**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA**

LUDMILLA FIGUEIREDO VALE FONTENELLE

**Fatores clínicos e alelos *HLA* associados ao desfecho da pulsoterapia com
dexametasona e/ou ciclofosfamida nos pênfigos: seguimento de 10 anos no Brasil**

**RIBEIRÃO PRETO
2019**

LUDMILLA FIGUEIREDO VALE FONTENELLE

VERSÃO CORRIGIDA

Fatores clínicos e alelos *HLA* associados ao desfecho da pulsoterapia com dexametasona e/ou ciclofosfamida nos pênfigos: seguimento de 10 anos no Brasil

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas, Área: Clínica Médica. Subprojeto X que compõe o projeto temático "Relação dos fatores imunogenéticos e ambientais na etiopatogênese dos pênfigos em amostragem brasileira" FAPESP N.º 2010/51729-2.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Maria Ferreira Roselino

RIBEIRÃO PRETO

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Fontenelle, Ludmilla Figueiredo Vale

Fatores clínicos e alelos *HLA* associados ao desfecho da pulsoterapia com dexametasona e/ou ciclofosfamida nos pênfigos: seguimento de 10 anos no Brasil.

Ludmilla Figueiredo Vale Fontenelle; Orientadora Prof.^a Dra. Ana Maria Ferreira Roselino. – Ribeirão Preto, 2019. 83f

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica.

1. Ciclofosfamida. 2. Dexametasona. 3. *HLA*. 4. Pênfigo. 5. Pênfigo foliáceo. 6. Pênfigo vulgar. 6. Pulsoterapia.

FONTENELLE, L. F. V. Fatores clínicos e alelos *HLA* associados ao desfecho da pulsoterapia com dexametasona e/ou ciclofosfamida nos pênfigos: seguimento de 10 anos no Brasil.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas do Programa de Clínica Médica. Essa Tese compõe o projeto Temático FAPESP de número: 2010/51729-2.

Aprovada em: _____

Banca examinadora

Prof. Dr: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu esposo e grande amor, Gustavo; ao meu maior tesouro, meu filho Bernardo; aos meus pais e grandes incentivadores; aos meus avós e exemplos de vida; e aos meus irmãos amados e companheiros.

Agradecimentos

A Deus, meu bondoso e amado Pai, por me permitir colher os frutos de alegria e realização proporcionados por este trabalho.

Ao meu esposo, melhor amigo e grande amor, Gustavo, que mais uma vez demonstrou que eu não poderia ter um companheiro mais perfeito. Palavras não são suficientes para expor aqui a enorme gratidão e alegria por tê-lo ao meu lado. Obrigada pelo amor incondicional, paciência e companheirismo tão fundamentais para a conclusão deste trabalho e realização de mais um sonho.

Aos meus pais biológicos, Patrícia e Francisco, por todo amor dedicado a mim, pelo incentivo e torcida. Mãe, obrigada por estar sempre do meu lado, apoiando-me em todas as decisões. Pai, o seu entusiasmo pela vida acadêmica foi inspirador e a sua ajuda foi crucial nessa jornada. Ao meu pai de coração, Kelson, por todo o carinho e dedicação de pai que sempre teve por mim. Agradeço por tudo que me ensinaram sobre a vida e por tudo que permitiram que ela me ensinasse. Eu os amo muito!

À minha princesa, minha pequena, minha amada vizinha Cecília! Meu exemplo de vida e de como encarar a vida. Meu porto seguro em todos os momentos! Ao meu avô Paulo, pelo exemplo de ser humano e de professor, dentro e fora das salas de aula. À minha vizinha Celeste por toda a ternura e carinho para comigo.

À minha irmã, Patrícia, a qual amo incondicionalmente. Seu amor e cuidado comigo tornam a minha vida mais feliz! Obrigada pelo apoio, ajuda e incentivo na realização desse trabalho e obrigada principalmente pelo maior presente que você já me deu nessa vida, o meu amado sobrinho e afilhado Vitor. Amo vocês!

Ao meu querido irmão Thomaz, meu grande amigo e eterno parceiro. Você sempre foi muito especial para mim e sinto saudades de te ver chegando do colégio todos os dias e ouvir tudo que aconteceu no seu dia como você fazia quando ainda morávamos juntos! Te amo, meu bem!

Aos meus irmãos, Guilherme e Eduardo, apesar da distância, muito especiais e amados.

De maneira especial, agradeço à minha orientadora, Profa Dra. Ana Maria Roselino, a oportunidade que me deu de realizar esse trabalho sob a sua supervisão. Agradeço a sua disponibilidade, paciência e todo o conhecimento compartilhado. Você é, sem dúvida, um exemplo de dedicação e amor à pesquisa. Realizar esse trabalho com uma

orientadora como você, torna essa jornada bem menos árdua. Agradeço-lhe a paciência e o zelo com que me orientou além dos preciosos conselhos que levarei para a vida. Obrigada, por fim, por me mostrar o valor do trabalho acadêmico.

Aos membros da banca, Profa. Dra Norma Foss, Prof. Dr. Ciro Gomes e Dr. João Carlos pelas críticas e sugestões enriquecedoras no exame de qualificação.

À Neifi Deghaide (Hemocentro FMRP) por toda a sua solicitude e pela realização das genotipagens HLA.

Ao Sebastian pela fundamental e valiosa ajuda, em especial na análise estatística e na revisão do artigo. Muito obrigada!

Às colegas do laboratório, Natália e Aline (biologistas do Laboratório de Dermatologia – HC-FMRP) e aos colegas pós-graduandos, Daniela, Tamiris, Marcela, Ciro, Maria, Éderson, Samir, Fernando e Léo pelas conversas e ensinamentos sempre tão preciosos, por toda a ajuda e paciência e pelo excelente convívio.

Aos preceptores e colaboradores do ambulatório de doenças autoimunes do HC- FMRP, Roberto, Fernanda, Letícia, Juliana e Éderson, pela maravilhosa receptividade e por todo o auxílio.

À Ana Cristina (secretária da Divisão de Dermatologia) por todo auxílio.

Ao Emerson (secretário da pós-graduação em Clínica Médica) por toda paciência e valiosa ajuda em todos os processos burocráticos.

Aos meus amigos (de perto ou longe), seria aqui impossível descrever todos, mas reconheço o valor de cada um na contribuição de minha formação humana e profissional. Obrigada pelas orações, torcida e pelo incentivo nesta jornada.

De modo especial, agradeço a cada paciente que gentilmente aceitou participar desta pesquisa crendo na contribuição para o conhecimento científico que este estudo proporcionaria. Meu sincero respeito e gratidão a vocês.

“A verdadeira motivação vem da realização, desenvolvimento pessoal, satisfação no trabalho e reconhecimento.”

Frederick Herzberg

RESUMO

FONTENELLE, L.F.V. **Fatores clínicos e alelos *HLA* associados ao desfecho da pulsoterapia com dexametasona e/ou ciclofosfamida nos pênfigos: seguimento de 10 anos no Brasil.** 2019. 83f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Introdução: Pênfigos são dermatoses bolhosas autoimunes associados a alelos *HLA* de suscetibilidade. Eficácia de pulsos endovenosos de dexametasona (DP), ou de dexametasona associada à ciclofosfamida (DCP), tem sido reportada nos pênfigos; no entanto, o resultado varia entre os relatos. **Objetivos:** Comparar dados demográficos, clínicos e alelos *HLA* com o desfecho da pulsoterapia em pacientes com pênfigo vulgar (PV) e pênfigo foliáceo (PF). **Métodos:** Estudo de coorte analítico retrospectivo com análise dos prontuários médicos do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, acompanhados de 2006 a 2016. Alocou-se o último paciente em 2014. Histopatologia, imunofluorescência e ELISA anti-desmogleína (Dsg) 1 e 3 confirmaram os diagnósticos e auxiliaram a agrupar os pacientes em PV e PF. A pulsoterapia consistiu em quatro fases: fase I com DP ou DCP a cada 28 dias, associado à prednisona (0.5 mg/kg/dia) e/ou ciclofosfamida (50 mg/dia) até a remissão; fase II, em nove pulsos sequenciais associados à prednisona e/ou ciclofosfamida oral para consolidação; fase III, em prednisona e/ou ciclofosfamida oral por 9 meses; e a fase IV, no acompanhamento sem medicamentos. Alelos *HLA* de suscetibilidade/proteção para PV e PF foram obtidos de Brochado et al., (2016); Franco Brochado et al., (2016). As variáveis foram compiladas em planilha Excel e a análise estatística foi realizada por testes não paramétricos, com significância $P < 0,05$. **Resultados:** Foram incluídos 37 pacientes com PV e 41 com PF. Comparando o grupo PV ao PF, respectivamente, na fase I: i) o grupo PV apresentou menor duração da doença à prescrição da pulsoterapia ($P < 0,001$), e menor número de pulsos para a remissão (6 e 10 pulsos; $P = 0,005$); ii) a remissão (67,6% e 56,1%; $P = 0,355$) e a falha [sem remissão após 24 (11-34) pulsos na fase I] foram semelhantes (13,5% e 14,6%; $P = 1,00$), sendo a falha relacionada à faixa etária mais jovem no grupo PV ($P = 0,031$). Nas fases I a III, o abandono também foi semelhante (32% e 26,8%; $P = 0,626$). Na fase IV: i) a recidiva foi semelhante (8,1% e 9,7%; $P = 1,00$); ii) 14 (37,8% e 34,1%) pacientes de cada grupo mantiveram a remissão ($P = 0,815$), considerando 13 (1-56) meses de seguimento. Os dados não foram concluídos para 8,1% e 14,6% pacientes dos grupos PV e PF, respectivamente, pois ainda estavam em tratamento no momento da análise. Em geral, a pulsoterapia foi bem tolerada, e eventos adversos leves (infecção secundária de pele, infecção urinária, náusea e vômito, cefaleia e hematúria) ocorreram em 82,3% e 73,5% dos grupos PV e PF, respectivamente ($P = 0,435$). Diagnosticou-se adenocarcinoma prostático em um paciente com PF 7 meses após a suspensão da pulsoterapia. Associação entre alelos *HLA* e desfecho da pulsoterapia não foi encontrada em ambos os grupos ($P > 0,05$ para todos). **Conclusões:** Os grupos PV e PF apresentaram frequências de desfecho semelhantes à pulsoterapia. A falha foi relacionada à faixa etária mais jovem no grupo PV, portanto, a idade poderia ser considerada um fator prognóstico. Comparado ao PV, o grupo PF mostrou maior duração da doença antecedendo a pulsoterapia e maior número de pulsos na fase I para a remissão, estimulando-se a prescrição da pulsoterapia precocemente. A não associação com alelos *HLA* provavelmente está relacionada ao tamanho amostral insuficiente. A pulsoterapia propiciou remissão em 36% dos pacientes, com eventos adversos leves.

Palavras-chave: ciclofosfamida, dexametasona, *HLA*, pênfigo, pênfigo foliáceo, pênfigo vulgar, pulsoterapia.

ABSTRACT

FONTENELLE, L.F.V. **Clinical and *HLA* features related to pulse therapy with dexamethasone and cyclophosphamide in pemphigus: a 10-year follow-up in Brazil.** 2019. 83f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Introduction: Pemphigus are autoimmune bullous diseases associated with *HLA* susceptibility alleles. The efficacy of intravenous pulses of dexamethasone (DP), or dexamethasone associated to cyclophosphamide (DCP), has been reported in pemphigus, however, the result varies among the reports. **Objectives:** To compare demographic and clinical data and *HLA* alleles with the outcome of pulse therapy in patients with pemphigus vulgaris (PV) and pemphigus foliaceus (PF). **Methods:** Retrospective analytical cohort study with medical records analysis of the University Hospital, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo (HCFMRP - USP), followed from 2006 to 2016. The last patient was allocated in 2014. Histopathology, direct and/or indirect immunofluorescence and ELISA anti-desmogleins (Dsg) 1 and 3 confirmed the diagnosis and helped to group patients into PV and PF. Pulse therapy consisted four phases: phase I comprised DP or DCP every 28 days, associated to prednisone (0.5 mg/kg/day) and/or cyclophosphamide (50 mg/day) until the remission; phase II, nine consecutive pulses associated to oral prednisone and/or cyclophosphamide for consolidation; phase III, oral prednisone and/or cyclophosphamide for 9 months; and phase IV, follow-up without medications. *HLA* susceptibility/protection alleles to PV and PF were compiled from Brochado et al., (2016); Franco Brochado et al., (2016). A database was compiled on an Excel spreadsheet and statistical analysis was performed by non-parametric tests, with significance $P < 0.05$. **Results:** It has been included 37 PV and 41 PF patients. Comparing PV to PF group, respectively, in phase I i) PV group presented shorter disease duration before the pulse therapy prescription ($P < 0.001$) and a fewer number of pulses to achieve remission (6 and 10 pulses; $P = 0.005$); ii) remission (67.6% and 56.1%; $P = 0.355$) and failure (no remission after 24 (11-34) pulses in phase I) (13.5% and 14.6%; $P = 1.00$) were similar; failure was related to the youngest patients in the PV group ($P = 0.031$). In phases I-III, dropout was similar (32% and 26.8%; $P = 0.626$). In phase IV i) relapse was similar (8.1% and 9.7%; $P = 1.00$), ii) 14 patients in each group achieved and maintained remission (37.8% and 34.1%; $P = 0.815$), after 13-month follow-up (1-56). Data were incomplete for 8.1% and 14.6% of the PV and PF groups, respectively, because they were still being treated at the time of analysis. In general, pulse therapy was well tolerated, and minor side events (skin lesion infection, urinary infection, nausea and vomiting, headache, and hematuria) occurred in 82.3% and 73.5% of PV and PF groups, respectively ($P = 0.435$). Prostatic adenocarcinoma was diagnosed in a PF patient 7 months after pulse therapy was suspended. Association between *HLA* alleles and pulse therapy outcome was not found in both groups ($P > 0.05$ for all). **Conclusions:** PV and PF groups present similar outcome frequencies on pulse therapy. Failure was related to the younger age group in PV patients, so age could be a prognostic factor. Compared to PV group, PF group showed the longest disease duration before the pulse therapy and a greater number of pulses in phase I to achieve remission, stimulating earlier pulse therapy prescription. Lack of association with *HLA* alleles is probably due to the insufficient sample size. Pulse therapy provided remission in 36% of the patients, with mild adverse events.

