

ANATOMOPATOLOGIA E IMUNOFLORESCÊNCIA DIRETA E INDIRETA DAS LESÕES DE PÊNFIGO FOLIÁCEO ENDÊMICO RESISTENTES À CORTICOTERAPIA (1)

Vitor Manoel Silva dos REIS (2), Luiz Carlos CUCÉ (3) & Evandro Ararigbóia RIVITTI (4)

RESUMO

São estudados 16 doentes de pênfigo foliáceo endêmico (PFE), sob tratamento com corticosteróides, que ainda apresentavam lesões eritemato-pápulo-verrucosas, geralmente hiperpigmentadas, que foram caracterizadas como lesões resistentes à corticoterapia (LRC).

O estudo destas lesões foi feito através de anatomopatologia e de imunofluorescência direta (IFD).

Anatomopatologicamente essas lesões mostraram tendência à hiperplasia epitelial e clivagem em níveis variáveis na epiderme o que difere dos achados nas lesões recentes do PFE e coincide com os achados nas lesões crônicas do PFE da era pré-corticóide.

A IFD da pele lesada foi positiva para IgG em 93,75% dos casos, como ocorre nas fases iniciais do PFE, tendo sido negativa no único caso em que não houve clivagem.

Adicionalmente, em oito desses doentes, foram estudados a IFD da pele sã e a imunofluorescência indireta (IFI). A IFD foi positiva em três destes casos e a IFI foi negativa nos oito.

UNITERMOS: Pênfigo foliáceo; Corticóide; Imunofluorescência; Anatomopatologia.

INTRODUÇÃO

O PFE, também referido como pênfigo foliáceo brasileiro, pênfigo foliáceo sul-americano ou "fogo-selvagem", difere do pênfigo foliáceo de Cazenave pela sua distribuição endêmica no Brasil e alguns países sul-americanos. No Estado de São Paulo, vem diminuindo a incidência do PFE, desde 1977, segundo PROENÇA¹².

Clinicamente, o PFE se apresenta em quatro períodos de evolução: inicial (pré-invasivo; frus-

to; Síndrome de Senear-Usher); de invasão bolhosa; de estado e de regressão³.

Autores brasileiros creem que a Síndrome de Senear-Usher, como foi relatada por CHORZELSKI et al⁴, em 1968, no que tange à presença de IgG e C na junção dermo-epidérmica, não existe no Brasil.

O período inicial do PFE é muito semelhante

(1) Dissertação de Mestrado apresentada à Escola Paulista de Medicina. Curso de Pós-Graduação. Área de Dermatologia. São Paulo, SP, Brasil.

(2) Prof. Adjunto de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Santo Amaro (OSEC). São Paulo, SP, Brasil.

(3) Prof. Titular de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Santo Amaro (OSEC). São Paulo, SP, Brasil.

(4) Prof. Titular de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Dr. Vitor Manoel Silva dos Reis. Av. Santo Amaro, 6554. CEP 04702, São Paulo, SP, Brasil.

ao de regressão que ocorre pelo tratamento, ou naturalmente.

Atualmente, encontramos grande número de casos de PFE, que apesar do longo tempo de tratamento, ainda apresentam lesões em pequeno número, eritematosas, hiperocrômicas, verrucosas, crostosas ou mesmo papilomatosas. São as chamadas lesões de PFE resistentes à corticoterapia (LRC).

VIEIRA¹³, em 1948, descreveu lesões persistentes em casos de remissão espontânea, superponíveis clinicamente às LRC.

HADLER⁷, em 1947, descrevera lesões na fase de regressão da doença, apresentando acantose e células disqueratósicas na epiderme e aumento de pigmento melânico, principalmente na derme.

ALAYON¹, em 1948, também descreveu alterações histopatológicas semelhantes às descritas por Hadler.

ALEIXO², em 1962, estudou os vários aspectos das lesões que persistem após o tratamento, as quais geralmente são vistas nas áreas seboreicas. Neste estudo foram feitos exames histopatológicos de várias lesões resistentes à terapia, em 10 pacientes.

PROENÇA et al¹¹, em 1971, descreveram a clínica das LRC em doentes com PFE, distinguindo perfeitamente as LRC das lesões residuais do PFE. Nesse trabalho, os autores chamam a atenção para a importância do estudo das LRC no PFE, pois pela sua localização, acarretam problemas de ordem estética. Além disso, destacam a alta frequência dessas lesões e o potencial de recidiva desses doentes. Examinaram 111 pacientes, encontrando em 27,97% LRC.

