existe a possibilidade de aumentar a sensibilidade do teste com a utilização de mais de um substrato, ao meu ver, isto acarretaria em um maior custo na investigação diagnóstica, o que vai de encontro à realidade do nosso meio. Em meu trabalho, a sensibilidade e especificidade foram de 100% utilizando apenas um substrato, o esôfago de macaco.

Como dito anteriormente, a pele humana também pode ser utilizada no teste de IFI. Cormane e Petzoldt, em 1970, obtiveram titulação de acs maior utilizando substrato de esôfago de coelho e níveis menores utilizando pele humana. Weissman et al, no estudo de 1978, utilizaram a pele humana normal como substrato, pois, segundo suas experiências, possuía maior sensibilidade do que esôfago de porco de guiné e lábio de rato. PL Ng, em 2005, concordou com Jarzabek-Chorzelska et al, 2001, quando relatou que a pele humana tem sensibilidade igual ou muito semelhante ao esôfago de macaco na pesquisa do PV.

Segundo Sabolinski et al, em 1987, o esôfago de porco de guiné é o substrato de escolha para o diagnóstico do PF. Em 1979, Judd e Lever utilizaram este substrato em pacientes com PV pois era o material disponível naquele momento. Com isto, acredito que a não disponibilidade do substrato ideal para a doença em questão, não limita a sua investigação.

O curso da doença pode sofrer inúmeras influências refletindo no modo de como ela se apresenta, sua severidade, início e duração dos sintomas, período de remissão, droga utilizada no tratamento (Bystryn, 1984; Seidenbaum et al, 1988).

O perfil do prognóstico e tratamento do PV modificou-se de maneira expressiva após o advento da corticoterapia. A prednisona foi a droga de escolha por vários autores (Weissman et al em 1978; Carson et al, 1996; Stanley-A, 1999). Além deste fármaco, o ouro, alguns imunossuppressores e mesmo esteróides tópicos e intralesionais podem ser utilizados em diversas doses e combinações (Creswell et al, 1981). Outra opção terapêutica é a plasmaférese que acaba por reduzir a dose de corticosteróides utilizada (Sampaio et al, 1987). Pode ser utilizada ainda imunoglobulina endovenosa com boa resposta clínica, como citado por Herzog et al em 2004.

No estudo de Sams e Jordon de 1971, a prednisona também foi a droga utilizada para os pacientes com PV. A dose inicial foi de 80mg/d, considerada baixa segundo a literatura mundial, e foi reduzida gradativamente de acordo com a melhora clínica. Creswell et al, em 1981, e Proença et al em 1999, modificaram as doses dos agentes terapêuticos também de acordo com a evolução clínica. Em meu trabalho, o parâmetro principal para o controle da dose de corticosteróide também foi a melhora clínica.

O início da melhora clínica pode estar relacionado com a dose inicial do corticosteróide. Ratnam et al, em 1990, identificou um rápido controle do quadro clínico em pacientes que utilizaram altas doses de prednisolona em associação ao imunossupressor. Tenho como rotina terapêutica no PV, de acordo com minha experiência clínica, iniciar o tratamento com dose de 60mg/d de prednisona como monoterapia. Em geral, obtenho controle rápido do quadro e, se necessário, aumento a dose inicial de acordo com cada indivíduo. Em 1999, Proença et al recomendaram uma dose um pouco maior de prednisona (80 a 100mg/d) ou dose equivalente de

outros esteróides e associação com azatioprina, ou ciclofosfamida, quando a resposta ao corticosteróide não for satisfatória.

Krain, em 1974, Rosemberg et al, em 1976 e Ahmed e Moy, em 1982 relacionaram a taxa de mortalidade com a utilização de altas doses de corticosteróide. Nenhum dos meus 18 pacientes utilizou dose elevada de corticosteróide para controle da doença. Todos eles tiveram boa evolução clínica, com taxa de mortalidade igual a 0%.

Em 1981, Savin relatou que, em geral, os pacientes com PV sobrevivem tempo suficiente para manifestar os efeitos cumulativos e fatais dos esteróides e por esta razão, diversos estudos correlacionam a terapia ao prognóstico do PV.

A redução da mortalidade do PV pode estar relacionada com a utilização da terapia adjuvante com imunossupressores (Lever, 1972; Stanley-A, 1999).

Alguns autores utilizam imunossupressores em associação à corticoterapia como relatado no trabalho de Lever e Schauburg-Lever em 1977, e Piamphongsant e Ophaswongse em 1991. Estes autores acreditam que tal associação reduz a dose de manutenção do corticosteróide, conseqüentemente diminuindo a taxa de mortalidade decorrente do tratamento, reafirmando em 1984, o uso concomitante de imunossupressores e glicocorticóides nos casos leves a moderados. O'Loughlin et al, em 1978, relataram que esta combinação também pode acarretar longos períodos de remissão. Alguns anos depois, em 1987, Aberer et al tiveram a mesma conclusão e relataram ainda, que esta associação é efetiva e segura com possibilidade de cura. Esses últimos autores regularizaram a terapia através da monitorização da dosagem de acs séricos e teciduais. Este procedimento, mesmo sendo ideal, é um método invasivo e de alto custo.

Em 1984, Bystryn indicou o uso da terapia adjuvante quando (1) o paciente tiver contra-indicação ou efeito colateral importante à corticoterapia sistêmica, (2) ausência de resposta à alta dose de corticosteróide, (3) repetidas recorrências. Nos meus dois pacientes que apresentaram

inicialmente aumento dos níveis pressóricos com uso da prednisona, talvez eu pudesse ter utilizado um imunossupressor, mas, pela minha inexperiência com este tipo de tratamento, optei pelo uso do deflazacort, por causar menor retenção hídrica.