Key words: cyclophosphamide, dexamethasone, *HLA*, pemphigus, pemphigus foliaceus, pemphigus vulgaris, pulse therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Incidência anual de PV (em vermelho) e de PF (em azul) em uma série histórica de 21 anos, em pacientes diagnosticados no HCFMRP-USP. Observar o aumento dos casos de PV em detrimento dos casos de PF a partir de 1998. Fonte: GONÇALVES et al., 2011.....	25
Figura 2. Representação esquemática do desmossomo. Responsável pela adesão entre os queratinócitos, o desmossomo está presente no espaço intercelular e é constituído por diversas proteínas, dentre as quais destacam-se as desmocollinas, desmoplaquinas e desmogleínas. A desmogleína, destacada em vermelho, é o alvo dos autoanticorpos nos pênfigos. Fonte: HERTL et al., 2006. Modificada pelo autor.....	28
Figura 3. Teoria da compensação das Dsg nos pênfigos. a) Desenho esquemático da histologia com a demonstração dos sítios de formação das bolhas no PV e PF. As formas geométricas em verde e amarelo representam a quantidade de Dsg 1 e 3, respectivamente. b) Cortes histológicos de biópsias cutâneas de pacientes com PV e PF, corados por HE, demonstram acantólise com bolha supra basal e subcórnea, respectivamente. Fonte: KASPERKIEWICZ et al., 2017. Modificada pelo autor.....	30
Figura 4. Paciente com PV (Arquivo de imagens da Divisão de Dermatologia – HCFMRP-USP.....	31
Figura 5. Paciente com PF (Arquivo de imagens da Divisão de Dermatologia – HCFMRP-USP.....	32
Figura 6. Representação esquemática da organização genômica do MHC humano. Principais <i>loci</i> gênicos que codificam moléculas MHC de classe I e II. Fonte: https://www.ufpe.br/biolmol/Aula-Imunogenetica/aula-imuno05.htm	33
Figura 7. Esquema da pulsoterapia com dexametasona e ciclofosfamida para pênfigos, dividida em 4 fases: Fase I (indução de remissão); Fase II (consolidação); Fase III (manutenção) e Fase IV (seguimento clínico e laboratorial).....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados demográficos e clínicos e os regimes da pulsoterapia nos grupos pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo.....	45
Tabela 2. Desfecho da pulsoterapia de acordo com cada fase. Comparação entre os grupos pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo.....	47
Tabela 3. Dados demográficos e clínicos (gênero, idade no início da doença e duração da doença) e número de pulsos e duração da fase I dos pacientes com pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo dos subgrupos remissão pós tratamento na fase IV e falha terapêutica na fase I.....	48
Tabela 4. Dados demográficos e clínicos (gênero, idade no início da doença e duração da doença), número de pulsos e duração da fase I e duração da fase IV dos pacientes com pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo que alcançaram a remissão pós tratamento na fase IV.....	50
Tabela 5. Frequências dos alelos <i>HLA</i> de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo vulgar, considerando os subgrupos remissão em tratamento e falha terapêutica na fase I.	54
Tabela 6. Frequências dos alelos <i>HLA</i> de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo foliáceo, considerando os subgrupos remissão em tratamento e falha terapêutica na fase I.	55
Tabela 7. Frequências dos alelos <i>HLA</i> de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo vulgar, considerando os subgrupos remissão pós tratamento na fase IV e falha terapêutica na fase I.....	56
Tabela 8. Frequências dos alelos <i>HLA</i> de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo foliáceo, considerando os subgrupos remissão pós tratamento na fase IV e falha terapêutica na fase I.....	57

LISTA DE ABREVIACÕES

CD4+	presença de <i>cluster of differentiation 4</i>
CD8+	presença de <i>cluster of differentiation 8</i>
CP	Ciclofosfamida
DCP	Pulsos com Dexametasona e Ciclofosfamida
DP	Pulsos com Dexametasona
DEX	Dexametasona
Dsg1	Desmogleína 1
Dsg3	Desmogleína 3
ELISA	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
FS	Fogo selvagem
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HE	Hematoxilina-eosina
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i>
IFD	Imunofluorescência Direta
IFI	Imunofluorescência indireta
IgG	Imunoglobulina G
MHC	<i>Complex Human Histocompatibility</i>
PCR	Reação em cadeia da Polimerase
PF	Pênfigo Foliáceo
PV	Pênfigo Vulgar
PVE	Pênfigo Vulgar Endêmico
TH2	linfócito T <i>helper 2</i>
TNF	fator de necrose tumoral
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1. Conceitos gerais	23
2.2. Epidemiologia	24
2.3. Patogênese	26
2.4. Mecanismos de acantólise	27
2.5. Características clínicas.....	31
2.6. Associação com alelos <i>HLA</i>	32
2.7. Tratamento.....	35
3.OBJETIVOS	38
4.MÉTODOS.....	40
4.1.Tipo de estudo.....	41
4.2. Casuística.....	41
4.3. Pulsoterapia.....	41
4.3.1. Definições dos desfechos da pulsoterapia.....	42
4.3.2. Avaliação precedendo a prescrição da pulsoterapia.....	43
4.4. Caracterização dos alelos <i>HLA</i>	43
4.5. Análises estatísticas.....	43
5. RESULTADOS.....	44
6. DISCUSSÃO.....	59
7. CONCLUSÕES.....	66
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
9. ANEXOS.....	80
Anexo 1: Termo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	81
Anexo 2: Termo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa– Projeto Temático.....	82
Anexo 3: Termo de consentimento livre e esclarecido	83

1. INTRODUÇÃO

Os pênfigos são dermatoses bolhosas autoimunes caracterizados pela produção de autoanticorpos contra proteínas desmossômicas (BROCHADO et al., 2016). Desmossomos são peptídeos intercelulares responsáveis pela integridade da epiderme (KRIDIN, 2018). A perda da adesão entre os queratinócitos deve-se à ligação dos autoanticorpos IgG às desmogleínas (Dsg) - glicoproteínas transmembranas pertencentes à família das caderinas, presentes nos desmossomos (HAMMERS; STANLEY, 2016).

Há dois tipos principais de pênfigos, o pênfigo vulgar (PV) e o pênfigo foliáceo (PF). O PV apresenta-se com lesões nas membranas mucosas e na pele, por haver produção de anti-Dsg3 e anti-Dsg1. No PF, são observadas apenas lesões cutâneas, pela produção de anti-Dsg1 (KASPERKIEWICZ et al., 2017).

A incidência mundial de ambos os pênfigos é de 0,5 a 32 casos/1.000.000 de habitantes ao ano, variando entre os países (ALPSOY; AKMAN-KARAKAS; UZUN, 2015). O PV apresenta distribuição mundial, com incidência aproximada de 0,1 a 1,6 casos por 100.000 habitantes. A maioria dos casos de PV na América do Norte, Europa e Ásia é esporádica. A maior incidência de PV é encontrada em judeus Asquenazes, estimada em 1,6 por 100.000 habitantes ao ano em Jerusalém (FEMIANO, 2007).

Quanto ao PF, há uma forma de apresentação esporádica, denominada pênfigo de Cazenave, com distribuição mundial, e uma forma endêmica, relacionada a determinadas áreas geográficas como Brasil, Colômbia, Peru e Tunísia. No Brasil, é denominado fogo selvagem (FS) e ocorre principalmente nos estados do Paraná, São Paulo, Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso. Ambos, PF e PV, apresentam distribuição endêmica no nordeste do estado de São Paulo, e relatos recentes têm demonstrado modificação epidemiológica, com a incidência de PV ultrapassando a de PF em região onde predominava PF, caracterizando o pênfigo vulgar endêmico (GONCALVES et al., 2011; ABREU-VELEZ et al., 2010; FEMIANO, 2007). A prevalência do PV, em alguns municípios dessa região, alcançou 49,6 casos por um milhão de habitantes, a maior reportada no mundo (CELERE et al., 2017).

A etiopatogênese dos pênfigos tem sido amplamente estudada, no entanto, ainda não é completamente esclarecida (DAS et al., 2019; KASPERKIEWICZ et al., 2017; SCHMIDT et al., 2017; GRANDO, 2006; AHMED et al., 2016). Fatores ambientais, como picadas de insetos (VERNAL et al., 2017; WAMBIER et al., 2017), metais pesados (LA SERRA et al., 2019) e infecções virais (MACHADO et al., 2017; VERNAL et al.,

2017; WAMBIER et al., 2017), aliados a fatores genéticos (BROCHADO et al., 2016; FRANCO BROCHADO et al., 2016) vêm sendo fortemente implicados.

Os alelos *HLA* de classes I e II estão sabidamente envolvidos na patogênese dos pênfigos. No Sudeste do Brasil, onde PV e PF são prevalentes, os alelos/haplótipos *HLA* de classe I e II de suscetibilidade/proteção foram claramente identificados (BROCHADO et al., 2016; FRANCO BROCHADO et al., 2016).

O tratamento convencional para os pênfigos consiste em altas doses de corticoides orais, com ou sem agentes imunossupressores adjuvantes (PORRO et al., 2019; BUONAVOGLIA et al., 2019). No entanto, a morbidade em longo prazo, associada ao uso diário de corticoides orais, especialmente hipertensão arterial, diabetes mellitus e osteoporose, vem sendo amplamente registrada (AMBIEL; ROSELINO, 2014).

O objetivo principal do tratamento do pênfigo visa a obtenção da melhora clínica a partir do controle da produção de autoanticorpos patogênicos contra Dsg, tentando-se reduzir, ao máximo, os efeitos adversos do uso crônico do corticoide (SCHULTZ et al., 2011; SINHA et al., 2015; MUSTAFI et al., 2019; KANWAR; VINAY, 2014).

Numerosos estudos têm demonstrado a eficácia clínica do tratamento endovenoso com pulsos de dexametasona (DP) ou dexametasona associada à ciclofosfamida (DCP). O regime da pulsoterapia compreende 4 fases. A fase I inclui DP ou DCP a cada 28 dias, associado à prednisona (0.5 mg/kg/dia) e/ou ciclofosfamida (50 mg/dia), até a remissão; fase II, em nove pulsos sequenciais para consolidação, com manutenção da prednisona e/ou ciclofosfamida oral; fase III, em prednisona e/ou ciclofosfamida oral por 9 meses; e a fase IV no acompanhamento sem medicamentos (PASRICHA; POONAM, 2008; SHAIK et al., 2010; SACCHIDANAND et al., 2003). A fase I é a mais importante da pulsoterapia, pois determina a duração do tratamento, uma vez que as fases II e III têm duração pré-fixada em 9 meses. Antibióticos e antifúngicos devem ser utilizados em qualquer fase, caso sejam necessários. Se o paciente apresentar recidiva, deve retornar à fase I e reiniciar a pulsoterapia. Pacientes jovens, sem prole definida, fazem o regime DP, pelo risco de esterilidade ocasionada pela ciclofosfamida (PORRO et al., 2019). A pulsoterapia tem se mostrado tão eficaz quanto a administração das medicações orais diariamente, mas tem a vantagem adicional de estar menos associada aos efeitos adversos graves da corticoterapia oral prolongada (KANWAR et al., 2002).

O presente estudo teve por objetivo avaliar o desfecho da pulsoterapia com dexametasona e/ou ciclofosfamida, comparando-se os grupos de pacientes com PV e PF. Foram avaliados: (i) características demográficas - idade no início da doença e gênero, e

clínicas - tempo de doença; (ii) número de pulsos na fase I para a remissão; (iii) frequência de remissão e falha terapêutica na fase I; (iv) frequência de remissão na fase IV pós tratamento; (v) frequência de recidiva na fase IV; (vi) frequência de efeitos adversos e intercorrências clínicas e (vii) alelos *HLA* de classes I e II associados aos PV e PF.

Em relação aos parâmetros avaliados no desfecho da pulsoterapia, considerou-se: remissão em tratamento: reepitelização das lesões bolhosas e não surgimento de lesões novas na fase I, e progressão para a fase II; remissão pós tratamento: o paciente alcançou a fase IV sem apresentar recidiva; recidiva: novas lesões bolhosas após alcançada a remissão na fase I, estando o paciente nas fases II, III ou IV; e falha terapêutica para os pacientes que não alcançaram remissão na fase I (após mediana de 24 pulsos).

Espera-se que esse estudo possa contribuir para o melhor entendimento acerca da resposta à pulsoterapia e para uma medicina mais personalizada no tratamento dos pênfigos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Conceitos gerais

Os pênfigos compreendem um grupo de doenças bolhosas autoimunes que podem acometer a pele e as membranas mucosas. As bolhas formam-se devido à perda de adesão entre os queratinócitos, mecanismo que recebe o nome de acantólise. Histologicamente, observa-se a presença de fendas acantolíticas intraepidérmicas secundárias ao depósito de imunoglobulina G (IgG) nas membranas dos queratinócitos. As doenças autoimunes ocorrem por alterações no sistema imune que culminam na perda da tolerância em relação a antígenos próprios. Nos pênfigos, os autoanticorpos têm como alvo as desmogleínas (Dsg) 1 e 3, glicoproteínas transmembranas pertencentes à família das caderinas presentes nos desmossomos que são as estruturas responsáveis pela adesão entre os queratinócitos (JAMES et al., 2011; RUOCCO et al., 2013; AMAGAI, 1999; THEOFILOPOULOS, 1995).

Há seis tipos de pênfigos: pênfigo vulgar (PV), pênfigo foliáceo (PF), pênfigo vegetante, pênfigo eritematoso, pênfigo paraneoplásico e pênfigo induzido por drogas (RUOCCO et al., 2013). O tipo mais comum é o PV (65%), seguido pelos PF (23%), pênfigo eritematoso (6%), pênfigo vegetante (2%) e os outros tipos (4%) (AMAGAI et al., 2014). No PV, há produção de autoanticorpos contra as Dsg 1 e 3 e ocorrem lesões mucosas e cutâneas enquanto no PF há autoanticorpos apenas contra Dsg 1 e o acometimento é exclusivamente cutâneo (KASPERKIEWICZ et al., 2017; ALTUN et al., 2018).

Embora a patogênese do pênfigo ainda não esteja totalmente esclarecida (VERNAL et al., 2017; LA SERRA et al., 2019; DAS et al., 2019), os alelos *HLA* de classes I e II estão sabidamente envolvidos na patogênese da doença. No Sudeste do Brasil, onde PV e PF são prevalentes, os alelos/haplótipos de suscetibilidade/proteção *HLA* classe I e II foram claramente identificados (BROCHADO et al., 2016; FRANCO BROCHADO et al., 2016). Além disso, há a participação de células dendríticas, linfócitos T CD4+ com resposta predominantemente TH2 e predomínio das citocinas IL-6 e TNF-alfa no PV e IL-10 e IL-12 no PF (D'AURIA et al., 1997; ZEOTI et al., 2000; CHIOSSI; COSTA; ROSELINO, 2004). Malheiros et al., (2014) identificaram recentemente novos genes envolvidos na suscetibilidade ao PF e na gravidade da doença baseados em

comparações genômicas de linfócitos T CD4+ do sangue periférico (MALHEIROS et al., 2014).