NANNI¹⁰, em 1976, estudou 38 doentes com PFE, sob tratamento com corticosteróides, em fase regressiva, apresentando lesões cutâneas resistentes. A autora levou em consideração as alterações histopatológicas das LRC, tendo chegado à conclusão que clinicamente há diferenças entre as chamadas LRC e as lesões residuais encontradas em casos de PFE em remissão espontânea, sendo que nas primeiras, ao contrário das

últimas, ocorre o descolamento da epiderme pela pressão digital e deslizamento (sinal de Nikolski). Além disso, histopatologicamente também é possível diferenciá-las, sendo que nas LRC há acantólise que corresponde ao local do descolamento por fricção da epiderme.

Surgiu, a partir destes trabalhos, a necessidade de pesquisar, nos casos que apresentam LRC, a presença de anticorpos circulantes no soro e o depósito de anticorpos antiepitéliais nos espaços intercelulares da epiderme. Foi, portanto, esse o objetivo do nosso estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Material clínico

Foram estudados 16 doentes de PFE atendidos no Complexo Hospitalar de Guarulhos (antigo Hospital Adhemar de Barros), todos com diagnóstico confirmado clínica e histopatologicamente.

O grupo de 16 doentes era composto de nove mulheres e sete homens, cujas idades variavam de 16 a 58 anos, sendo a média de idade 37,8 anos; 12 eram brancos e quatro negros.

O tempo de duração da moléstia, na época do estudo dos doentes, variava de seis meses a 14 anos, com uma média, no grupo, de quatro anos e três meses.

Levamos em consideração apenas a presença de lesões hiperocrômicas e verrucosas persistentes no paciente sob corticoterapia (LRC) e a ausência de lesões bolhosas.

A dose de corticóide (triamcinolona) que este grupo de doentes usava, variou de 4 mg a 40 mg diários, sendo a média de 12,74 mg diários (Tab. 1).

Métodos

1) Todos os doentes foram submetidos à biópsia de lesões localizadas em áreas geralmente não expostas à luz solar (Tab. 2), através de "punch" de 4 mm de diâmetro, após anestesia local com xilocaína sem vasoconstrictor.

TABELA 1
Distribuição dos doentes por sexo, idade, cor, dose de corticóide, tempo de moléstia.

Doentes	Sexo	Idade/Anos	Cor	Triamcinolona	Duração-moléstia
1	M	58	B	40 mg/dia	2a
2	F	32	P	8 mg/dia	3a
3	F	34	P	8 mg/dia	3a
4	M	17	B	16 mg/dia	2 a 6 m
5	F	18	B	8 mg/dia	6m
6	F	50	B	8 mg/dia	9a
7	M	16	B	8 mg/dia	1a
8	F	54	B	8 mg/dia	13a
9	F	42	P	8 mg/dia	5a
10	M	51	B	8 mg/dia	4a
11	F	20	B	4 mg/dia	2a
12	M	49	P	40 mg/dia	1a
13	M	55	B	12 mg/dia	14a
14	F	35	B	12 mg/dia	4a
15	F	54	B	12 mg/dia	4a
16	M	21	B	4 mg/dia	3a

M — masculino; F — feminino; P — preto; B — branco; a — anos; m — meses.

TABELA 2
Local da coleta das biópsias da pele lesada (LRC)

Local	Número de pacientes
Torax anterior	09
Torax posterior	05
Nuca	01
Coxa	01
TOTAL	16

O material obtido foi cortado ao meio, sendo uma das partes fixada em formol a 10% e enviada para exame anatomopatológico, sendo processado pela técnica de rotina e corada pela hematoxilina eosina (HE). A outra parte do material, envolvida em papel alumínio e guardada em recipiente contendo neve carbônica, foi enviada ao laboratório para estudo de IFD.

2) Foi também procedida a tomada de biópsia de pele normal na região proximal do dorso do antebraço, em oito desses doentes, sendo os materiais igualmente encaminhados para IFD.

3) No laboratório esse material foi processado seguindo a técnica usual onde foi utilizado "phosphate buffered saline" (PBS) pH 7,2 como tampão. Os conjugados específicos foram diluí-

dos em azul de Evans, cujos títulos e procedências são: anti-IgG, 1/64 (marca Cappel); anti-IgM, 1/20 (marca Hoechst); anti-IgA, 1/120 (marca Hoechst) e anti-complemento (C₃), 1/20 (marca Hoechst).

4) Os oito doentes que foram submetidos à biópsia da pele normal, tiveram amostras do seu sangue coletadas para exame de IFI, através da técnica modificada por MATIS e col⁹, utilizando-se os vários conjugados específicos.