Enk e Knop, em 1997, utilizaram o micofenolato de mofetila como droga imunossupressora associada à corticoterapia com rápida redução dos níveis de acs à IFI. Stanley-A também utilizou o micofenolato com boa eficácia, porém, relatou um fator limitante para sua utilização, o custo. Consegui a mesma queda significativa dos títulos de acs sem utilizar qualquer droga adjuvante. O custo do tratamento também é um fator importante no nosso meio.

Em 1982, Levene usou a mesma combinação de prednisona e imunossupressores para tratamento de casos moderados a leves, reduzindo as doses ao alcançar um bom controle clínico. Já nos casos severos, utilizou pulsoterapia com prednisolona e obteve controle rápido do quadro, assim como Werth em 1996. Em nenhum dos casos severos descritos por mim, foi necessária a utilização das altas doses de corticosteróides da pulsoterapia.

De acordo com a literatura, os títulos de acs inicialmente encontrados nos pacientes com PV podem variar e tem relação com o grau de comprometimento de pele e/ou mucosa. De acordo com Piamphongsant e Ophaswongse, em 1991, a titulação maior que 1:80 está relacionada à doença severa. Na sua grande maioria, seus valores são bem maiores do que os encontrados por mim: 1:120 (Beutner et al, 1965); 1:160 (Chowdhury e Natarajan, 1998); 1:180 (Fitzpatrick e Newcomer, 1980); 1:200 (Sampaio et al, 1987); 1:512 (Cormane e Petzoldt, 1970); 1:640 (David et al, 1989); 1:1280 (Creswell et al, 1981). O maior valor obtido por mim foi de 1:100 em pacientes com comprometimento cutâneo-mucoso, na minha classificação, considerado severo.

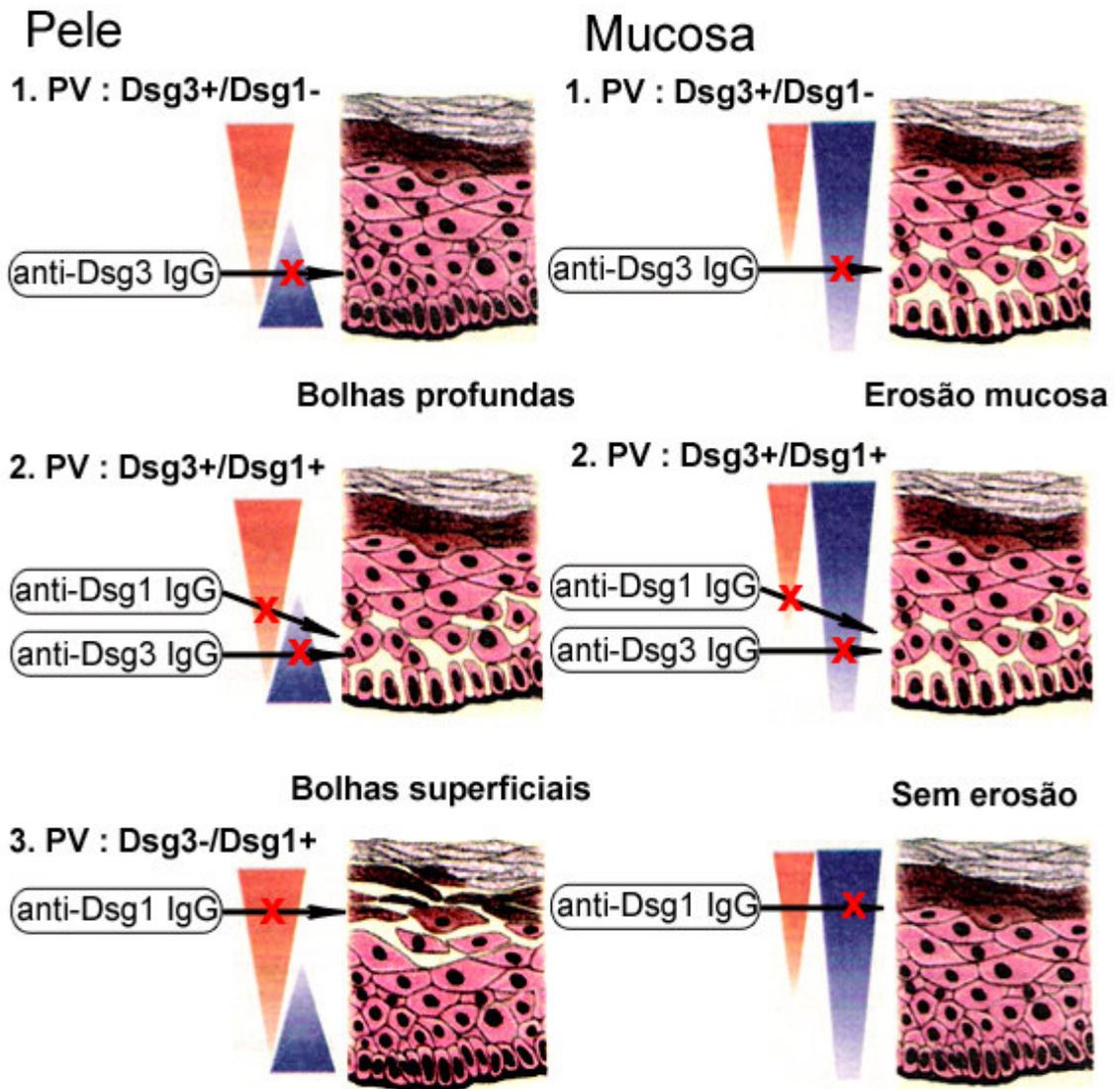
Todos os 18 pacientes deste trabalho apresentavam lesões orais e responderam bem ao tratamento discordando dos achados de Seidenbaum et al em 1988. Estes autores relatam que as lesões orais estão relacionadas a um pior prognóstico e a uma resposta mais lenta à terapia.