Se não tratado, o paciente com pênfigo pode evoluir com disseminação das bolhas e erosões com consequente aumento do risco de infecções secundárias e alta mortalidade. A introdução dos corticoides orais no tratamento dos pênfigos reduziu a mortalidade, que antes alcançava até 70%, para 29%. Mais recentemente, houve ainda maior declínio e a taxa de mortalidade ficou em torno de 5.9% devido aos diagnósticos e tratamentos precoces, manejo das complicações e introdução de medicações adjuvantes como ciclofosfamida, azatioprina, dapsona, ciclosporina (BYSTRYN; STEINMAN, 1996; HERTL et al., 2015; PANDYA; SONTHEIMER, 1992). Por outro lado, o uso crônico de corticoides orais tem aumentado as morbidades associadas à síndrome metabólica, como hipertensão arterial, diabetes mellitus, osteoporose (AMBIEL; ROSELINO, 2014). A pulsoterapia com dexametasona (DEX) e/ou ciclofosfamida (CP) (DCP), proposta por Pasricha et al., em 1988, tem mostrado efetividade no tratamento dos pênfigos como o uso de corticosteroides orais diariamente com a vantagem adicional de estar menos associada a efeitos adversos (PASRICHA et al., 1988).

2.2. Epidemiologia

As características epidemiológicas dos pênfigos variam conforme a localização geográfica e a etnia (ALCAIDE-MARTIN et al., 2010).

O PV apresenta distribuição mundial com incidência aproximada de 0,1 a 1,6 casos por 100.000 habitantes. A maioria dos casos de PV na América do Norte, Europa e Ásia é esporádica, sem evidência de aglomerado geográfico. A maior incidência de PV é encontrada em judeus Asquenazes, estimada em 1,6 por 100.000 habitantes ao ano em Jerusalém (FEMIANO, 2007). Quanto ao PF, há uma forma de apresentação esporádica, denominada pênfigo de Cazenave, com distribuição mundial, e uma forma endêmica, relacionada a determinadas áreas geográficas como Colômbia, Peru e Tunísia, conhecida como fogo selvagem (FS) no Brasil. O FS ocorre principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso e Goiás. Ambos, PF e PV, apresentam distribuição endêmica no nordeste do estado de São Paulo e relatos recentes têm demonstrado modificação epidemiológica com a incidência de PV ultrapassando a de PF em região onde predominava PF, caracterizando o pênfigo vulgar endêmico (PVE) (Figura 1)

(GONCALVES et al., 2011; ABREU-VELEZ et al., 2010; FEMIANO, 2007). As maiores incidências de PV foram observadas nas cidades de Ribeirão Preto, Franca e São Carlos, e a prevalência de PV em Ribeirão Preto alcançou 49,6 casos por um milhão de habitantes, a maior reportada no mundo (CELERE et al., 2017).

A distribuição por gênero também pode variar de acordo com o país ou região. Há alguns relatos de acometimento semelhante em ambos os gêneros, mas geralmente há o predomínio do sexo feminino nos pênfigos (ALPSOY; AKMAN-KARAKAS; UZUN, 2015; AMAGAI et al., 2014; CHIOSSI; ROSELINO, 2001; CELERE et al., 2017; KASPERKIEWICZ et al., 2017).

Classicamente, o PV acomete predominantemente indivíduos entre 40 e 60 anos mas pode ocorrer em qualquer faixa etária. O PF apresenta-se mais comumente em pacientes jovens, às vezes da mesma família ou vizinhança, residentes em áreas rurais próximas a rios, habitat natural de insetos da espécie *Simulium nigrimanum* (CHIOSSI; ROSELINO, 2001). Relatos do nosso grupo demonstraram clara tendência à redução da idade de acometimento do PV no Brasil passando a afetar também indivíduos mais jovens (GONCALVES et al., 2011).

Figura 1. Incidência anual de PV (em vermelho) e de PF (em azul) em uma série histórica de 21 anos, em pacientes diagnosticados no HCFMRP-USP. Observar o aumento dos casos de PV em detrimento dos casos de PF a partir de 1998. Fonte: GONÇALVES et al., 2011.

2.3. Patogênese

Nas desordens autoimunes, há a formação de anticorpos contra antígenos próprios. No caso dos pênfigos, os autoanticorpos são dirigidos contra as desmogleínas, que são glicoproteínas transmembranas pertencentes à família das caderinas, presentes nos desmossomos, estruturas intercelulares responsáveis pela adesão entre os queratinócitos. Ocorre a formação de imunoglobulinas G (IgG), predominantemente IgG4, contra Dsg 1 e 3. As imunoglobulinas depositam-se entre os queratinócitos da pele lesada e perilesional quando a doença está em atividade, o que pode ser confirmado por imunofluorescência direta (IFD). Os anticorpos circulantes também podem ser detectados no soro do paciente por imunofluorescência indireta (IFI) podendo apresentar positividade em torno de 80% a depender do substrato utilizado (ZHOU et al., 2016; DAINICHI et al., 2017).

Os autoanticorpos são produzidos pelos linfócitos B e, quando injetados no peritônio de camundongos recém-nascidos, IgG4 anti-Dsg desencadearam bolhas na pele dos animais (TRON et al., 2005; FURUE; KADONO, 2017).

Classicamente, o título de autoanticorpos circulantes relaciona-se com a gravidade da doença. IFI e *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) são dois métodos amplamente utilizados na determinação de títulos de autoanticorpos anti-Dsg 1 e 3 e possuem alta sensibilidade (80% e 90%, respectivamente) para o diagnóstico dos pênfigos (NAKAHARA et al., 2014; BELLON et al., 2014).

A IFI identifica anticorpos dirigidos contra um antígeno em um tipo específico de substrato tecidual. Pele humana é comumente utilizada como substrato tecidual em casos de PF, enquanto esôfago de macaco é preferencialmente utilizada nos casos de PV. O uso de ambos os substratos pode aumentar a sensibilidade do método para 100%. Os títulos determinados pela IFI podem ser usados tanto para estimativa aproximada de atividade de doença como podem ser preditores de recorrência (SAKI MALEHI et al., 2014). Os pacientes com doença grave, tipicamente, apresentarão altos títulos de autoanticorpos circulantes, e os pacientes com doença leve apresentarão baixos títulos. A direta associação da atividade da doença com os títulos de autoanticorpos IgG circulantes mensurados pela IFI tem sido melhor demonstrada em modelos animais (JAMES; CULTON; DIAZ, 2011).

O método ELISA utiliza desmogleína humana recombinante purificada para detectar quantitativamente autoanticorpos no soro do paciente, podendo ser usado para monitorar a resposta ao tratamento. Sendo assim, resultados negativos do ensaio ELISA

poderiam representar resposta bem-sucedida à terapêutica. Ao contrário da imprecisa estimativa que a IFI proporciona, títulos de ELISA têm sido associados de forma consistente com a atividade da doença durante todo o curso clínico. Dessa forma, ELISA pode ser considerado o melhor método laboratorial para o acompanhamento da resposta do paciente ao tratamento (AVGERINO et al., 2013; ANAND et al., 2012; JAMES; CULTON; DIAZ, 2011; KWON et al., 2008).

Há, no entanto, estudos nos quais não se observa perfeita relação entre títulos de autoanticorpos anti-Dsg determinados por ELISA e a atividade de doença (HERRERO-GONZALEZ et al., 2010; ABASQ et al., 2009; NAKAHARA et al., 2014). Atualmente, não somente as Dsg estão implicadas na patogênese dos pênfigos mas outras moléculas estão envolvidas na acantólise, as quais puderam ser definidas a partir de técnicas de *blotting* e de imunoprecipitação com soros de pacientes com pênfigos e extratos proteicos de epiderme (CIRILLO et al., 2012; GRANDO, 2012; FATTAL et al., 2014). Além disso, usualmente, os kits de ELISA são utilizados somente para detectar autoanticorpos anti-Dsg da classe IgG. No entanto, a participação de anticorpos das classes IgA e IgE na fisiopatologia dos pênfigos já é conhecida (BELLON et al., 2014).

2.4. Mecanismos da acantólise

O mecanismo fisiopatológico da acantólise no pênfigo ainda não está completamente esclarecido. É muito bem estabelecido que autoanticorpos da classe IgG participam da patogênese dos pênfigos (KERSHENOVICH; HODAK; MIMOUNI, 2014). Os anticorpos ligam-se às desmogleínas (Dsg1 e Dsg3), moléculas transmembranas pertencentes à família das caderinas que fazem parte dos desmossomos. Os desmossomos, por sua vez, são estruturas intercelulares complexas compostas de desmogleínas, desmocollinas, placoglobinas e placofilinas, responsáveis pela adesão entre os queratinócitos (Figura 2) (RUOCCO et al., 2013; CELENTANO; CIRILLO, 2016). A subclasse de autoanticorpos que predomina nos pênfigos, IgG4, não requer ativação de complemento. A ligação IgG4 - Dsg compromete a interação tipo *trans* entre os desmossomos e resulta em alteração espacial estérica (*steric hindrance*) e consequente perda de adesão entre as células (KALANTARI-DEHAGHI et al., 2013). Assim, a ligação dos autoanticorpos compromete diretamente a função dos desmossomos (KASPERKIEWICZ et al., 2017).

Figura 2. Representação esquemática do desmossomo. Responsável pela adesão entre os queratinócitos, o desmossomo está presente no espaço intercelular e é constituído por diversas proteínas, dentre as quais destacam-se as desmocolinas, desmoplaquinas e desmogleínas. A desmogleína, destacada em vermelho, é o alvo dos autoanticorpos nos pênfigos. Fonte: HERTL et al., 2006. Modificada pelo autor.

Outras hipóteses, no entanto, vêm sendo levantadas, como a participação da via da kaliceína (ROSATELLI et al., 2005), e a indução de vias de sinalização mediada pelos anticorpos, que levaria à perda da adesão celular e à apoptose. A primeira descrição da ativação de vias de sinalização em células expostas aos autoanticorpos anti-Dsg foi feita por Seishima et al. (1995), quando observaram o aumento dos níveis intracelulares de cálcio nos queratinócitos expostos ao soro de pacientes com PV (SEISHIMA et al., 1995). Em estudos subsequentes, demonstrou-se a ativação de outras moléculas de sinalização, incluindo proteína quinase C e fosfolipase C (SEISHIMA et al., 1999; KITAJIMA; AOYAMA; SEISHIMA, 1999; OSADA; SEISHIMA; KITAJIMA, 1997). Vêm sendo descritas novas vias de sinalização que podem contribuir para a perda da adesão entre os queratinócitos ou serem induzidas pela perda da adesão mediada por anticorpos (CALDELARI et al., 2001; WASCHKE et al., 2006; CHERNYAVSKY et al., 2007; DELVA et al., 2008).

A via da apoptose é outro mecanismo sugerido para a indução da acantólise. Há relatos de apoptose em queratinócitos expostos ao soro de pacientes com pênfigo ou IgG anti-Dsg purificada, observada em culturas de tecido in vitro, modelos de pênfigo em

camundongos, ou ainda em biópsias de pele humana. No entanto, embora haja evidências de apoptose nos pênfigos, permanece o questionamento de que seja a causa, a consequência ou ainda um subproduto da acantólise (WANG et al., 2004; WOLF et al., 2005; KALANTARI-DEHAGHI et al., 2013). Dados atuais sugerem que a apoptose não é necessária para a formação de bolhas nos pênfigos, porém, a ativação de proteínas proapoptóticas, incluindo as caspases, pode sensibilizar os queratinócitos à acantólise mediada pelos anticorpos IgG anti-Dsg (GRANDO, 2012).

A diversidade do sítio de formação das bolhas é explicada pela teoria da compensação das desmogleínas que sugere que a adesão celular é compensada quando dois ou mais tipos de desmogleínas são expressas na mesma célula (Figura 3). A Dsg3 está distribuída principalmente na camada suprabasal da epiderme e nas membranas mucosas enquanto a Dsg1 predomina na camada superior da epiderme (granulosa). Dessa forma, no PF, onde há apenas anticorpos séricos IgG anti-Dsg1, há formação de bolhas superficiais na pele, com clivagem na camada granulosa subcórnea, onde não ocorre compensação mediada pela Dsg3; e não há formação de bolhas nas mucosas, pois ocorre compensação pela presença marcante de Dsg3 em todas as camadas. Da mesma forma, no PV, quando há autoanticorpos contra Dsg1 e Dsg3, tem-se um quadro clínico mucocutâneo e, na vigência de autoanticorpos apenas contra Dsg3, as lesões são restritas às membranas mucosas, onde a compensação mediada por Dsg1 não é suficiente. O nível de clivagem nesse caso é na camada suprabasal (AMAGAI et al., 2014; OHATA; ISHII; FURUMURA, 2014; STANLEY, 2000; FURUE; KADONO, 2017; MAHONEY et al., 1999; KASPERKIEWICZ et al., 2017).

Figura 3. Teoria da compensação das Dsg nos pênfigos. a) Desenho esquemático da histologia com a demonstração dos sítios de formação das bolhas no PV e PF. As formas geométricas em verde e amarelo representam a quantidade de Dsg 1 e 3, respectivamente. b) Cortes histológicos de biópsias cutâneas de pacientes com PV e PF, corados por HE, demonstram acantólise com bolha supra basal e subcórnea, respectivamente. Fonte: KASPERKIEWICZ et al., 2017. Modificada pelo autor.

2.5. Características clínicas

Os fenótipos do PV e do PF são definidos pelas Dsg-alvo contra as quais os autoanticorpos são dirigidos, o que define a localização intraepidérmica da clivagem. (LIN et al., 1997). O sinal de *Nikolsky* consiste na indução de erosão em área perilesional subsequente à pressão mecânica, e geralmente está presente nos pacientes com doença ativa (VENUGOPAL; MURRELL, 2011).

O PV é considerado a forma clínica de maior gravidade quando comparado ao PF, pois afeta mucosas e, em geral, idosos. Frequentemente, o quadro clínico inicia-se com lesões erosivas na mucosa oral e, em grande parte dos casos, ocorre subsequente acometimento cutâneo (ALTUN et al., 2018). O comprometimento ocular é menos comum (16,5%) no qual a conjuntivite é a apresentação clínica mais prevalente (52,9%), seguida de erosão na conjuntiva palpebral (41,2%) (AKHYANI et al., 2014). Raramente, pode haver acometimento exclusivo do esôfago (COELHO et al., 1997). Outras membranas mucosas, como a nasal, vulva, vagina, colo do útero e ânus, também podem ser acometidas (KAVALA et al., 2011). O envolvimento cervical do PV em algumas mulheres pode ser confundido com displasia em esfregaços de exame de Papanicolau (KAVALA et al., 2015). As lesões de pele constituem-se em bolhas mais tensas com conteúdo hialino ou hemorrágico que, ao romperem-se, deixam superfícies erodidas, sangrentas e dolorosas (YAN; WANG; ZENG, 2012) (Figura 4).