Nos exames de imunofluorescência foi utilizado o microscópio Zeiss, com sistema de epi-iluminação com lâmpada de halogênio.

RESULTADOS

A - Resultados dos exames anatomopatológicos das LRC

Hipergranulose foi encontrada em seis casos dos 16 estudados, hiperqueratose em 13 casos, acantose em 15 casos e papilomatose em 14 casos (Tab. 3).

Encontramos clivagem a nível da camada granulosa em 11 casos, a nível subcórneo em dois

TABELA 3
Alterações anatomopatológicas

Doente	Doente
1 — E (sc)	9 — BCDE (im)
2 — BCD	10 — ABCDE (g)
3 — ABCDE (g)	11 — BCDE (g)
4 — BCDE (g)	12 — BCDE (g)
5 — BCDE (sb)	13 — BCDE (sc)
6 — CE (g)	14 — ABCDE (g)
7 — CDE (g)	15 — ABCDE (g)
8 — ABCDE (g)	16 — ABCDE (g)

A: hipergranulose; B: hiperqueratose; C: acantose; D: papilomatose; E: clivagem e acantólise; sc: subcórnea; sb: supra-basal; im: intramalpighiana; g: granulosa.

casos, a nível intramalpighiano em um caso, a nível supra-basal em um caso; não encontramos clivagem em um caso. A área de clivagem era variável, mas em geral era pequena. Acantólise foi vista em 14 casos.

Em alguns casos, as células acantolíticas da camada granulosa adquiriam aspecto disqueratótico, semelhante às células disqueratóticas observadas na moléstia de Darier.

B - Resultados da IFD das LRC

Nos 16 doentes foram feitos exames de IFD na pele lesada. (Tab. 4).

Em 15 casos (97,75%), foi encontrada a deposição de IgG nos espaços intercelulares da epiderme e em um caso o exame não detectou a deposição de nenhum conjugado utilizado.

Dos 15 casos com depósito de IgG intercelular, dois mostravam concomitantemente depósitos de IgM na zona da membrana basal e, um, depósito de C₃ na zona da membrana basal.

TABELA 4
Imunofluorescência direta da pele lesada.

Doente	Doente
1 — IgG ic	9 — IgG ic
2 — negativa	10 — IgG ic
3 — IgG ic	11 — IgG ic
4 — IgG ic	12 — IgG ic
5 — IgG ic	13 — IgG ic
6 — IgG ic, C ₃ zmb	14 — IgG ic, IgM zmb
7 — IgG ic	15 — IgG ic, IgM zmb
8 — IgG ic	16 — IgG ic

IgG: imunoglobulina G; IgM: imunoglobulina M; C₃: fração 3 do complemento; ic: intercelular; zmb: zona da membrana basal.

C - Resultados da IFD da pele sã

Oito doentes foram submetidos a biópsia de pele sã em área exposta à luz solar, para IFD.

Não houve depósito de qualquer conjugado em cinco casos, porém em três casos (37,5%) a IFD foi positiva: no caso cinco houve depósito com padrão granuloso discreto, intercelular, de IgG e C₃; no caso sete houve depósito de IgG intercelular focal; e no caso três houve depósito de IgG intercelular, discreto.

D - Resultados da IFI

Foram coletadas amostras séricas de oito doentes, para IFI, sendo todos negativos para os conjugados específicos utilizados.

DISCUSSÃO

A análise anatomopatológica das LRC dos 16 doentes estudados demonstrou hiperplasia das diversas camadas da epiderme.

Acantose esteve presente em 15 casos (93,75%), hiperqueratose em 13 casos (81,25%) e hipergranulose em seis casos (37,5%).

Acompanhando estes fenômenos hiperplásicos, encontramos papilomatose em 14 casos (87,15%).

Estes achados são coincidentes com o quadro anatomopatológico das lesões crônicas do pénfigo foliáceo, descrito por VIEIRA em 1948¹³, ALAYON em 1948¹, FURTADO em 1959⁶ e LEVER em 1975⁸.

LEVER em 1975⁸, descreveu também células acantolíticas na camada granulosa, que se assemelhavam as células disqueratóticas observadas na moléstia de Darier, o que também observamos nos doentes estudados.

Alterações hiperplásicas da epiderme foram descritas por NANNI em 1976¹⁰ e ALEIXO em 1962² ao estudarem LRC e foram por eles interpretadas como tentativa de regeneração epidérmica.