## 6- CONCLUSÃO

O PV, na amostra estudada, possuiu um caráter benigno, respondeu bem à corticoterapia. Os níveis de anticorpos diminuem com o decorrer do tratamento e as lesões desaparecem. Nos 18 pacientes incluídos neste trabalho, houve correlação direta entre os títulos de acs à IFI e a atividade da doença.

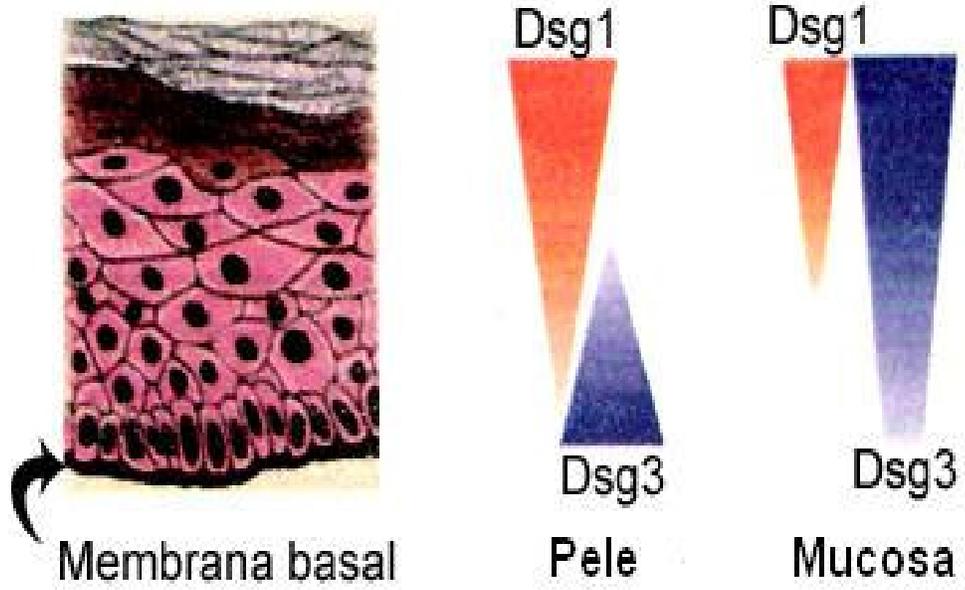
## 7- ANEXOS

Anexo 1 – Hipótese de Compensação da Desmogleína



Modificado de Pênfigo – Doença da Auto-imunidade Antidesmossomas, Udey, Stanley, 2000.

Anexo 2. Esquema de distribuição de Dsg1 e Dsg3 na pele e mucosa humanas.



Modificado de Amagai, 1999.

Anexo 3 – Protocolo de pacientes com pênfigo vulgar

**PROCOLO**  
**PACIENTES COM PÊNFIGO VULGAR**

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Natural: \_\_\_\_\_ Raça: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

Queixa principal: \_\_\_\_\_

História pregressa: \_\_\_\_\_

Acometimento de pele: \_\_\_\_\_

Acometimento de mucosa: \_\_\_\_\_

Acometimento de algum outro sistema: \_\_\_\_\_

História de tumor maligno: \_\_\_\_\_

Hábitos alimentares: \_\_\_\_\_

Doença prévia na boca: \_\_\_\_\_

Época \_\_\_\_\_ tratamento \_\_\_\_\_

Medicações em uso: \_\_\_\_\_

Exame físico:

Lesão única: \_\_\_\_\_ Lesões múltiplas: \_\_\_\_\_

Tipo: \_\_\_\_\_ Coloração: \_\_\_\_\_

Local: \_\_\_\_\_ Bordas: \_\_\_\_\_



Modificado do Ambulatório de Estomatologia da Santa Casa de São Paulo

Anexo 4. Resultados dos testes de imunofluorescência indireta

---

Pacientes	IFI diagnóstico	IFI 2º mês	IFI 4º mês
1	1:80	1:40	negativo
2	1:40	negativo	negativo
3	1:10	negativo	negativo
4	1:40	1:40	1:20
5	1:10	1:10	negativo
6	1:10	negativo	negativo
7	1:100	1:10	negativo
8	1:40	1:20	1:10
9	1:40	negativo	negativo
10	1:10	1:10	negativo
11	1:10	negativo	negativo
12	1:10	negativo	negativo
13	1:10	negativo	negativo
14	1:80	1:20	1:20
15	1:40	1:10	negativo
16	1:80	negativo	negativo
17	1:80	1:40	1:10
18	1:100	1:40	1:10

---

Anexo 5. Acometimento de pele e mucosa

Pacientes	diagnóstico	2º mês	4º mês
1	cutâneo-mucosa	cutânea	negativo
2	mucosa	negativo	negativo
3	mucosa	negativo	negativo
4	mucosa	mucosa	negativo
5	cutâneo-mucosa	mucosa	negativo
6	mucosa	negativo	negativo
7	cutâneo-mucosa	negativo	negativo
8	mucosa	negativo	negativo
9	mucosa	negativo	negativo
10	cutâneo-mucosa	negativo	negativo
11	mucosa	negativo	negativo
12	mucosa	negativo	negativo
13	mucosa	negativo	negativo
14	cutâneo-mucosa	cutânea	negativo
15	mucosa	negativo	negativo
16	mucosa	negativo	negativo
17	cutâneo-mucosa	cutânea	negativo
18	cutâneo-mucosa	cutânea	negativo