Figura 4. Pacientes com PV (Arquivo de imagens da Divisão de Dermatologia – HCFMRP-USP).

O PF é caracterizado por bolhas mais superficiais e flácidas, que facilmente se rompem, dando lugar a áreas exulceradas e crostas (KRIDIN, 2018). Inicialmente, as lesões acometem face, pescoço e tronco superior – ditas áreas seboreicas – configurando o PF localizado ou frusto, podendo ocorrer disseminação crânio-caudal caracterizando o PF disseminado. Não há o acometimento mucoso no PF (Figura 5) (PIRES et al., 2014; JAMES; CULTON; DIAZ, 2011).

Figura 5. Pacientes com PF (Arquivo de imagens da Divisão de Dermatologia – HCFMRP-USP).

2.6. Associação com alelos *HLA*

Doenças autoimunes têm associação com genes do complexo principal de histocompatibilidade (*MHC – Major Histocompatibility Complex*) classes I e II (Figura 6). Trata-se de uma região genômica localizada no braço curto do cromossomo 6, mais especificamente na região 6p21.3. O genes *MHC* codificam glicoproteínas de membrana que atuam como receptores especializados ligando-se a peptídeos antigênicos. Nos seres humanos, são denominados de antígeno leucocitário humano (*HLA*) e apresentam extenso polimorfismo, no qual um gene pode codificar mais de uma molécula e cada variante gênica é denominada alelo (ALMEIDA; HOLOSHITZ, 2011; ROBINSON et al., 2003; VAN HATEREN et al., 2010).

Figura 6. Representação esquemática da organização genômica do *MHC* humano. Principais *loci* gênicos que codificam moléculas *HLA* de classes I e II. Fonte: <https://www.ufpe.br/biolmol/Aula-Imunogenetica/aula-imuno05.htm>.

Os genes de classe I codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade *HLA-A*, *B* e *C* e estão presentes na maioria das células somáticas. A sua principal função é a apresentação de antígenos gerados em seu citoplasma à superfície dos linfócitos T CD8+, que por sua vez eliminam as células infectadas por liberação de substâncias tóxicas (JONES, 1997). Os genes de classe II codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade *HLA-DR*, *DQ* e *DP* e ocorrem predominantemente em linfócitos B, macrófagos, células apresentadoras de antígeno e linfócitos T ativados (KLEIN; SATO, 2000). As moléculas *MHC* classe II são glicoproteínas de membrana que se ligam a fragmentos de peptídeos (próprios ou não próprios) e os apresentam aos linfócitos T CD4+ para reconhecimento, gerando resposta imune contra o agente agressor (LANDSVERK, BAKKE; GREGERS, 2009; LOISEAU et al., 2000).

Aliados aos fatores genéticos, os fatores ambientais como picadas de insetos e infecções virais, vêm sendo fortemente implicados nos pênfigos (MACHADO et al. 2017; VERNAL et al., 2017; WAMBIER et al., 2017). A associação dos pênfigos com os alelos *HLA* de classe II foi primeiramente descrita na década de 80 (PETZL-ERLER; SANTAMARIA, 1989; SCHARF et al., 1989; SCHARF et al., 1988). A partir de então, análises mais detalhadas em diferentes etnias tornaram-se possíveis devido ao aumento do tamanho amostral de pacientes e controles nos estudos e pela disponibilidade de técnicas mais acuradas de genotipagem e sequenciamento de DNA (PAVONI et al., 2003). Assim como em diversas outras doenças autoimunes, os alelos *HLA* têm mostrado participação na modulação dos pênfigos, como fator de suscetibilidade ou de proteção e essa associação tem sido descrita em diversos países, entre eles Japão, Turquia, Espanha,

Marrocos, Itália, Tunísia, República Eslovaca, Venezuela e China (ABIDA et al., 2009; BIROL et al., 2002; YAMAMOTO et al., 2011; BRICK et al., 2007; SAENZ-CANTELE et al., 2007; PARNICKA et al., 2013; TUNCA et al., 2010; CARCASSI et al. 1996; GONZALEZ-ESCRIBANO et al., 1998; ZHANG et al., 2019).

No Brasil, os alelos *HLA-DRB1**04:02 e *08:04 e o grupo alélico *14 têm sido associados à suscetibilidade ao PV. Os alelos *HLA-DRB1**01:01, *01:02, *01:03, *04:04, *04:06, *04:10, *14:06 e *16:01 têm sido associados à suscetibilidade ao PF enquanto o alelo *HLA-DQB1**02:01 tem sido associado à proteção ao PF (BROCHADO et al., 2016). Quando se comparam resultados de diferentes estudos envolvendo PF endêmico e esporádico o que se observa é que o componente genético associado ao MHC é similar. As discrepâncias parecem estar relacionadas ao polimorfismo de *HLA* entre as populações analisadas. As associações não vistas em certos grupos étnicos podem ser facilmente explicadas pela ausência ou baixa frequência do alelo correspondente naquela população (PAVONI et al., 2003).

Embora esteja bem documentada a associação entre pênfigos e alelos *HLA* de classe II, há poucos estudos que associam pênfigos aos alelos *HLA* de classe I e a significância desses achados ainda não está totalmente esclarecida (SINHA, 2011).

No Sudeste do Brasil, entre os genes *HLA* de classe I, *HLA-A**26, *-B**38 e *-C**12 foram associados à suscetibilidade e *HLA-B**15 foi associado à proteção ao PV. *HLA-A**11/33 e *-B**14 foram associados à suscetibilidade e *HLA-A**02 à proteção ao PF. Em relação aos alelos *HLA* de classe II, *HLA-DRB1**04:02, *08:04, *14:01 e *14:04, *-DQA1**03:01 e *-DQB1**03:02 e *05:03 foram associados à suscetibilidade ao PV. Os alelos *HLA-DRB1**07:01 e *-DQB1**06:02 foram associados à proteção ao PV. Os alelos associados à suscetibilidade ao PF foram *HLA-DRB1**01:01 e *01:02, *-DQA1**01:02 e *-DQB1**05:01, e aqueles alelos associados à proteção ao PF foram *DRB1**11:01 e *13:01, *-DQA1**02:01, *-DQB1**03:01 e *06:03 foram. Os haplótipos associados à suscetibilidade ao PV foram *HLA-DRB1**04-*DQA1**03-*DQB1**03, *HLA-DRB1**14-*DQA1**01-*DQB1**05 e *HLA-DRB1**08-*DQA1**05-*DQB1**03 e os associados à proteção ao PV foram *HLA-DRB1**15-*DQA1**01-*DQB1**06 e *HLA-DRB1**03-*DQA1**05-*DQB1**02. Os haplótipos associados à suscetibilidade ao PF foram *HLA-DRB1**04-*DQA1**03-*DQB1**04, *-DRB1**01-*DQA1**01-*DQB1**05 e *-DRB1**16-*DQA1**01-*DQB1**05 enquanto o *-DRB1**11-*DQA1**05-*DQB1**03 à proteção ao PF. Houve dois haplótipos associados à proteção tanto ao PV quanto ao PF: *HLA-DRB1**13-*DQA1**01-*DQB1**06 e *HLA-*

*DRB1*07-DQA1*02-DQB1*02* (BROCHADO et al., 2016; FRANCO BROCHADO et al., 2016).

2.7. Tratamento

Antes do início do emprego de corticosteroides no tratamento dos pênfigos, o diagnóstico acarretava tão pobre prognóstico que, se o paciente sobrevivesse mais de um ano, o diagnóstico de pênfigo era questionado. Desde a introdução de corticoides orais em 1950 e de agentes imunossupressores em 1960, o prognóstico da doença tem melhorado gradativamente (RUOCCO; WOLF, et al. 2013).

A terapêutica convencional atual consiste em elevadas doses de corticoides orais, com ou sem agentes imunossupressores adjuvantes. No entanto, a morbidade em longo prazo associada ao uso diário de corticoides orais aumentou e continua aumentando as comorbidades, especialmente hipertensão arterial, diabetes mellitus e osteoporose, fatores esses componentes da síndrome metabólica (ZIVANOVIC et al., 2010; AMBIEL; ROSELINO, 2014). Por outro lado, pacientes com resistência aos corticoides, avaliados em estudo funcional dos receptores aos corticoides, podem apresentar diminuição da resposta terapêutica (CHRIGUER et al., 2012).

O objetivo principal do tratamento do pênfigo é conseguir melhora clínica das lesões a partir do controle da produção de autoanticorpos contra Dsg tentando-se reduzir, ao máximo, os efeitos colaterais do uso crônico do corticoide. Nas últimas décadas, estudos têm demonstrado a eficácia clínica da pulsoterapia com dexametasona (DEX) e ciclofosfamida (CP) (DCP) nos pênfigos. Considera-se pulsoterapia com corticoides a modalidade terapêutica específica que se refere à administração de doses maiores que 250 mg de prednisona ou corticosteroides equivalentes, geralmente por via intravenosa, por um ou poucos dias (geralmente menos do que 5 dias) (BUTTGEREIT et al., 2002). Para isso, metilprednisolona 1 g/dia ou dexametasona 300 mg/dia endovenosas são utilizadas, ambas por 3 dias consecutivos. A vantagem da pulsoterapia é permitir redução mais rápida da dose de prednisona oral, minimizando os seus efeitos colaterais (PORRO et al., 2019). Na pulsoterapia para os pênfigos, preconizou-se o uso da DEX por ser a opção mais barata (ABRAHAM et al., 2016).

Os corticosteroides atuam por dois mecanismos nas células. Em baixa concentração, atuam por efeito genômico e em alta concentração, por efeito não genômico (MUSTAFAI et al., 2019).

Corticosteroides em baixa concentração - efeito genômico

Os corticosteroides atuam ligando-se ao receptor intracelular de glicocorticóides (GCR), o que resulta na formação do complexo GCR, que ativa a via de sinalização da proteína quinase (MAPK). Este processo leva à formação de dímeros e subsequente ligação a sequências reguladoras específicas de DNA, conhecidas como elementos de resposta ao glicocorticóide (GREs), que resultam em efeito anti-inflamatório e imunossupressor por regulação positiva ou negativa de genes específicos que codificam proteínas, como muitas citocinas e moléculas de adesão (BUTTGEREIT et al., 2005).

Corticosteroides em alta concentração - efeito não genômico

Os corticosteroides exercem os seus efeitos por mecanismos não genômicos, como receptores ligados à membrana ou interação físico-química com membranas celulares, resultando em imunossupressão rápida via apoptose e indução de lipomodulina. Existem também efeitos pós-transcricionais dos corticosteroides que incluem efeitos na síntese de RNA, e síntese e secreção de proteínas. O resultado final de todos esses efeitos é que os corticosteroides inibem o acesso das células inflamatórias aos tecidos, interferem na função das células endoteliais e suprimem a produção e os efeitos dos fatores humorais, como imunoglobulinas (BUTTGEREIT et al., 2005; BUTTGEREIT; SCHEFFOLD, 2002).

Classicamente, a CP é uma droga antineoplásica, que se liga ao DNA, interfere na mitose e atinge predominantemente células que se dividem rapidamente. Após a conversão para as suas formas ativas, leva à supressão das respostas imunes por inibição da replicação do DNA e morte celular, bem como do efeito citotóxico sobre os linfócitos (AWAD; STUVE, 2009; TAVAKOLPOUR, 2017). Existem relatos sobre o uso de CP oral (dose recomendada: 2 mg/kg/dia) ou pulsoterapia intravenosa (dose recomendada: 500 mg) (HERTL et al., 2015). Seus principais efeitos adversos são infertilidade, predisposição para neoplasias, linfopenia e sepse (PORRO et al., 2019).

A pulsoterapia nos pênfigos possui 4 fases (Figura 7) (PASRICHA; POONAM, 2008). A fase I consiste em pulsos endovenosos de DEX e CP (DCP) repetidos a cada 28 dias até o paciente atingir remissão clínica. A DEX é feita na dose de 100 mg diluídos em 500 ml de soro glicosado, infundida via endovenosa em 2 horas e repetida por três dias consecutivos. No segundo dia, CP na dose de 500 mg é adicionada à infusão de DEX. Anteriormente à prescrição da pulsoterapia, dose oral diária de prednisona (0,5 mg/kg) é introduzida ou mantida, e 50 mg de CP oral são introduzidos no esquema DCP. A fase II consiste em DCP a cada 28 dias por 9 meses (fase de consolidação) e manutenção da

prednisona e/ou CP oral. Na fase III, o paciente permanece apenas com prednisona e/ou CP oral por 9 meses (fase de manutenção); e finalmente chega à fase IV, sem medicamento, que consiste em seguimento pós tratamento. Se o paciente apresentar recaída em qualquer fase do tratamento, retornará à fase I. Pacientes em idade fértil recebem pulsos somente de DEX (DP). Corticosteroides orais podem ser utilizados na fase de doença ativa. Os antibióticos e antifúngicos podem ser prescritos conforme a necessidade do paciente.

Figura 7. Esquema da pulsoterapia com dexametasona e ciclofosfamida para pênfigos, dividida em 4 fases: fase I (indução de remissão); fase II (consolidação); fase III (manutenção) e fase IV (alta e seguimento clínico e laboratorial).

Esse tratamento tem se mostrado tão eficaz quanto a administração das medicações orais diariamente, mas tem a vantagem adicional de estar menos associado aos efeitos adversos graves da corticoterapia oral prolongada (PASRICHA; POONAM, 2008; KANWAR et al., 2002; KANDAN; THAPPA, 2009; SHAIK et al., 2010; SACCHIDANAND et al., 2003; ESPANA ALONSO et al., 2009; KATAKAM et al., 2018).

3. OBJETIVOS

Objetivo geral: Avaliar o desfecho da pulsoterapia com dexametasona e/ou ciclofosfamida, comparando-se os grupos de pacientes com PV e PF.

Foram avaliados:

- (i) Características demográficas - gênero e idade no início da doença, e clínicas - tempo de doença;
- (ii) Número de pulsos na fase I para a remissão;
- (iii) Frequência de remissão e falha terapêutica na fase I;
- (iv) Frequência de remissão na fase IV pós tratamento;
- (v) Frequência de recidiva na fase IV;
- (vi) Frequência de efeitos adversos e intercorrências clínicas;
- (vii) Alelos *HLA* de classes I e II associados aos PV e PF.

4. MÉTODOS

4.1. Tipo de estudo

O presente estudo compreende uma coorte retrospectiva e analítica, com consulta aos prontuários médicos em papel e bases eletrônicas de dados. Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição de acordo com os padrões éticos da Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial N.º 8063/2015.