A variação do nível de clivagem, que em 68,75% dos casos ocorria na camada granulosa,

em 12,5% entre a camada granulosa e a córnea, em 6,25% na camada malpighiana e em 6,25% na camada suprabasal da epiderme, pode ser explicada por essa tendência à regeneração epidérmica. Em apenas um caso não havia clivagem.

A clivagem das lesões recentes do PFE ocorre quase invariavelmente a nível da granulosa ou imediatamente abaixo da camada córnea, porém, pode ocorrer em vários níveis epidérmicos, inclusive na camada suprabasal, de maneira similar ao que descreve ALEIXO em 1962², nas LRC.

A clivagem nos casos por nós estudados estava presente em 93,75%, mas em grau variável, nunca chegando a ser intensa como geralmente ocorre nas lesões recentes do PFE.

Portanto, o quadro anatomopatológico das LRC não é totalmente superponível ao das lesões recentes do PFE.

Ao mesmo tempo achamos que o termo "lesão residual", aplicado na literatura a lesões crônicas ou lesões que resistem à corticoterapia, deve ser utilizado apenas para se referir a lesões maculosas e hipercrômicas, como sugeriram PROENÇA et al, em 1971¹¹.

As lesões que resistem à corticoterapia parecem ser, clínica e histologicamente, superponíveis às lesões antigas ou crônicas referidas na literatura, na era pré-corticóide.

Na IFD das LRC observa-se positividade para IgG a nível da epiderme, com depósitos intercelulares em 93,75% dos casos, de maneira similar ao que se encontra na literatura.

No nosso estudo, três casos em que havia depósitos de IgG intercelular na epiderme, mostraram, concomitantemente, depósito de outro conjugado utilizado, na zona da membrana basal: dois mostravam depósitos de IgM e um mostrava depósito de C₃, nesta área.

O depósito de imunoglobulina e complemento, na junção dermo-epidérmica, que caracteriza a Síndrome de Senear-Usher, conforme relataram CHORZELSKI et al⁴ em 1968, não havia ainda sido descrito em nenhuma fase do PFE.

Considerando que o quadro clínico dos pacientes que apresentam LRC é muito semelhante à fase clínica inicial do PFE e, ainda mais que a Síndrome de "Senear-Usher", para a grande maioria dos autores brasileiros, é apenas a fase inicial do PFE, constitui fato relevante o achado de depósitos de IgM e C₃ na junção dermo-epidérmica desses três doentes em nosso estudo.

Vale registrar que não conhecemos relato da presença de qualquer conjugado a nível da junção dermo-epidérmica, em casos iniciais de PFE.

A IFD da pele sã, efetuada em oito doentes, demonstrou em apenas três (37,5%) a presença de depósitos de IgG intercelulares na epiderme, que era discreta, focal ou de padrão granuloso. No caso em que o depósito de IgG era granuloso, também havia depósito de C₃ granuloso intercelular.

As áreas escolhidas para a coleta da pele sã eram expostas ao sol, onde eventualmente ocorre deposição de imunoglobulinas na zona da membrana basal, considerada inespecífica. Nos casos por nós estudados não houve este tipo de depósito.

Saliente-se, entretanto, que houve casos positivos para IgG ou C₃, nos quais os depósitos não assumiram um padrão intercelular intenso, contínuo ou total, como ocorreu na IFD da pele lesada.

O caso 2 (Tab. 4), que não apresentou depósito de imunoglobulina na pele lesada, também não apresentou depósitos na pele sã exposta e foi o único caso em que não havia clivagem e acantólise no exame anatomopatológico.

Ressaltamos esse fato, pois parece evidenciar que realmente a presença de anticorpos na epiderme é condição necessária para a formação de clivagem. Apesar disso, a paciente apresentava lesões hipercrômicas com tendência a verrucosidade.

Achamos que a IFD da pele lesada é o melhor parâmetro para se avaliar a atividade da doença.

Os exames de IFI foram efetuados em oito doentes, segundo a técnica modificada por MATIS et al⁹ anteriormente citada, procurando-se melhorar a sensibilidade deste exame, de acordo com a tendência de usar Ca⁺⁺, adicionado a uma substância tampão; utilizou-se como substrato o prepúcio fresco, com a finalidade de aumentar a sensibilidade na detecção de auto-anticorpos dos pênfigos, como sugeriu FRIEDMAN em 1988⁵.

Apesar de todos esses cuidados, não houve no soro em nenhum dos casos estudados, a detecção de anticorpos circulantes.

CONCLUSÕES

1. As LRC do PFE são correspondentes clínica e histopatologicamente às lesões em regressão do PFE, descritas na era pré-corticóide.