Anexo 6. Evolução do grau das lesões

Pacientes	diagnóstico	2º mês	4º mês
1	severo	severo	s/ lesão
2	leve	s/ lesão	s/ lesão
3	moderado	s/ lesão	s/ lesão
4	moderado	leve	s/ lesão
5	severo	leve	s/ lesão
6	moderado	s/ lesão	s/ lesão
7	severo	s/ lesão	s/ lesão
8	leve	s/ lesão	s/ lesão
9	leve	s/ lesão	s/ lesão
10	severo	s/ lesão	s/ lesão
11	leve	s/ lesão	s/ lesão
12	moderado	s/ lesão	s/ lesão
13	leve	s/ lesão	s/ lesão
14	severo	severo	s/ lesão
15	leve	s/ lesão	s/ lesão
16	leve	s/ lesão	s/ lesão
17	severo	severo	s/ lesão
18	severo	severo	s/ lesão

s/ lesão = ausência de lesão

Anexo 7 – Distribuição de pacientes de acordo com o título de IFI no diagnóstico, diagnóstico clínico inicial, local de resposta no segundo mês de tratamento e cura clínico-laboratorial após quatro meses de tratamento.

Título de IFI	Diagnóstico clínico inicial	Local de resposta clínica	Cura clínico-laboratorial
1:10	Cutâneo-mucosa	Cutâneo-mucosa	Sim
1:100	Cutâneo-mucosa	Cutâneo-mucosa	Sim
1:10	Cutâneo-mucosa	Cutâneo-mucosa	Sim
1:40	Mucosa	Mucosa	Sim
1:10	Mucosa	Mucosa	Sim
1:10	Mucosa	Mucosa	Sim
1:40	Mucosa	Mucosa	Sim
1:10	Mucosa	Mucosa	Sim
1:10	Mucosa	Mucosa	Sim
1:10	Mucosa	Mucosa	Sim
1:40	Mucosa	Mucosa	Sim
1:80	Mucosa	Mucosa	Sim
1:80	Cutâneo-mucosa	Mucosa	Sim
1:40	Mucosa	Mucosa	Não
1:40	Mucosa	Mucosa	Não
1:80	Cutâneo-mucosa	Mucosa	Não
1:80	Cutâneo-mucosa	Mucosa	Não
1:100	Cutâneo-mucosa	Mucosa	Não

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Autotolerância e Auto-imunidade In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Imunologia Celular & Molecular*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2000. p416-31.
- Aberer W, Wolff-Schreiner EC, Stingl G, Wolff K. Azathioprine in the treatment of pemphigus vulgaris. A long-term follow-up. *J Am Acad Dermatol* 1987;16:527-33.
- Ahmed AR, Moy R. Death in pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 1982;7:221-28.
- Ahmed AR. Pemphigus vulgaris: clinical features. *Dermatol Clin* 1983;27:580-4.
- Amagai M, Karpati S, Prussick R, Klaus-Kovtun V, Stanley J. Autoantibodies against the amino-terminal cadherin-like domain of pemphigus vulgaris are pathogenic. *J Clin Invest*, 1992;90:919-26.
- Amagai M. Autoimmunity against desmosomal cadherins in pemphigus. *J Dermatol Sci* 1999;20:92-102.
- Amagai M, Komai A, Hashimoto T, Shirakata Y, Hashimoto K, Yamada T, Kitajima Y, Ohaia K, Iwanami H, Nishikawa T. Usefulness of enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant desmogleins 1 and 3 for serodiagnosis of pemphigus. *Br J Dermatol* 1999; 140:351-57.
- Amagai, M. Desmoglein as a target in autoimmunity and infection. *J Am Acad Dermatol* 2003;48:244-52.
- Anhalt GJ, Labib RS, Voorhees JJ, Beals TF, Diaz LA. Induction of pemphigus in neonatal mice by passive transfer of IgG from patients with the disease. *N Engl J Med* 1982;306:1189-96.
- Anhalt GJ, Till GO, Diaz LA. Defining the role of complement in experimental pemphigus vulgaris in mice. *J Immunol* 1986;137:2835-40.