4.2. Casuística

Foram incluídos os pacientes com PV ou PF que realizaram a pulsoterapia com dexametasona e/ou ciclofosfamida. Os pacientes foram atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), que é a principal Instituição de referência para o tratamento dos pênfigos na região nordeste do estado de São Paulo. A histopatologia e a imunofluorescência direta e/ou indireta, além de ELISA com kits comerciais anti-Dsg 1 e 3 (MBL, Nagoya, Japão) confirmaram o diagnóstico de pênfigo e ajudaram a alocar os pacientes nos grupos PV e PF. Os pacientes foram acompanhados de janeiro de 2006 a junho de 2016. Os critérios de exclusão foram gravidez, lactação e tratamento prévio com rituximabe. As variáveis foram anotadas em planilha de banco de dados Excel (MICROSOFT OFFICE; MICROSOFT®, 2015).

4.3. Pulsoterapia

A primeira prescrição de DC ou DCP ocorreu em janeiro de 2006, quando este esquema terapêutico foi instituído no HCFMRP-USP. O último paciente incluído iniciou a pulsoterapia em julho de 2014, para que tivesse, pelo menos, 2 anos de acompanhamento até 2016. Os regimes de pulsoterapia seguiram as recomendações de Pasricha et al. (1988) (PASRICHA et al., 1988) e as suas modificações (PASRICHA; POONAM, 2008). O DCP era constituído em 100 mg de dexametasona dissolvida em 500 mL de glicose a 5% administrada via intravenosa, por três dias consecutivos. No segundo dia, os pacientes também recebiam 500 mg de CP adicionados à infusão de DEX. Os pacientes jovens que desejavam ter filhos foram tratados com DP. Os regimes DP ou DCP consistiram em quatro fases. A fase I compreendeu pulsos a

cada 28 dias até que o paciente atingisse a remissão clínica. A remissão foi considerada quando o paciente não apresentava novas lesões bolhosas e as lesões antigas estavam cicatrizando. Se o paciente não alcançasse a remissão na fase I, era considerada falha. Anteriormente à prescrição da pulsoterapia, dose oral diária de prednisona (0,5 mg/kg) foi introduzida ou mantida, e 50 mg de CP oral foram introduzidos no esquema DCP. Os pacientes que tiveram infecção de pele também receberam antibióticos e antifúngicos, conforme a necessidade; e antivirais foram prescritos se tivessem úlceras orais compatíveis com herpes simples ou comprovação do herpes por citologia e/ou imunofluorescência em raspado de Tzanck (BRITO et al., 2009; MACHADO et al., 2017). A fase II consistiu em nove pulsos consecutivos a cada 28 dias, com manutenção da prednisona e/ou ciclofosfamida oral para consolidação da remissão. A fase III incluiu da prednisona e/ou ciclofosfamida oral por 9 meses. Durante as fases II e III, os pacientes deveriam permanecer completamente livres de lesões bolhosas. Se as lesões de pênfigo recorriam, a fase I deveria ser reiniciada. A fase I é a fase mais importante nestes regimes de pulsoterapia porque determina a duração do tratamento do paciente uma vez que as fases II e III foram pré fixadas em 9 meses cada. A fase IV, por fim, consistiu em remissão sem medicação e acompanhamento pós-tratamento. Se não ocorriam novas lesões bolhosas na fase IV, o paciente era considerado curado.

4.3.1. Definições dos desfechos da pulsoterapia

Em relação às definições dos desfecho da pulsoterapia, considerou-se:

- i. remissão em tratamento: reepitelização das lesões bolhosas e não surgimento de lesões novas na fase I, e progressão para a fase II;
- ii. remissão pós tratamento: o paciente alcançou a fase IV sem apresentar recidiva;
- iii. recidiva: novas lesões bolhosas após alcançada a fase II, estando o paciente nas fases II, III ou IV;
- iv. falha terapêutica: pacientes que não alcançaram remissão na fase I (após mediana de 24 pulsos).

4.3.2. Avaliação precedendo a prescrição da pulsoterapia

Antecedendo a prescrição da pulsoterapia, foram feitos exames complementares e avaliações (de forma individualizada, a depender da idade, gênero, comorbidades e regime de pulsoterapia proposto – DCP ou DP) :

- i. Laboratoriais - hemograma completo, velocidade de hemossedimentação, proteína C reativa, transaminases séricas, uréia, creatinina, lipidograma, FAN, TSH, anti- TPO, sorologias para hepatites B e C e HIV, PSA (para os homens) e urina 1;
- ii. PPD;
- iii. Radiografia de tórax;
- iv. Eletrocardiograma;
- v. Densitometria óssea;
- vi. Odontológica;
- vii. Ginecológica;
- viii. Urológica.

Além disso, os pacientes atualizaram os seus cartões vacinais.

Anti – parasitários, protetores gástricos e reposição de cálcio e vitamina D também foram prescritos antes da pulsoterapia.

4.4. Caracterização dos alelos *HLA*

Alelos *HLA* de classes I e II de suscetibilidade/proteção aos PV e PF foram obtidos das referências Brochado et al., (2016) e Franco Brochado et al., (2016).

4.5. Análises estatísticas

O teste de *Mann - Whitney* foi utilizado para a análise das variáveis contínuas. As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste exato de *Fisher*. A análise estatística foi realizada com o software Prism GraphPad 8.0 (La Jolla, CA, EUA). O nível de significância foi estabelecido em $\alpha > 5\%$.

5. RESULTADOS

Foram incluídos 37 pacientes com PV - 23 (62%) mulheres; mediana da idade de 42 anos (16 a 69 anos), e 41 pacientes com PF - 24 (58%) mulheres; mediana da idade de 22 anos (10 a 68 anos). Os grupos PV e PF não diferiram em termos de gênero ($P=0,819$); os pacientes com PF eram mais jovens comparados àqueles com PV ($P<0,001$). O tempo de doença que precedeu a prescrição da pulsoterapia foi maior nos pacientes com PF (2 meses a 44 anos) comparado àqueles com PV (2 meses a 7,7 anos) ($P<0,001$). O número de pacientes alocados nos regimes DCP ou DP foi semelhante nos grupos PV e PF ($P=0.235$) (Tabela 1).

Antecedendo a prescrição da pulsoterapia, 32 (86,5%) pacientes com PV e 40 (97,6%) com PF já haviam sido tratados ($P=0,067$) com drogas isoladas ou múltiplas; 71 (91%), 27 (35%), 15 (19%), 16 (20%) e 9 (11%) desses pacientes haviam sido tratados com prednisona, dapsona, hidroxicloroquina, azatioprina e metotrexato, respectivamente. Esses pacientes foram alocados no regime de pulsoterapia devido à refratariedade e aos efeitos colaterais dos corticosteroides orais diários, assim como às outras drogas supramencionadas.

Tabela 1. Dados demográficos e clínicos e os regimes da pulsoterapia nos grupos pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo.

	Pênfigo vulgar	Pênfigo foliáceo	P
	n = 37	n = 41	
Gênero			0,819
Masculino	14	17	
Feminino	23	24	
Idade (anos)			<0,001
Mediana	42	22	
Mínimo-máximo	16-69	10-68	
Duração da doença (meses)			<0,001
Mediana	14	69	
Mínimo-máximo	2-92	2-528	
Regime de pulsoterapia			0,235
DCP	27	24	
DP	10	17	

Desfecho da pulsoterapia no grupo PV

Fase I

Em relação aos 37 pacientes que iniciaram a pulsoterapia, 25 (67,6%) deles obtiveram remissão em tratamento após 6 (1-18) pulsos; 5 (13,5%) apresentaram falha terapêutica após 13 (11-24) pulsos e foram alocados em outras modalidades terapêuticas, como o rituximabe; o tratamento foi suspenso para 2 (5,4%) pacientes por intercorrências clínicas; e 4 (10,8%) abandonaram o tratamento (Tabela 2).

Fase II

Em relação aos 25 pacientes que atingiram a fase II, 1 (2,7%) ainda está em tratamento, 1 (2,7%) abandonou o tratamento, 1 (2,7%) suspendeu o tratamento devido à intercorrência clínica, 1 (2,7%) apresentou recidiva e 21 (56,8%) completaram os 9 meses da fase II.

Fase III

Dos 21 pacientes que atingiram a fase III, 1 (2,7%) ainda está em tratamento, 2 (5,4%) abandonaram o tratamento, 1 (2,7%) apresentou recidiva e 17 (45,9%) alcançaram a fase IV.

Fase IV

Considerando os 17 pacientes que alcançaram a fase IV, 14 (37,8%) deles mantiveram a remissão pós tratamento com o acompanhamento de 12 (8-44) meses, e 3 (8,1%) pacientes recidivaram entre 2 e 3 meses.

Tabela 2. Desfecho da pulsoterapia de acordo com cada fase. Comparação entre os grupos pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo.

	Pênfigo vulgar	Pênfigo foliáceo	P
	n = 37	n = 41	
Fase I	n (%)	n (%)	
Em tratamento	1 (2,7)	3 (7,3)	0,617
Abandono	4 (10,8)	6 (14,6)	0,740
Intercorrências clínicas	2 (5,4)	3 (7,3)	1
Falha terapêutica	5 (13,5)	6 (14,6)	1
Fase II	25 (67,6)	23 (56,1)	0,355
Em tratamento	1 (2,7)	3 (7,3)	0,617
Abandono	1 (2,7)	0	0,474
Intercorrências clínicas	1 (2,7)	1 (2,4)	1
Recidiva	1 (2,7)	0	0,474
Fase III	21 (56,8)	19 (46,3)	0,375
Em tratamento	1 (2,7)	0	0,474
Abandono	2 (5,4)	0	0,222
Intercorrências clínicas	0	0	NA
Recidiva	1 (2,7)	1 (2,4)	1
Fase IV	17 (45,9)	18 (43,9)	1
Recidiva	3 (8,1)	4 (9,7)	1
Remissão pós tratamento	14 (37,8)	14 (34,1)	0,815

NA: Não aplicável.

Comparando os dados demográficos e clínicos dos 14 pacientes em remissão pós tratamento na fase IV e os 5 pacientes que apresentaram falha terapêutica na fase I (Tabela 3), não houve diferenças em termos de gênero ($P=0,631$) ou duração da doença precedendo a prescrição da pulsoterapia ($P=0,374$). No entanto, no subgrupo falha terapêutica observou-se pacientes mais jovens ($P=0,031$).

Tabela 3. Dados demográficos e clínicos (gênero, idade no início da doença e duração da doença) e número de pulsos e duração da fase I dos pacientes com pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo dos subgrupos remissão pós tratamento na fase IV e falha terapêutica na fase I.

		Pênfigo vulgar			Pênfigo foliáceo		
		Remissão pós tratamento	Falha terapêutica	<i>P</i>	Remissão pós tratamento	Falha terapêutica	<i>P</i>
		n = 14	n = 5		n = 14	n = 6	
Gênero	Masculino	4	2	0,631	4	4	0,161
	Feminino	10	3		10	2	
		Mediana (min-max)	Mediana (min-max)		Mediana (min-max)	Mediana (min-max)	
Idade (anos)		50,5 (18-61)	36 (16-48)	0,031	23 (11-45)	36 (13-61)	0,247
Duração da doença (meses)		14 (3-45)	11 (3-34)	0,374	81 (8-528)	114 (5-162)	0,999
Número de pulsos na fase I		6,5 (2-18)	13 (11-24)	0,002	10,5 (3-33)	25 (16-34)	0,004
Duração da fase I (meses)		5,5 (2-19)	19 (10-33)	0,002	12 (4-33)	29,5 (22-51)	0,003

Desfecho da pulsoterapia no grupo PF

Fase I

Entre os 41 pacientes que iniciaram a pulsoterapia, 23 (56,1%) pacientes obtiveram remissão em tratamento na fase I com 10 (2-33) pulsos; 6 (14,6%) pacientes apresentaram falha após 25 (16-34) pulsos; 3 (7,3%) pacientes foram retirados devido a intercorrências clínicas; 6 (14,6%) pacientes abandonaram o tratamento (Tabela 2).

Fase II

Em relação aos 23 pacientes na fase II, 3 (7,3%) estão ainda em tratamento, 1 (2,4%) interrompeu o tratamento devido à intercorrência clínica e 19 (46,4) completaram 9 meses da fase II.

Fase III

Dos 19 pacientes, 1 (2,7%) apresentou recidiva e 18 (43,9%) alcançaram a fase IV.

Fase IV

Considerando 18 pacientes na fase IV, 14 (34,1%) deles mantiveram a remissão pós tratamento com acompanhamento de 26 (8-56) meses, e 4 (9,7%) pacientes apresentaram recidiva após 3 (1-47) meses.

A comparação dos dados demográficos e clínicos entre os 14 pacientes que obtiveram remissão pós tratamento na fase IV e os 6 pacientes que apresentaram falha terapêutica na fase I (Tabela 3) não revelou diferenças em relação ao gênero ($P=0,161$), à idade ($P=0,247$) ou duração da doença precedendo a pulsoterapia ($P=0,999$).

Comparação dos grupos PV e PF que alcançaram a remissão pós tratamento na fase IV

Os grupos PV e PF não diferiram em relação ao gênero ($P=1,0$). No entanto, os pacientes com PF eram mais jovens que os pacientes com PV ($P<0,001$). A duração da doença precedendo a pulsoterapia foi maior nos pacientes com PF comparados àqueles com PV ($P=0,006$). Pacientes com PF necessitaram de maior número de pulsos na fase I para alcançar a remissão do que aqueles com PV (mediana de 10,5 e 6,5 pulsos, respectivamente) ($P=0,026$) (Tabela 4).

Tabela 4. Dados demográficos e clínicos (gênero, idade no início da doença e duração da doença), número de pulsos e duração da fase I e duração da fase IV dos pacientes com pênfigo vulgar e pênfigo foliáceo que alcançaram a remissão pós tratamento na fase IV.

		Pênfigo vulgar	Pênfigo foliáceo	<i>P</i>
		n = 14	n = 14	
Gênero	Masculino	4	4	1,00
	Feminino	10	10	
		Mediana (min-max)	Mediana (min-max)	
Idade (anos)		50,5 (18-61)	23 (11-45)	< 0,001
Duração da doença (meses)		14 (3-45)	81 (8-528)	0,006
Número de pulsos na fase I		6,5 (2-18)	10,5 (3-33)	0,026
Duração da fase I (meses)		5,5 (2-19)	12 (4-33)	0,015
Duração do acompanhamento na fase IV (meses)		12 (8-44)	26 (8-56)	0,070

Eventos adversos e intercorrências clínicas durante a pulsoterapia

Em geral, a pulsoterapia foi bem tolerada, porém, eventos adversos leves (infecção secundária, infecção urinária, náusea e vômito, cefaleia e hematúria) ocorreram em 82,3% e 73,5% dos pacientes com PV e PF, respectivamente ($P=0,435$).