2. As características histopatológicas das LRC não são superponíveis às das lesões das formas recentes da doença.

3. A clivagem e a acantólise das LRC ocorrem onde há presença de anticorpos, na região intercelular da epiderme. A acantólise existe em intensidade variável e a clivagem pode ocorrer em vários níveis da epiderme.

4. A IFD em LRC é positiva para IgG, em 97,5% dos casos e a IFI é negativa com o soro de doentes com LRC.

5. O melhor parâmetro para se avaliar a atividade do PFE é a IFD.

SUMMARY

Pathology, direct and indirect immunofluorescent test of lesions of pemphigus foliaceus resistant to corticotherapy.

A group of 16 patients with endemic pemphigus foliaceus under corticotherapy and still showing erythematous, papulous, verrucous, in general hyperpigmented lesions, which were characterized as cortico therapy resistant lesions, were studied.

Such study was made through anatomopathology and direct immunofluorescence (DIF).

Anatomopathologically, such lesions showed tendencies to epitelial hyperplasia and cleavage in variable levels at the epidermis what differs from the early lesions of EPF and coincides with the chronic injuries of the EPF of the pre-corticoid era.

The DIF of the injured skin was positive for IgG in 93.75% of cases, as it happens in the early stages of EPF, being negative in a simple case in which there was not cleavage.

In addition, in eight of those patients, the DIF of the healthy skin and the indirect immunofluorescence (IIF) were studied. The DIF was positive in three of these cases and in all eight the IIF was negative.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Dra. Helena Müller e ao Dr. Gilles Landman pela colaboração nos exames anatomopatológicos, e à Bióloga Lucy Miyauchi pela colaboração nos testes de imunofluorescência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALAYON, F. L. — Contribuição ao estudo do pênfigo foliáceo no Brasil. *Rev. Med. Cirurg. S. Paulo*, 8: 385-466, 1948.
2. ALEIXO, J. — Introdução ao estudo dos aspectos residuais do pênfigo foliáceo. Belo Horizonte, Imprensa Oficial, 1962.
3. CASTRO, R. M. & PROENÇA, N. G. — Semelhanças e diferenças entre fogo selvagem e pênfigo foliáceo de Cazeuve. *An. bras. Derm.*, 58: 137-139, 1983.
4. CHORZELSKI, T. P.; JABLONSKA, S. & BLANZCYR, R. — Immunopathological investigations in the Senear-Usher Syndrome (coexistence of pemphigus and lupus erythematosus). *Brit. J. Derm.*, 80: 211-217, 1968.
5. FRIEDMAN, H. — Contribuição à padronização da reação de imunofluorescência indireta para o pênfigo foliáceo endêmico. Brasília, 1988. (Dissertação de mestrado - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília).
6. FURTADO, F. A. — Histopathology of pemphigus foliaceus. *Arch. Derm.*, 80: 60-71, 1959.

REIS, V. M. S. dos; CUCÉ, L. C. & RIVITTI, E. A. — Anatomopatologia e imunofluorescência direta e indireta das lesões de pênfigo foliáceo endêmico resistentes à corticoterapia. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 33(2): 97-103, 1991.

7. HADLER, W. A. — Classificação do pênfigo foliáceo baseada em dados anátomo-clínicos e hematológicos. *Arq. Derm. Sif. S. Paulo*, 11: 29-56, 1947.
8. LEVER, W. F. — *Histopathology of skin*. 5ª ed. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 1975. Cap. 7, p. 112-113.
9. MATIS, W. L.; ANHALT, G. J.; DIAZ, L. A.; RIVITTI, E. A. & BERGER, R. S. — Calcium enhances the sensitivity of immunofluorescence for pemphigus antibodies. *J. invest. Derm.*, 89: 302-304, 1987.
10. NANNI, M. E. — **Pênfigo foliáceo sulamericano — estudo histopatológico das lesões resistentes à corticoterapia**. Campinas, 1976. (Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas).
11. PROENÇA, N. G.; NANNI, M. E. & CASTRO, R. M. — Estudo clínico das lesões resistentes à corticoterapia em doentes de pênfigo foliáceo sulamericano. *Derm. ibero lat. amer.*, 3: 213-222, 1971.
12. PROENÇA, N. G. — Declínio do pênfigo foliáceo no Estado de São Paulo (Brasil). *Rev. paul. Med.*, 89: 97-100, 1977.
13. VIEIRA, J. P. — **Considerações sobre pênfigo foliáceo**. São Paulo, Empresa Gráfica da "Revista dos Tribunais". 1948.

Recebido para publicação em 26/7/1990.
Aceito para publicação em 4/3/1991.