- Anhalt GJ, Diaz LA. Prospects for autoimmune disease: Research advances in pemphigus. *JAMA* 2001;285(5):652-4.
- Avalos E, Patel H, Anhalt GJ, Diaz LA. Autoimmune injury of squamous epithelium by pemphigus autoantibodies. *Br J Dermatol* 1984;III:359-65.
- Azulay & Azulay. *Buloses*. In: Azulay & Azulay. *Dermatologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan: 1997. p. 95-105.
- Becker BA, Gaspari AA. Pemphigus vulgaris and vegetans. *Dermatol Clin* 1993;11:429-52.
- Beutner EH, Jordon RE. Demonstration of skin antibodies in sera of pemphigus vulgaris patients by indirect immunofluorescent staining. *Proc Soc Exper Biol Med* 1964;117:505-10.
- Beutner EH, Lever WF, Whitebsky E, Jordon R, Chertock B. Autoantibodies in pemphigus vulgaris. Response to an intercellular substance of epidermis. *J.A.M.A* 1965;192:682.
- Beutner EH, Jordon RE, Chorzelski TP. The immunopathology of pemphigus e bullous pemphigoid. *J Invest Derm* 1968;51:63-80.
- Braun-Falco O, Vogell W. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Dynamik der Akantholyse bei Pemphigus vulgaris. *Arch Klin Exper Derm* 1965;223:533.
- Burgan SZ, Sawair FA, Napier SS. Case report: oral pemphigus vulgaris with multiple oral polyps in a young patient. *Int Dent Journal* 2003;53:37-40.
- Bystryn J-C. Adjuvant therapy of pemphigus. *Arch Dermatol* 1984;120:941-51.
- Caproni M, Giomi B, Cardinali C, Salvatore E, Pestelli E, D'Agata A. Further support for a role for Th2- like cytokines in blister formation of pemphigus. *Clin Immun* 2001; 98:264-71.
- Carson PJ, Hameed A, Ahmed AR. Influence of treatment on the clinical course of pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:645-52.
- Chorzelski T, Weiss JF von, Lever WF. Clinical significance of autoantibodies in pemphigus. *Arch Derm* 1966;93:570-76.
- Chow S, Rizzo C, Ravitskiy L, Sinha AA. The role of T cells in cutaneous autoimmune disease. *Autoimmun* 2005;38(4):303-17.
- Chowdhury MMU, Natarajan S. Neonatal pemphigus vulgaris associated with mild oral pemphigus vulgaris in the mother during pregnancy. *Br J Dermatol* 1998;139:500-3.
- Civatte A. Diagnostic histopathologique de la dermatite polymorphe douloureuse ou maladie de Duhring-Brocq. *Ann Derm et Syph* 1943;3:1.
- Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of antibody containing a fluorescent group. *Proc Soc Exper Biol Med* 1941;47:200-02.
- Coons AH, Kaplan MH. Localization of an antigen in tissue cells II – improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J Exper Med* 1950;91:1-13.
- Cormane RH, Chorzelski TP. “Bound” complement in the epidermis of patients with pemphigus vulgaris. *Dermatol* 1967;134:463.
- Cormane RH, Petzoldt D. Immunofluorescence studies on the affinity of pemphigus antibodies to epithelial intercellular substances. *Dermatol* 1970;140:1-8.
- Cozzani E, Kanitakis J, Nicolas JF. Comparative study of indirect immunofluorescence and immunoblotting in the diagnosis of pemphigus. *Arch Dermatol* 1994;286:295-9.
- Creswell SN, Black MM, Bhogal B, Skeete MVH. Correlation of circulating intercellular antibody titres in pemphigus with disease activity. *Clin Exper Dermatol* 1981;6:477-83.
- David M, Weissman-Katzenelson V, Ben-Chetrit A, Hazaz B, Ingber A, Sandbank M. The usefulness of immunofluorescent tests in pemphigus patients in clinical remission. *Br J Dermatol* 1989;120:391-95.

- Enk AH, Knop J. Treatment of pemphigus vulgaris with mycophenolate mofetil. *Lancet* 1997;350:494-96.
- Eyre RW, Stanley JR. Identification of pemphigus vulgaris antigen extracted from normal human epidermis and comparison with pemphigus foliaceus antigen. *J Clin Invest* 1988;81:807-12.
- Feibelman C, Stolzner G, Provost, TT. Pemphigus Vulgaris. Superior sensitivity of monkey esophagus in the determination of pemphigus antibody. *Arch Dermatol* 1981;117:561-2.
- Fitzpatrick RE, Newcomer VD. The correlation of disease activity and antibody titers in pemphigus. *Arch Dermatol* 1980;116:285-90.
- Friedman H, Campbell IT, Rocha Alvarez R, Diaz LA, Martins de Castro R, Roitman I, Parreiras RM, Raick AN. Imunofluorescência indireta no pênfigo foliáceo endêmico. Contribuição para sua padronização. *Rev. Inst Med Trop* 1989;31:158-68.
- Gately LE, Nesbitt LT. Update on immunofluorescent testing in bullous diseases and lupus erythematosus. *Dermatol Clin* 1994; 12:133-42.
- Glorio RR, Costa GR, Haas R, Larriba J, Fainboim L, Woscoff A. Determinación por PCR de la asociación entre antígenos HLA clase II y pênfigo vulgar. *Medicina* 1999;59:28-32.
- Goldwasser RA, Shepard CC. Staining of complement and modification of fluorescent antibody procedures. *J Immunol* 1958; 80:122-31.
- González-Escribano MF, Jiménez G, Walter K, Montes M, Perez-Bernal AM, Rodríguez MR. Distribution of HLA class II alleles among Spanish patients with pemphigus vulgaris. *Tissue Antigens* 1998;52:275-78.
- Grinspan D. Enfermedades adquiridas de localización preferentemente cutaneomucosa. In: Grinspan D. *Enfermedades de la Boca*. Buenos Aires: Editorial Mundi; 1973. p. 1301-30.
- Harman KE, Gratian MJ, Bhogal BS, Challacombe SJ, Black MM. A study of desmoglein 1 autoantibodies in pemphigus vulgaris: racial differences in frequency and the association with a more severe phenotype. *Br J Dermatol* 2000;143:343-48.
- Harman KE, Seed PT, Gratian MJ, Bhogal, BS, Challacombe SJ, Black MM. The severity of cutaneous and oral pemphigus in related to desmoglein 1 and 3 antibody levels. *Br J Dermatol* 2001;144:775-80.
- Hertl M, Riechers R. Analysis of the T cells that are potentially involved in autoantibody production in pemphigus vulgaris. *J Dermatol* 1999;26(11):748-52.
- Herzog S, Schimidt E, Goebeler M, Bröcker E-B, Zillikens D. Serum levels of autoantibodies to desmoglein 3 in patients with therapy-resistant pemphigus vulgaris successfully treated with adjuvant intravenous immunoglobulins. *Acta Derm Venereol* 2004;84:48-52.
- Hietanen J, Salo OP. Pemphigus: an epidemiological study of patients treated in Finnish hospitals between 1969 and 1978. *Acta Derm Venereol* 1982; 62:491.
- Ioannides D, Hytioglou P, Phelps RG, Bystry J-C. Regional variation in the expression of pemphigus foliaceus, pemphigus erythematosus and pemphigus vulgaris antigens in human skin. *J Invest Dermatol* 1991;96:159-61.
- Ishii K, Amagai M, Ohata Y, Shimizu H, Hashimoto T, Ohya K. Development of pemphigus vulgaris in patient with pemphigus foliaceus: antidesmoglein antibody profile shift confirmed by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:859-61.
- Jamora MJJ, Jiao D, Bystry J-C. Antibodies to desmoglein 1 and 3, and the clinical phenotype of pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 2003;48:976-77.
- Jarzabek-Chorzelska M, Strasz-Kolacnska Z, Sulej J, Jablonska S. The use of two substrates for indirect immunofluorescence in the diagnosis of pemphigus. *Br J Dermatol* 2001;145:178-81.