No grupo PV, houve necessidade da suspensão da pulsoterapia devido a intercorrências clínicas em 3 casos:

i) Tumor renal. Paciente do gênero masculino, 54 anos, era portador de PV há 7 anos, sem o controle das lesões cutâneo-mucosas com os tratamentos que antecederam o início da pulsoterapia (prednisona, azatioprina e dapsona) e apresentava comorbidades associadas ao uso crônico do corticosteroide oral (diabetes mellitus, hipertensão arterial, dislipidemia e osteopenia). Foi alocado para tratamento com pulsoterapia (regime DCP), recebeu 4 pulsos de DCP na fase I e, devido a infecções urinárias de repetição, o tratamento foi suspenso para investigação clínica. Confirmou-se tumor renal de células claras. A imunofluorescência indireta em substrato de bexiga de rato auxiliou na confirmação de pênfigo paraneoplásico (PAOLINO et al., 2017). O paciente evoluiu com choque séptico de foco urinário e óbito.

ii) Tuberculose latente. Paciente do gênero feminino, 69 anos, iniciou o quadro cutâneo bolhoso 2 meses antes da primeira consulta no HCFMRP – USP. Após a confirmação diagnóstica de PV, a paciente foi alocada para tratamento com pulsoterapia (regime DCP), recebeu 6 pulsos na fase I e teve o tratamento suspenso para o início do tratamento de tuberculose latente diagnosticada no ambulatório de moléstias infecciosas. Até o momento da análise do prontuário, ainda não havia retomado a pulsoterapia.

iii) Ideação homicida. Paciente do gênero masculino, 36 anos, tinha PV há 6 meses e já estava em uso de prednisona oral na ocasião da primeira consulta no HCFMRP – USP. Foi alocado para tratamento com pulsoterapia (regime DCP) e alcançou remissão após 1 pulso na fase I. Realizou 5 pulsos na fase II e teve o tratamento suspenso devido sintomas de ideação homicida. Tinha o diagnóstico prévio de transtorno de personalidade anti-social.

Em relação ao grupo PF, para 4 casos houve necessidade da suspensão da pulsoterapia devido a intercorrências clínicas:

i) Fístula buco-sinusal. Paciente do gênero feminino, 57 anos, tinha diagnóstico de PF há 15 anos, em tratamento com prednisona oral desde o início da doença, por vezes, associada a medicamentos imunossupressores adjuvantes (metotrexato, azatioprina, dapsona, difosfato de cloroquina). Apresentava comorbidades associadas ao uso crônico do corticosteroide oral

(síndrome de cushing exógena, glaucoma e osteopenia). Foi alocada para pulsoterapia (regime DCP) e após 15 pulsos na fase I, sem remissão, apresentou osteomielite maxilar e fístula buco-sinusal, necessitando interromper a pulsoterapia para o tratamento da complicação infecciosa. Até o momento da análise do prontuário, ainda não havia retomado a pulsoterapia.

ii) Investigação de neoplasias. Paciente do gênero feminino, 37 anos, tinha PF há 7 anos, sem o controle da doença com os tratamentos que antecederam o início da pulsoterapia (prednisona, azatioprina, merotrexato, difosfato de cloroquina e dapsona) e apresentava comorbidades associadas ao uso crônico do corticosteroide oral (síndrome de cushing exógeno, diabetes mellitus, hipertensão arterial, dislipidemia e osteoporose). Foi alocada para tratamento com pulsoterapia (regime DCP), recebeu 21 pulsos de DCP na fase I, sem remissão e apresentou o resultado positivo em exame pesquisa de sangue oculto nas fezes. O tratamento foi suspenso para investigar neoplasias. Até o momento da análise do prontuário, ainda não havia retomado a pulsoterapia.

iii) Artrite séptica e múltiplas infecções secundárias de pele. Paciente do gênero masculino, 15 anos, recebeu o diagnóstico de PF 4 meses antes do início da pulsoterapia e estava em uso de prednisona oral desde então. Era usuário de drogas e apresentava comorbidades associadas ao uso crônico do corticosteroide oral (síndrome de cushing exógeno e hipertensão arterial) além de azoospermia. Foi alocado para pulsoterapia (regime DCP), recebeu 3 pulsos na fase I e apresentou artrite séptica. A pulsoterapia foi suspensa para o tratamento da infecção. O paciente foi, posteriormente, alocado no tratamento com rituximabe devido ao histórico de recorrentes infecções secundárias de pele.

iv) Tratamento dentário. Paciente do gênero masculino, 15 anos, tinha PF há 4 anos e ausência de remissão da doença com os tratamentos prévios à pulsoterapia utilizados desde o diagnóstico (prednisona e azatioprina). Foi alocado para pulsoterapia (regime DP) mas precisou interrompê-la para tratamento de canal dentário. Havia completado a fase I, com 10 pulsos, e encontrava-se no primeiro pulso da fase II.

Nenhum paciente foi a óbito em decorrência da pulsoterapia.

Diagnóstico de tumor após a suspensão da pulsoterapia

Diagnosticou-se adenocarcinoma prostático em um paciente de 60 anos de idade com PF. O paciente tinha PF há 25 anos, em tratamento, desde então, com prednisona oral, sem remissão. Era tabagista e portador de osteoporose. Foi alocado para pulsoterapia (regime DCP)

e alcançou a remissão pós tratamento na fase IV. O paciente realizou 34 DCP (25 pulsos na fase I e 9 pulsos na fase II). Apresentou recidiva 1 mês após ter alcançado a fase IV e 6 meses depois teve o diagnóstico de adenocarcinoma de próstata. A dose total acumulada de ciclofosfamida desse paciente foi de 81,5 g.

Alelos *HLA* e o desfecho da pulsoterapia nos grupos PV e PF

Para ambos os grupos PV e PF, não foram encontradas associações entre os alelos de suscetibilidade ou proteção e o desfecho da pulsoterapia, ao se comparar os subgrupos remissão em tratamento e falha terapêutica na fase I (Tabelas 5 e 6); e remissão pós tratamento na fase IV e falha terapêutica na fase I (Tabelas 7 e 8) ($P > 0,05$ para todos).

Tabela 5. Frequências dos alelos *HLA* de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo vulgar, considerando os subgrupos remissão em tratamento e falha terapêutica na fase I.

	Remissão em tratamento	Falha terapêutica	
	n = 50	n = 10	
Alelos de proteção	n (%)	n (%)	P
<i>B*15</i>	2 (4)	1 (10)	0,427
<i>DRB1*07:01</i>	2 (4)	0	1
Alelos de suscetibilidade			
<i>A*26</i>	3 (6)	1 (10)	0,528
<i>B*38</i>	1 (2)	0	1
<i>C*12</i>	6 (12)	0	0,577
<i>DRB1*04:02</i>	12 (24)	2 (20)	1
<i>DRB1*08:04</i>	5 (10)	3 (30)	0,120
<i>DRB1*14:01</i>	7 (14)	1 (10)	1
<i>DRB1*14:04</i>	1 (2)	1 (10)	0,308
<i>DQA1*03:01</i>	7 (14)	1 (10)	1
<i>DQB1*03:02</i>	14 (28)	4 (40)	0,468
<i>DQB1*05:03</i>	3 (6)	2 (20)	0,190

Tabela 6. Frequências dos alelos *HLA* de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo foliáceo, considerando os subgrupos remissão em tratamento e falha terapêutica na fase I.

	Remissão em tratamento	Falha terapêutica	
	n = 44*	n = 12	
Alelos de proteção	n (%)	n (%)	P
A*2	10 (22,7)	1 (8,3)	0,424
<i>DRB1</i> *11:01	1 (2,3)	0	1
<i>DQAI</i> *02:01	1 (2,3)	0	1
<i>DQBI</i> *03:01	5 (11,4)	1 (8,3)	1
Alelos de suscetibilidade			
A*11	4 (9)	0	0,567
A*33	5 (11,4)	0	0,573
B*14	5 (11,4)	0	0,573
<i>DRB1</i> *01:01	7 (15,9)	1 (8,3)	0,672
<i>DRB1</i> *01:02	10 (22,7)	2 (16,7)	1
<i>DQAI</i> *01:02	3 (6,8)	3 (25)	0,105
<i>DQBI</i> *05:01	17 (38,6)	3 (25)	0,506

* Um paciente desse grupo não realizou a genotipagem.

Tabela 7. Frequências dos alelos *HLA* de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo vulgar, considerando os subgrupos remissão pós tratamento na fase IV e falha terapêutica na fase I.

	Remissão pós tratamento	Falha terapêutica	
	n = 28	n = 10	
Alelos de proteção	n (%)	n (%)	P
<i>B*15</i>	1 (3,6)	1 (10)	0,462
<i>DRB1*07:01</i>	1 (3,6)	0	1
Alelos de suscetibilidade			
<i>A*26</i>	1 (3,6)	1 (10)	0,462
<i>C*12</i>	4 (14,3)	0	0,556
<i>DRB1*04:02</i>	7 (25)	2 (20)	1
<i>DRB1*08:04</i>	3 (10,7)	3 (30)	0,310
<i>DRB1*14:01</i>	3 (10,7)	1 (10)	1
<i>DRB1*14:04</i>	0	1 (10)	0,263
<i>DQA1*03:01</i>	5 (17,8)	1 (10)	1
<i>DQB1*03:02</i>	8 (28,6)	4 (40)	0,694
<i>DQB1*05:03</i>	4 (14,3)	2 (20)	0,644

Tabela 8. Frequências dos alelos *HLA* de suscetibilidade ou proteção relacionados ao desfecho da pulsoterapia dos pacientes com pênfigo foliáceo, considerando os subgrupos remissão pós tratamento na fase IV e falha terapêutica na fase I.

	Remissão pós tratamento	Falha terapêutica	
	n = 28	n = 12	
Alelos de proteção	n (%)	n (%)	P
<i>A*2</i>	6 (21,4)	1 (8,3)	0,652
<i>DRBI*11:01</i>	1 (3,6)	0	1
<i>DQAI*02:01</i>	1 (3,6)	0	1
<i>DQBI*03:01</i>	3 (10,7)	1 (8,3)	1
Alelos de suscetibilidade			
<i>A*11</i>	3 (10,7)	0	0,541
<i>A*33</i>	3 (10,7)	0	0,541
<i>B*14</i>	2 (7,1)	0	1
<i>DRBI*01:01</i>	4 (14,2)	1 (8,3)	1
<i>DRBI*01:02</i>	6 (21,4)	2 (16,7)	1
<i>DQAI*01:02</i>	2 (7,1)	3 (25)	0,149
<i>DQBI*05:01</i>	10 (35,7)	3 (25)	0,716

6. DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, a pulsoterapia tornou-se opção bem-sucedida e segura no tratamento dos pênfigos: evita os eventos adversos graves do tratamento tradicional com corticosteroides e/ou drogas imunossupressoras a longo prazo (PASRICHA et al., 1995; PASRICHA, 2003).

Embora a pulsoterapia tenha sido classicamente prescrita para outras doenças autoimunes (RUIZ-IRASTORZA et al., 2017), a caracterização e a avaliação do seu desfecho nos pênfigos ainda são relativamente escassas (PASRICHA; POONAM, 2008; KANWAR et al., 2002; KHATRI, 2016; PASRICHA et al., 1995; ROY; KALLA, 1997; KANDAN; THAPPA, 2009; HASSAN et al., 2014; TOTH et al., 2002; APPELHANS et al., 1993).

O primeiro relato de administração de pulsoterapia com corticosteroide é atribuído a Kountz e Cohn (1969), que a utilizaram para prevenir rejeição de aloenxerto renal (KOUNTZ; COHN, 1969). Posteriormente, a pulsoterapia com corticosteroides foi prescrita para várias doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, pioderma gangrenoso, dermatomiosite, vasculite sistêmica e esclerodermia (MUSTAFAI et al., 2019). A pulsoterapia com corticosteroides e ciclofosfamida para os pênfigos foi primeiramente utilizada por Pasricha et al. (1988) no Instituto de Ciências Médicas da Índia, Nova Délhi, em 1982 (PASRICHA et al., 1988).

O doutor Pasricha, o idealizador e pioneiro na prescrição da pulsoterapia nos pênfigos, relatou remissão/cura, a longo prazo, em 76,8% dos 500 casos (444 PV, 33 PF, 18 pênfigos eritematosos e 5 pênfigos vegetantes) tratados com os regimes DCP ou DP, entre 1982 e 1998. A maioria desses pacientes estava na fase IV da pulsoterapia (seguimento pós tratamento) há mais de 5 anos (PASRICHA, 2003).

Diversos estudos acerca dos regimes DCP ou DP revelaram remissão da doença em 20 a 100% dos casos após 6 meses a 20 anos de acompanhamento (PASRICHA; POONAM, 2008; KANWAR et al., 2002; KHATRI, 2016; PASRICHA et al., 1995; ROY; KALLA, 1997; KANDAN; THAPPA, 2009; HASSAN et al., 2014; TOTH et al., 2002; APPELHANS et al., 1993; SAHA et al., 2010). No nosso estudo, o desfecho da pulsoterapia foi bastante semelhante ao relatado em estudos anteriores: 36% do total de pacientes alcançaram a fase IV, sem recidiva após seguimento de 8 meses a 5 anos. Ainda, comparou-se a frequência dos desfechos das duas principais formas de pênfigos, PV e PF, ambas prevalentes na nossa região (VERNAL et al., 2017; CELERE et al., 2017; CELERE et al., 2017; GONCALVES et al., 2011) e não houve

diferença significativa entre os grupos. Os resultados podem variar devido às drogas utilizadas e à inclusão de medicamentos adicionais, como antimicrobianos, antifúngicos, antivirais e/ou corticosteroides orais (PASRICHA, 2003; SHAIK et al., 2010).

A duração da doença precedendo a pulsoterapia foi mais longa nos pacientes com PF - além de quatro anos a mais comparada aos pacientes com PV. O comportamento epidemiológico e clínico do PF poderia explicar esse achado – o PF geralmente começa em idade mais precoce e é geralmente menos agressivo que o PV, permitindo período mais longo antes do início do tratamento e antes da necessidade de encaminhamento para um nível terciário de atenção, como o nosso serviço. O longo tempo de doença antes do tratamento geralmente implica em doença mais grave, a qual costuma ser mais resistente ao tratamento e requerer maior número de pulsos na fase I para que a remissão seja alcançada (KANWAR et al., 2002; KANWAR et al., 2006; NAYAK et al., 2014; MUNDAKKAT; SRIDHARAN, 2018). Os pacientes com PV iniciaram a pulsoterapia mais precocemente, após período mais curto de duração da doença, o que poderia justificar a resposta mais rápida e o menor número de pulsos necessários para alcançar a remissão na fase I (ROGA; AUGUSTINE, 2018).