- Jordon RE, Triftshauser CT, Schroeter AL. Direct immunofluorescent studies of pemphigus and bulous pemphigoid. *Arch Derm* 1971; 103:486-91.
- Judd KP, Lever WF. Correlation of antibodies in skin and serum with disease severity in pemphigus 1979;115:428-32.
- Kanitakis J. Indirect immunofluorescence microscopy for the serological diagnosis of autoimmune blistering skin diseases: a review. *Clinics in Dermatol* 2001;19:614-21.
- Koch PJ, Mahoney MG, Ishikava H. Targeted disruption of the pemphigus vulgaris antigen (desmoglein 3) gene in mice causes loss of keratinocyte cell adhesion with a phenotype similar to pemphigus vulgaris. *J Cell Biol* 1997;137:1091-102.
- Kowalczyk AP, Bornslaeger EA, Norvell SM, Palka HL, Green KJ. Desmosomes: intercellular adhesive junctions specialized for attachment of intermediate filaments. *Int Rev Cytol* 1999;185:237-302.
- Krain LS. Pemphigus: Epidemiologic and survival characteristics of 59 patients, 1955-1973. *Arch Dermatol* 1974; 110:862-65.
- Krain LS, Bierman SM. Pemphigus vulgaris and internal malignancy. *Cancer* 1974;33:1091-99.
- Krasny S, Beutner E, Chorzelski T. Specificity and sensitivity of indirect and direct immunofluorescence findings in the diagnosis of pemphigus. In: Beutner E, Chorzelski T, Kumar V, editors. *Immunopathology of the skin 3<sup>rd</sup> ed.* New York: Wiley, 1987; p.207-47.
- Levene GM. The treatment of pemphigus and pemphigoid. *Clin Exp Dermatol* 1982;7:643-52.
- Lever WF. Pemphigus and Pemphigoid. Springfield, IL: Charles C. Thomas Publisher; 1965.
- Lever WF. Methotrexate and prednisone in pemphigus vulgaris: therapeutic results obtained in 36 patients between 1961 and 1970. *Arch Dermatol* 1972;106:491-97.
- Lever WF, Schaumburg-Lever G. Immunosuppressants and prednisone in pemphigus vulgaris. Therapeutic results obtained in 63 patients between 1961 and 1975. *Arch Dermatol* 1977;113:1236-41.
- Lever WF, Schaumburg-Lever G. Treatment of pemphigus vulgaris. Results obtained in 84 patients between 1961 and 1982. *Arch Dermatol* 1984;120:44-7.
- Lin MS, Swartz SJ, Lopez A, Ding X, Fairley JA. T lymphocytes from a subset of patients with pemphigus vulgaris respond to both desmoglein-3 and desmoglein-1. *J Invest Dermatol* 1997;109:734-37.
- Maceira JP, Souza Marques A. Pênfigo. Estudos de imunofluorescência em 40 casos observados no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *An bras Dermatol* 1990;65:113-115.
- Morrison LH. Direct immunofluorescence microscopy in the diagnosis of autoimmune bullous dermatoses. *Clin Dermatol* 2001;19:607-13.
- Neville BW. Pemphigus. In: *Oral Maxillofacial Pathology*. Philadelphia: WB.Saunders; 1995. p. 559-61.
- Nousari HC, Anhalt GJ. Pemphigus and bullous pemphigoid. *The Lancet* 1999;354(9179):667-72.
- O'Loughlin S, Goldman GC, Provost TT. Fate of pemphigus antibody following successful therapy 1978;114:1769-72.
- Park MS, Terasaki PI, Ahmed AR, Twari JL. HLA-DRw4 in 91% of Jewish pemphigus vulgaris patients. *Lancet* 1979;2:441.
- Parlowsky T, Welzel J, Amagai M, Zillikens D, Wygold T. Neonatal pemphigus vulgaris: IgG4 autoantibodies to desmoglein 3 induce skin blisters in newborns. *J Am Acad Dermatol* 2003;48:623-25.
- Piamphongsant T, Ophaswongse S. Treatment of pemphigus. *Int J Dermatol* 1991;30:139-46.

- Pisanti S. Pemphigus vulgaris: incidence in jews of different ethnic groups, according to age, sex and initial lesion. *Oral surg Oral Med Oral Pathol* 1974; 38:382.
- PL N Patricia, Thng TGS, Mohamed K, Tan HS. Comparison of desmoglein Elisa and indirect immunofluorescence using two substrates (monkey oesophagus and normal human skin) in the diagnosis of pemphigus. *Aust J Dermatol* 2005;46:239-41.
- Proença NG, Alonso FF, Porro AM. Doenças bolhosas In: Atualização terapêutica 1999 – Manual prático de diagnóstico e tratamento. 19ª ed. São Paulo: Artes Médicas; 1999. p.718-19.
- Ratnam KV, Phay KL, Tan CK. Pemphigus therapy with oral prednisolone regimens. A 5-Year Study. *Int J Dermatol* 1990;29:363-67.
- Ratnam KV, Pang BK. Pemphigus in remission: value of negative direct immunofluorescence in management. *J Am Acad Dermatol* 1994;30:547-50.
- Regeze JA, Scrubba JJ. Condições associadas a defeitos imunológicos. In: Patologia Bucal, Correlações clínicopatológicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.10-17.
- Riechers R, Grotzinger J, Hertl M. HLA class II restriction of autoreactive T cell responses in pemphigus vulgaris: review of the literature and potential applications for the development of a specific immunotherapy. *Autoimm* 1999;30:183-96.
- Rivitti EA, Oliveira ZNP, Díaz LA, Miyauchil LM. As técnicas de imunofluorescência e sua contribuição ao estudo da patogenia dos pênfigos. *An bras Dermatol* 1990;65:8S-12S.
- Rosenberg FR, Sanders S, Nelson, CT. Pemphigus: A 20-year review of 107 patients treated corticosteroids. *Arch Dermatol* 1976;112:962-70.
- Sabolinski ML, Beutner EH, Krasny S, Kumar V, Huang J, Chorzelski TP, Sampaio S, Bystryn JC. Substrate specificity of anti-epithelial antibodies of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus será in immunofluorescence tests on monkey and guinea pig esophagus sections. *J Invest Dermatol* 1987;88:545-49.
- Sampaio SAP, Rivitti EA. Erupções Vésico-bolhosas. In: Sampaio & Rivitti. *Dermatologia*. São Paulo: Artes Médicas; 1998. p. 230-248.
- Sampaio SAP, Almeida Jr HL, Cucé LC, Mendes AC, Scatena L. Plasmaférese no tratamento de pênfigo vulgar e foliáceo endêmico (fogo selvagem). *An bras Dermatol* 1987;62:257-60.
- Sams WMJ, Jordon RE. Correlation of pemphigoid and pemphigus antibody titres with activity of disease. *Br J Dermatol* 1971;84:7-13.
- Savin JA. Some factors affecting prognosis in pemphigus vulgaris and pemphigoid. *Br J Dermatol* 1981;104:415-20.
- Schlitz JR, Micheal B. Production of epidermal acantholysis in normal human skin in vitro by the IgG fraction from pemphigus serum. *J Invest Dermatol* 1976;67:254-60.
- Seidenbaum M, David M, Sandbank M. The course and prognosis of pemphigus. A review of 115 patients. *Int J Dermatol* 1988;27:580-84
- Shafer WG. Doenças da Pele. In: Tratado de Patologia Bucal. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1987. p. 765-71.
- Silva L, Landman G, Bussoloti Filho I. Doenças Vesico Bolhosas da Mucosa Oral In: Tratado de Otorrinolaringologia. São Paulo: Roca;2003. p.390-408.
- Simon DG. Pemphigus in Hartford County, Connecticut, from 1972 to 1977. *Arch Dermatol* 1980;116:1035.
- Stanley JR. Therapy of Pemphigus Vulgaris. *Arch Dermatol* 1999;135:76-8.
- Stanley JR. Pemphigus. In: Fitzpatrick's *Dermatology in General Medicine*, 5<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 1999. p. 654-66.

- Stringa SG, Bianchi C, Casalá A, Inglesini C, Bianchi O. Hallazgo del complemento (C'3) y gammaglobulina IgG, em piel de enfermos de pênfigo: estúdio immunofluorescente. Ver Argent Derm 1966;50:126.
- Tron F, Gilbert D, Mouquet H, Joly P, Drouot L, Makni S, Masmoudi H, Charron D, Zitouni M, Loiseau P, Bem Ayed M. Genetic factors in pemphigus. J Autoimmun 2005;24(4):319-28.
- Udey MC, Stanley JR. Pênfigo: Doenças da Autoimunidade Antidesmossomas. JamaBrasil 2000;4:2927-32.
- Waldorf DS, Smith CW, Strauss AJL. Immunofluorescent studies in pemphigus vulgaris. Arch Derm 1966;93:28-33.
- Weissman V, Feuerman EJ, Joshua H, Hazaz B. The correlation between the antibody titers in sera of patients with pemphigus vulgaris and their clinical state. J Invest Dermatol 1978;71:107-9.
- Weller TH, Coons AH. Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro. Proc Soc Exper Biol Med 1954;86:789-94.
- Werth VP. Treatment of pemphigus vulgaris with brief, high-dose intravenous glucocorticoids. Arch Dermatol 1996;132:1435-39.
- Wilgram GE, Caulfield JB, Lever WF. An electron microscopic study of acantholysis in pemphigus vulgaris. J Invest Derm 1961;36:373.
- Wucherpfennig KW, Yu B, Bhol K. Structural basis for major histocompatibility complex (MHC) linked susceptibility to autoimmunity: charged residues of a single MHC binding pocket confer selective presentation of self-peptides in pemphigus vulgaris. Proc Natl Acad Sc USA. 1995;92:11935-39.
- Zagorodniuk I, Weltfriend S, Shtruminger L, Sprecher E, Kogan O, Pollack S, Bergman R. A comparison of anti-desmoglein antibodies and indirect immunofluorescence in the serodiagnosis of pemphigus vulgaris. Int J Dermatol 2005;44:541-44.