Os pacientes com PV e PF que alcançaram a fase IV, sem recidiva, precisaram de 6,5 e 10,5 pulsos na fase I, respectivamente, para alcançar a remissão. Os resultados são comparáveis aos resultados do relato de Pasricha e Poonam (2008), no qual 91% dos pacientes necessitaram até 12 pulsos na fase I para alcançar a remissão (PASRICHA; POONAM, 2008), e a outros relatos na literatura acerca da pulsoterapia para tratamento dos pênfigos (KANWAR et al., 2006; NAYAK et al., 2014; MAHAJAN et al., 2005). Há descrição de remissão com 2 pulsos (SHAIK et al., 2010) até 32 pulsos para remissão na fase I (KANWAR et al., 2002).

No Brasil, Fernandes e Menezes (2013) relataram série de 11 pacientes com pênfigo (8 PV e 3 PF), tratados com o regime de pulsoterapia, no estado do Rio de Janeiro, no período de 2005 a 2011 (FERNANDES; MENEZES, 2013). Nesse estudo, 3 pacientes com PV e 1 com PF receberam o regime DCP; os demais, pulsoterapia com ciclofosfamida isolada e prednisona oral. Os autores verificaram que foram necessários 8 a 14 pulsos no regime DCP, e que os pacientes com PV precisaram de maior número de pulsos (9 a 14 pulsos em comparação com 8 pulsos no PF). No entanto, os autores não descreveram a duração da doença precedendo a pulsoterapia, o que pode ter participação no seu desfecho. Além disso, o regime DCP foi diverso daquele proposto por Pasricha e Poonam (2008) e constituiu-se da seguinte forma: fase I: pulsos de DCP associados à prednisona oral (90 a 120 mg/dia) até a remissão completa das lesões cutâneas e remissão parcial das lesões mucosas; fase II: descontinuação da dexametasona e

manutenção de pulsos de ciclofosfamida isolada; fase III: redução da prednisona oral para 20 mg/dia (redução de 10 mg a cada 10 dias); fase IV: descontinuação dos pulsos de ciclofosfamida; fase V: redução gradual da prednisona oral (de 20 mg a 15 mg a 10 mg a 5 mg a 2,5 mg) a cada 6 meses. As diferentes metodologias empregadas dificultam as comparações com os nossos dados e da literatura.

Considerando-se a faixa etária no grupo PV, pacientes mais jovens apresentaram falha terapêutica na fase I. Esse fato não havia sido evidenciado em outros estudos, mas havia sido observado no tratamento convencional com corticosteroides orais com ou sem medicamentos adjuvantes. De fato, a idade inferior a 40 anos foi identificada como fator prognóstico independente de desfecho ruim e má resposta ao tratamento (MIMOUNI et al., 2010). No grupo PF, por sua vez, não houve associação entre características demográficas e clínicas e o desfecho da pulsoterapia.

O tratamento incompleto ou irregular ou a prescrição da pulsoterapia com medicação isolada podem levar à recidiva, definida como recorrência das lesões bolhosas após ter alcançado a remissão completa (PASRICHA; POONAM, 2008; KANDAN; THAPPA, 2009; PASRICHA et al., 1989; PASRICHA; KHAITAN, 1996). Para Pasricha et al., (1995), o sucesso da pulsoterapia depende de um protocolo rigoroso e do acompanhamento do paciente (PASRICHA et al., 1995). No presente estudo, dos pacientes com PV e PF, respectivamente, 3 (8,1%) e 4 (9,7%) apresentaram recidiva na fase IV após 2 meses a 4 anos de seguimento; 5 (13,5%) e 6 (14,6%), apresentaram falha terapêutica na fase I; 84% destes pacientes se encaixaram em um ou mais dos problemas acima mencionados. A frequência de recidiva em relação ao regime de pulsoterapia foi de 7,8% e 11,1% para DCP e DP, respectivamente. Pasricha e Poonam (2008) relataram frequências de recidiva bastante semelhantes em relação ao regime de pulsoterapia, 7,7% no regime DCP e 15% no regime DP; no entanto, não descreveram os dados dos subtipos de pênfigos separadamente (PASRICHA; POONAM, 2008). Na série de casos brasileira reportada por Fernandes e Menezes (2013), 67% dos pacientes com PV tratados com o regime DCP apresentaram recidiva no período de 1 a 2 anos de acompanhamento; e o paciente com PF tratado com o regime DCP apresentou recidiva após 3 anos de acompanhamento. Nesse estudo, os pulsos do regime DCP de pulsoterapia foram inicialmente realizados com ambas as medicações, dexametasona e ciclofosfamida; e depois, apenas com a ciclofosfamida. Além disso, todos os pacientes tratados com o regime de pulsoterapia com ciclofosfamida isolada (3 pacientes com PV e 2 pacientes com PF)

apresentaram recidiva, durante o período de seguimento de 1 a 3 anos (FERNANDES; MENEZES, 2013).

Mahajan et al., (2005) observaram 58% de taxa de abandono nos pacientes com pênfigos tratados com DCP. As internações frequentes, a baixa adesão nas fases II e III (já que as lesões já estão cicatrizadas e o paciente encontrava-se em remissão clínica) e as longas viagens ao centro de tratamento poderiam explicar essa alta taxa (MAHAJAN et al., 2005). No presente estudo, a taxa de evasão da pulsoterapia foi de 16.7%, a qual foi inferior à dos outros estudos (ROY; KALLA, 1997; KANDAN; THAPPA, 2009). Não se observou diferença significativa entre os grupos PV e PF. Identificou-se como os principais motivos do abandono: i) a longa e, muitas vezes, difícil locomoção de outras cidades para o centro de referência; ii) problemas pessoais e familiares; iii) mas houve também abandono sem justificativa. Manter a adesão dos pacientes à pulsoterapia é, certamente, um desafio para os médicos que trabalham com esta modalidade de tratamento. Por outro lado, a menor taxa de abandono registrada no nosso estudo pode ter relação com as reuniões semanais antes de iniciado o atendimento médico ambulatorial. Nas reuniões, com a presença dos pacientes agendados no dia, seus familiares e amigos, a coordenadora do ambulatório - Profa. Ana Maria Roselino, e a aluna de Mestrado, psicóloga, Aline Matias, proferiam aula sobre pênfigos e respondiam aos questionamentos emanados do público (MATIAS; ROSELINO, 2013; MATIAS; ROSELINO, 2013).

Antecedendo o emprego dos corticosteroides no tratamento dos pênfigos, a letalidade da doença chegava a 70% (HERTL et al., 2015). Após a introdução dos corticosteroides, a letalidade caiu para 29% e, reduziu ainda mais, chegando a 5,9% com o uso de medicamentos imunossupressores adjuvantes (MASOOD et al., 2003). No entanto, na década de 1980, a mortalidade aumentou ligeiramente e permaneceu constante em 6,2% nas últimas duas décadas, principalmente devido aos efeitos adversos graves decorrentes do uso crônico de corticosteroides orais (SHARMA; KHANDPUR, 2013; SILVA et al., 2008). Estudos acerca da pulsoterapia no tratamento dos pênfigos têm evidenciado rápida recuperação, redução da morbidade e menor incidência de eventos adversos graves, inclusive em pacientes pediátricos (SACCHIDANAND et al., 2003; SHAIK et al., 2010; RAO; LAKSHMI, 2003; MASOOD et al., 2003; PANDYA; SONTHEIMER, 1992; KAUR; KANWAR, 1990; SHAHIDI-DADRAS et al., 2007; KATAKAM et al., 2018). Entretanto, a pulsoterapia não é isenta de eventos adversos, sendo astenia, fadiga, mialgia, artralgia, rubor, palpitações, insônia, cefaleia, anorexia, náuseas e vômitos os mais comumente descritos (JAIN; KUMAR, 2003). A maioria dos nossos pacientes tolerou bem a pulsoterapia e apresentou eventos adversos leves, como infecção

secundária de pele, infecção urinária, náusea e vômito, cefaleia e hematúria, que ocorreram em 82,3% e 73,5% dos pacientes dos grupos PV e PF, respectivamente.

Houve um caso de adenocarcinoma prostático diagnosticado em paciente com PF, 7 meses após ter alcançado a fase IV. A ciclofosfamida foi lhe prescrita por 3,5 anos, com dose acumulada de 81,5 g. Os efeitos colaterais graves relatados com o uso deste medicamento, como doenças linfoproliferativas, câncer de bexiga e cistite hemorrágica, foram observados após o uso de 85 g de ciclofosfamida (GOKHALE et al., 2003). Não podemos atribuir diretamente este caso de câncer à pulsoterapia com ciclofosfamida, porque a dose acumulada foi menor neste paciente. De qualquer forma, deve-se monitorar cuidadosamente a ocorrência de efeitos adversos relacionados à ciclofosfamida.

A ocorrência de óbitos durante a pulsoterapia já foi previamente descrita na literatura. Pasricha (2003), em seu estudo com 500 pacientes com pênfigo, relatou 19 óbitos cujas causas, na maioria das vezes, não estavam associadas à doença nem ao tratamento ou eram preveníveis com um melhor manejo do paciente (PASRICHA, 2003). Em um estudo com 37 pacientes com pênfigos tratados com pulsoterapia, Roy e Kalla (1997) relataram 10,8% de óbitos: 2 pacientes morreram em decorrência de septicemia, cujo foco não foi mencionado pelos autores; 1 paciente morreu devido a choque circulatório; e 1 paciente evoluiu com parada cardíaca (ROY; KALLA, 1997). Neste estudo, nenhum paciente morreu em decorrência de complicações relacionadas ao tratamento. Houve um óbito devido a choque séptico de foco urinário, em paciente com tumor renal e pênfigo paraneoplásico.

Os alelos *HLA* estão sabidamente envolvidos na patogênese dos pênfigos, e a associação entre os alelos *HLA* de classe II e a gravidade da doença nos pacientes com PV já foi descrita. Mais especificamente, os alelos *DRB1**04:02 e *DQB1**03:02 foram relacionados às formas graves de PV (SVECOVA et al., 2014). A evolução da doença pode ter um componente genético, que afeta o curso clínico, bem como a eficácia do tratamento (KASPERKIEWICZ et al., 2019).

No presente estudo, a análise dos alelos *HLA* de classes I e II apresentados pelos pacientes com PV e PF não mostrou associação com o desfecho da pulsoterapia. Uma ampla gama de características genéticas e imunológicas pode estar relacionada ao comportamento clínico e às respostas aos tratamentos, um conceito conhecido como medicina personalizada (TAVAKOLPOUR, 2017), que sugere opções de tratamento específicas, bem como dosagem de medicamento baseada no perfil genético do paciente. Infelizmente, até o momento, nenhum

estudo associou a medicina personalizada e o tratamento dos pênfegos; e a nossa série de casos não foi suficientemente ampla para se conseguir tal feito.

Desde a introdução por Pasricha et al., (1988) em 1982, a pulsoterapia tem revolucionado o tratamento dos pênfegos. Essa modalidade terapêutica propicia não apenas o controle, mas também a remissão total com menor taxa de eventos adversos graves associados.

Os nossos resultados proporcionaram uma melhor compreensão da pulsoterapia, na busca pelo tratamento mais adequado de acordo com o perfil do paciente. Até onde sabemos, este foi o primeiro estudo brasileiro que avaliou o perfil genético e a resposta ao tratamento em pacientes com pênfego. Nossos resultados serão úteis para estudos futuros com casuística ampliada, com o objetivo de esclarecer o perfil genético durante o tratamento dos pênfegos.

7. CONCLUSÕES

Os grupos PV e PF apresentaram frequências de desfecho semelhantes na pulsoterapia.

A falha foi relacionada com os pacientes mais jovens no grupo PV, portanto, a idade poderia ser considerada um fator prognóstico de desfecho desfavorável da pulsoterapia.

Os pacientes com PF necessitaram de um maior número de pulsos na fase I para alcançar a remissão em comparação ao grupo PV, o que pode estar relacionado à maior duração da doença antes da pulsoterapia, fato que pode estimular a prescrição da pulsoterapia mais precocemente.

A pulsoterapia propiciou e manteve em remissão 36% dos pacientes, com efeitos adversos leves reportados.

Nenhuma associação foi encontrada entre os alelos *HLA* e o desfecho da pulsoterapia, provavelmente devido ao tamanho amostral insuficiente.

- ABASQ, C. H. *et al.* 'ELISA testing of anti-desmoglein 1 and 3 antibodies in the management of pemphigus', *Arch Dermatol*, v.145, p. 529-35, 2009.
- ABIDA, O. M. *et al.* 'Tunisian endemic pemphigus foliaceus is associated with the HLA-DR3 gene: anti-desmoglein 1 antibody-positive healthy subjects bear protective alleles', *Br J Dermatol*, v.161, p. 522-7, 2009.
- ABRAHAM, A; ROGA, G; JOB, A.M. 'Pulse Therapy in Pemphigus: Ready Reckoner', *Indian J Dermatol*, v. 61, p. 314-7, 2016.
- ABREU-VELEZ, A. M *et al.* 'Endemic pemphigus foliaceus over a century: Part I', *N Am J Med Sci*, v.2, p. 51-9, 2010.
- AHMED, A. R. M. *et al.* 'Monopathogenic vs multipathogenic explanations of pemphigus pathophysiology', *Exp Dermatol*, v.25, p.839-46, 2016.
- AKHYANI, M. A. *et al.* 'Ocular involvement in pemphigus vulgaris', *J Dermatol*, v.41, p. 618-21, 2014.
- ALCAIDE-MARTIN, A. J. *et al.* '[Epidemiologic study of 20 cases of pemphigus at Hospital Clinico Universitario Virgen de la Victoria de Malaga, Spain]', *Actas Dermosifiliogr*, v.101, p.524-33, 2010.
- ALPSOY, E. A. *et al.* 'Geographic variations in epidemiology of two autoimmune bullous diseases: pemphigus and bullous pemphigoid', *Arch Dermatol Res*, v.307, p. 291-8. 2015.
- ALTUN, E. S. *et al.* 'Clinical and Demographic Characteristics of Pemphigus Vulgaris Patients', *Acta Dermatovenereol Croat*, v.26, p.119-25, 2018.
- AMAGAI, M. 'Autoimmunity against desmosomal cadherins in pemphigus', *J Dermatol Sci*, v.20, p. 92-102, 1999.
- AMBIEL, M. V; ROSELINO, A. M. 'Prevalence of Metabolic Syndrome and its components in a Brazilian sample of pemphigus patients', *An Bras Dermatol*, v.89, p.752-6, 2014.
- ANAND, V. *et al.* 'Utility of desmoglein ELISA in the clinical correlation and disease monitoring of pemphigus vulgaris', *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.26, p.1377-83, 2012.
- APPELHANS, M. *et al.* '[Dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy in bullous autoimmune dermatoses]', *Hautarzt*, v.44, p.143-7, 1993.
- AVGERINO, G. *et al.* 'Correlation of antibodies against desmogleins 1 and 3 with indirect immunofluorescence and disease status in a Greek population with pemphigus vulgaris', *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.27, p. 430-5, 2013.