#### FONTES CONSULTADAS

Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR-6023: Informação e documentação, referências-elaboração. Rio de Janeiro; 2000.

Cunha AC. Estrutura e Apresentação de Dissertações e teses. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1991. 48p.

Guedes MLS; Guedes JS. Descrição da Amostra: Tabelas e Gráficos. In: Guedes MLS; Guedes JS Bioestatística para profissionais de saúde. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico; 1988. p.43-58.

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. N Eng J Med 1997; 336(4): 309-16.

International Committee of Medical Journal Editors. Requisitos uniformes para manuscritos apresentados a periódicos biomédicos. Rev Saúde Pública, 1999; 33:6-15.

Rother ET, Braga MER. Como elaborar sua tese: estrutura e referências. São Paulo, 2001. 85p.

Walker JR. MLA. Style citations of electronic sources. [online]. Available from: <http://www.cas.usf.edu/english/walker/mla.html>

Michaelis. Minidicionário Inglês-Português Português-Inglês. 1989 Cia Melhoramentos de São Paulo.

Grande Dicionário de Sinônimos e Antônimos 17ª ed Ediouro Publicações Rio de Janeiro, 2000.

Normatização para apresentação de dissertações e teses. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 2004.

## RESUMO

O pênfigo vulgar (PV) é a forma mais comum dos pênfigos que atinge a boca e a orofaringe. Possui características de doença imuno-mediada. É causada por anticorpos anti-desmogleínicos, que provocam a acantólise celular seguida de formação de bolhas e ulcerações na pele e mucosa.

Para se obter o diagnóstico, avalia-se a história e o quadro clínico e, utiliza-se o exame histopatológico, a imunofluorescência direta (IFD) e a imunofluorescência indireta (IFI).

A IFI evidencia os títulos de anticorpos no sangue do paciente. Estes valores variam de acordo com a atividade da doença e podem servir como parâmetro para controle clínico e terapêutico.

Neste trabalho, foi descrito a titulação da IFI em 18 pacientes com PV no momento do diagnóstico e após dois e quatro meses de tratamento. Na população estudada, o PV possuiu um caráter benigno. Os títulos da IFI não atingiram valores altos como os descritos na literatura e houve correlação direta entre os títulos de anticorpos e a atividade da doença.

## ABSTRACT

The pemphigus vulgaris (PV) is the most common form of pemphigus that affects the mouth and the oropharynx. It has immunomediante disease characteristics. Is caused by antidesmogleins antibodies, which promote cellular acantholysis followed by blisters and ulceration formation on the skin and the mucous membranes.

To obtain the diagnosis we value the patient history and the clinic, and make use of histopathology, direct immunofluorescence (DIF) and indirect immunofluorescence (IIF).

The IIF shows the antibodies titers in the patient blood. These numbers vary in accordance with the disease activity and are useful as a parameter for the clinic and therapy controls.

This work describes the antibodies titers of IIF in 18 PV patients at the moment of diagnosis and after two and four months therapy. In this studied population, the PV had a benign character. The titers of IIF didn't reach high levels as seen in literature and there was a good correlation between indirect immunofluorescence antibody titer and disease activity.



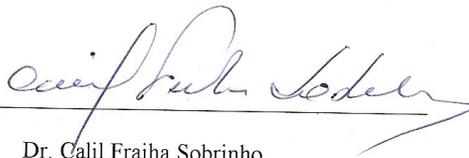
## APÊNDICE

**CLÍNICA PROFESSOR JOSÉ KÓS**  
**OUVIDOS-NARIZ-GARGANTA**

Rio de Janeiro, 05 de março de 2000.

Ilmo.(a) Dra. Paula Moreno

O Comitê de Ética em Pesquisa da Clínica Professor José Kós, no cumprimento de suas atribuições, avaliou e aprovou seu projeto de pesquisa intitulado de: "Titulação de Imunofluorescência Indireta no Pênfigo Vulgar – Correlação com a evolução clínica durante corticoterapia", e salienta que é necessário o envio de relatório semestral para este comitê sobre o andamento deste projeto.



Dr. Calil Fraiha Sobrinho

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
CPJK

Rua Moncorvo Filho, 104 – Centro

Rio de Janeiro – Tel: (21) 22528148

20º OFÍCIO DE NOTAS - NOTÁRIA VERA LÚCIA CARIO SEQUEIRA  
AV. ALMIRANTE BARROSO, 2 - SBLJ. - TEL.: (21) 2220-9545 - RJ

Reconheço, por SEMELHANÇA, a(s) firma(s) de CALIL FRAIHA SOBRINHO  
XXXXX XXXX XXXX XXXX

Válido somente com selo de fiscalização Rio de Janeiro, 18/04/2006  
Wandria Regina Cario Lobão - substituta - mas

Firma: 0,70 P.Dados: 2,54 Outros: 0,64 Total: 3,88

1ATO TNK  
IOL72092





# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)