- AWAD, A; STUVE, O. **'Cyclophosphamide in multiple sclerosis: scientific rationale, history and novel treatment paradigms'**, *Ther Adv Neurol Disord*, v. 2, pp.50-61, 2009.
- BELLON, N. *et al.* **'The Value of Anti-Desmoglein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in the Immunological Follow-Up of Pemphigus'**, *Dermatology*, v.229, n.3, p.256-62, 2014.
- BIROL, A. *et al.* **'HLA-class 1 and class 2 antigens in Turkish patients with pemphigus'**, *Int J Dermatol*, v.41, p. 79-83, 2012.
- BRICK, C. *et al.* **'Pemphigus and HLA in Morocco'**, *Transfus Clin Biol*, 14: 402-6, 2007.
- BRITO, M. M. *et al.* **'[Tzanck smears: an old but useful diagnostic tool]'**, *An Bras Dermatol*, 84: 431-3, 2009.
- BROCHADO, M. J. *et al.* **'Differential HLA class I and class II associations in pemphigus foliaceus and pemphigus vulgaris patients from a prevalent Southeastern Brazilian region'**, *J Autoimmun*, v.72, p. 19-24, 2016.
- BUONAVOGLIA, A. *et al.* **'Pemphigus and mucous membrane pemphigoid: An update from diagnosis to therapy'**, *Autoimmun Rev*, v.18,p. 349-58, 2019.
- BUTTGEREIT, F *et al.* **'Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: current questions and tentative answers in rheumatology'**, *Ann Rheum Dis*, v. 61, p. 718-22, 2002.
- BUTTGEREIT, F. *et al.* **'The molecular basis for the effectiveness, toxicity, and resistance to glucocorticoids: focus on the treatment of rheumatoid arthritis'**, *Scand J Rheumatol*, v. 34, p. 14-21, 2005.
- BUTTGEREIT, F; SCHEFFOLD. A. **'Rapid glucocorticoid effects on immune cells'**, *Steroids*, v. 67, p. 529-34, 2002.
- BYSTRYN, J. C; STEINMAN, N.M. **'The adjuvant therapy of pemphigus. An update'**, *Arch Dermatol*, v.132, p. 203-12, 1996.
- CALDELARI, R. *et al.* **'A central role for the armadillo protein plakoglobin in the autoimmune disease pemphigus vulgaris'**, *J Cell Biol*, v.153, p. 823-34, 2001.
- CARCASSI, C. *et al.* **'HLA haplotypes and class II molecular alleles in Sardinian and Italian patients with pemphigus vulgaris'**, *Tissue Antigens*, 48: 662-7.
- CELENTANO, A; CIRILLO, N. **'Desmosomes in disease: a guide for clinicians'**, *Oral Dis*. v.23, n.2, p.157-167, 2016.
- CELERE, B. S. *et al.* **'Geographical foci and epidemiological changes of pemphigus vulgaris in four decades in Southeastern Brazil'**, *Int J Dermatol*, v.56, n.12, p. 1494-1496, 2017.

- CELERE, B. S. *et al.* 'Spatial Distribution of Pemphigus Occurrence over Five Decades in Southeastern Brazil', *Am J Trop Med Hyg*, v.97, p. 1737-45, 2017.
- CHERNYAVSKY, A. I. *et al.* 'Desmoglein versus non-desmoglein signaling in pemphigus acantholysis: characterization of novel signaling pathways downstream of pemphigus vulgaris antigens', *J Biol Chem*, v.282, p.13804-12, 2007.
- CHIOSSI, M. P. *et al.* 'Dermal dendritic cell number correlates with serum autoantibody titers in Brazilian pemphigus foliaceus patients', *Braz J Med Biol Res*, v.37, p. 337-41, 2004.
- CHIOSSI, M. P; ROSELINO, A.. 'Endemic Pemphigus foliaceus ("Fogo selvagem"): a series from the Northeastern region of the State of Sao Paulo, Brazil, 1973-1998', *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, v.43, p.59-62, 2001.
- CHRIGUER, R. S. 'Glucocorticoid sensitivity and proinflammatory cytokines pattern in pemphigus', *J Clin Immunol*, v.32, p.786-93, 2012.
- CIRILLO, N. *et al.* 'Urban legends: pemphigus vulgaris', *Oral Dis*, v.18, p. 442-58, 2012.
- COELHO, L. K. *et al.* 'Esophageal Nikolsky's sign in pemphigus vulgaris', *Endoscopy*, v.29, 1997.
- AMAGAI, M. *et al.* 'Japanese guidelines for the management of pemphigus', *J Dermatol*, v.41, n.6, p. 471-86, 2014.
- D'AURIA, L. *et al.* 'Cytokines in the sera of patients with pemphigus vulgaris: interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha levels are significantly increased as compared to healthy subjects and correlate with disease activity', *Eur Cytokine Netw*, v.8, p.383-7, 1997.
- DA SILVA, A. V. *et al.* 'Pemphigus vulgaris: a therapeutic option for disease control', *Gen Dent*, v.56, p. 700-3, 2008.
- DAINICHI, T. *et al.* 'IgG4, complement, and the mechanisms of blister formation in pemphigus and bullous pemphigoid', *J Dermatol Sci*, v.88, p. 265-70, 2017.
- DAS, D. *et al.* 'Emerging role of immune cell network in autoimmune skin disorders: An update on pemphigus, vitiligo and psoriasis', *Cytokine Growth Factor Rev*, v.45, p.35-44, 2019.
- DE ALMEIDA, D. E; HOLOSHITZ, J. 'MHC molecules in health and disease: At the cusp of a paradigm shift', *Self Nonself*, v.2, p. 43-48, 2011.
- DELVA, E. *et al.* 'Pemphigus vulgaris IgG-induced desmoglein-3 endocytosis and desmosomal disassembly are mediated by a clathrin- and dynamin-independent mechanism', *J Biol Chem*, v.283, p.18303-13, 2008.
- ESPANA ALONSO, A. *et al.* '[Prolonged complete clinical remission in patients with severe pemphigus vulgaris after cycles of intravenous cyclophosphamide]', *Actas Dermosifiliogr*, v.100, p. 113-20, 2009.

FATTAL, I. et al. '**Pemphigus vulgaris is characterized by low IgG reactivities to specific self-antigens along with high IgG reactivity to desmoglein 3**', *Immunology*, v. 143, p. 374-80, 2014.

FEMIANO, F. '**Pemphigus vulgaris: recent advances in our understanding of its pathogenesis**', *Minerva Stomatol*, v.56, p. 215-23, 2007.

FERNANDES, N. C; MENEZES, M. '**Pulse therapy in pemphigus: report of 11 cases**', *An Bras Dermatol*, v.88, p. 672-5, 2013.

FRANCO BROCHADO, M. J. et al. '**Data on HLA class I/II profile in Brazilian pemphigus patients**', *Data Brief*, v.8, p.364-74, 2016.

FURUE, M; KADONO, T. '**Pemphigus, a pathomechanism of acantholysis**', *Australas J Dermatol*, v. 58, p. 171-73, 2017.

GOKHALE, N. R. et al. '**Treatment of pemphigus with intravenous pulse cyclophosphamide**', *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v. 69, p. 334-7, 2003.

GONCALVES, G. A. et al. '**Incidence of pemphigus vulgaris exceeds that of pemphigus foliaceus in a region where pemphigus foliaceus is endemic: analysis of a 21-year historical series**', *An Bras Dermatol*, v.86, p. 1109-12, 2011.

GONZALEZ-ESCRIBANO, M. F. et al. '**Distribution of HLA class II alleles among Spanish patients with pemphigus vulgaris**', *Tissue Antigens*, v.52, p.275-8, 1998.

GRANDO, S. A. '**Pemphigus in the XXI century: new life to an old story**', *Autoimmunity*, v.39, p. 521-30, 2006.

———. '**Pemphigus autoimmunity: hypotheses and realities**', *Autoimmunity*, v. 45, p. 7-35, 2012.

HAMMERS, C. M; STANLEY, J.R. '**Mechanisms of Disease: Pemphigus and Bullous Pemphigoid**', *Annu Rev Pathol*, 2016.

HASSAN, I. et al. '**Non Comparative Study on Various Pulse Regimens (DCP, DAP and DMP) in Pemphigus: Our Experience**', *Indian J Dermatol*, 59: 30-4, 2014.

HERRERO-GONZALEZ, J. E. et al. '**Correlation of immunological profile with phenotype and disease outcome in pemphigus**', *Acta Derm Venereol*, v.90, p. 401-5, 2010.

HERTL, M. et al. '**Pemphigus. S2 Guideline for diagnosis and treatment--guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV)**', *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.29, p. 405-14, 2015.

JAIN, R; KUMAR, B. '**Immediate and delayed complications of dexamethasone cyclophosphamide pulse (DCP) therapy**', *J Dermatol*, v.30, p. 713-8, 2003.

JAMES, K. A; CULTON, D.A; DIAZ, L.A. '**Diagnosis and clinical features of pemphigus foliaceus**', *Dermatol Clin*, v. 29, p.405-12, 2011.

JONES, E. Y. **'MHC class I and class II structures'**, *Curr Opin Immunol*, v.9, p. 75-9, 1997.

KALANTARI-DEHAGHI, M. *et al.* **'Mechanisms of mitochondrial damage in keratinocytes by pemphigus vulgaris antibodies'**, *J Biol Chem*, v. 288. p. 16916-25, 2013.

KANDAN, S; THAPPA, D.M. **'Outcome of dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy in pemphigus: a case series'**, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v.75, p. 373-8, 2009.

KANWAR, A. J; Ajith, A.C; NARANG, T. **'Pemphigus in North India'**, *J Cutan Med Surg*, v.10, p. 21-5, 2006.

KANWAR, A. J; KAUR, S; THAMI, G.P. **'Long-term efficacy of dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy in pemphigus'**, *Dermatology*, v.204, p. 228-31, 2002.

KANWAR, A. J; VINAY, K. **'Treatment of pemphigus: an Indian perspective'**, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v. 80, p. 285-8, 2014.

KASPERKIEWICZ, M.*et al.* **'Pemphigus'**, *Nat Rev Dis Primers*, v.3, p. 17026, 2017.

KASPERKIEWICZ, M. *et al.* **'Clinical Outcomes of Pemphigus Patients Treated by the Same Physicians in a Public Safety Net Healthcare System Versus a Private Healthcare System'**, *Br J Dermatol*, 2019.

KATAKAM, B. K. *et al* **'Prospective Study of Pulse Therapy in Childhood Pemphigus Disorders'**, *Indian Dermatol Online J*, v.9, p.422-25, 2018.

KAUR, S; KANWAR, A. J. **'Dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy in pemphigus'**, *Int J Dermatol*, v.29, p. 371-4, 1990.

KAVALA, M.*et al.* **'Ear, nose and throat involvement in patients with pemphigus vulgaris: correlation with severity, phenotype and disease activity'**, *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.25, p.1324-7, 2011.

KAVALA, M., F. *et al.* **'Genital involvement in pemphigus vulgaris (PV): correlation with clinical and cervicovaginal Pap smear findings'**, *J Am Acad Dermatol*, v.73, p. 655-9, 2015.

KERSHENOVICH, R; HODAK, E; MIMOUNI, D. **'Diagnosis and classification of pemphigus and bullous pemphigoid'**, *Autoimmun Rev*, v.13, p. 477-81, 2014.

KHATRI, M. L. **'Pemphigus in North-Western Yemen: A therapeutic study of 75 cases'**, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v.82, p. 359, 2016.

KITAJIMA, Y; AOYAMA, Y, SEISHIMA, M. **'Transmembrane signaling for adhesive regulation of desmosomes and hemidesmosomes, and for cell-cell attachment induced by pemphigus IgG in cultured keratinocytes: involvement of protein kinase C'**, *J Investig Dermatol Symp Proc*, v.4, p. 137-44, 1999.

KLEIN, J; SATO, A. **'The HLA system. First of two parts'**, *N Engl J Med*, v.343, p. 702-9, 2000.

———. **'The HLA system. Second of two parts'**, *N Engl J Med*, v.343, p.782-6, 2000.

KOUNTZ, S. L; COHN, R. **'Initial treatment of renal allografts with large intrarenal doses of immunosuppressive drugs'**, *Lancet*, v.1, p. 338-40, 1969.

KRIDIN, K. **'Pemphigus group: overview, epidemiology, mortality, and comorbidities'**, *Immunol Res*, v.66, p. 255-70, 2018.

KWON, E. J. *et al.* **'Anti-desmoglein IgG autoantibodies in patients with pemphigus in remission'**, *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.22. p.1070-5, 2018.

LA SERRA, L. *et al.* **'Trace element profile in pemphigus foliaceus and in pemphigus vulgaris patients from Southeastern Brazil'**, *J Trace Elem Med Biol*, v.51, p. 31-35, 2019.

LANDSVERK, O. J; BAKKE, O; GREGER, T. F. **'MHC II and the endocytic pathway: regulation by invariant chain'**, *Scand J Immunol*, v.70, n. 184-93, 2009.

LIN, M. S. *et al.* **'The desmosome and hemidesmosome in cutaneous autoimmunity'**, *Clin Exp Immunol*, v.107, s.1, p. 9-15, 1997.

LOISEAU, P. *et al.* **'HLA class II polymorphism contributes to specify desmoglein derived peptides in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus'**, *J Autoimmun*, v.15, p. 67-73, 2009.

MACHADO, A.R.D.S.R. *et al.* **'Herpes simplex virus 1 and cytomegalovirus are associated with pemphigus vulgaris but not with pemphigus foliaceus disease'**, *Exp Dermatol*, v.26, p. 966-68, 2017.

MAHAJAN, V. K. *et al.* **'Twelve-year clinico-therapeutic experience in pemphigus: a retrospective study of 54 cases'**, *Int J Dermatol*, v.44, p. 821-7, 2005.

MAHONEY, M. G. *et al.* **'Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris'**, *J Clin Invest*, v.103, p. 461-8, 1999.

MALHEIROS, D. *et al.* **'Genome-wide gene expression profiling reveals unsuspected molecular alterations in pemphigus foliaceus'**, *Immunology*, v.143, p. 381-95, 2014.

MASOOD, Q. *et al.* **'Dexamethasone cyclophosphamide pulse therapy in pemphigus: experience in Kashmir valley'**, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v.69, p. 97-9, 2003.

MATIAS, A.B; ROSELINO, A.M.F. **Pemphigus: a disease stamped in the skin.** *Nasza Dermatologia Online*. v.4, s.3, p. 601-605, 2013 .

MATIAS, A.B; ROSELINO, A.M.F. **Pemphigus and psychological stress: a review of the literature.** *Nasza Dermatologia Online*. v.4, s.3, p. 616-618, 2013.

- MIMOUNI, D. *et al.* '**Pemphigus, analysis of 155 patients**', *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.24, p. 947-52, 2010.
- MUNDAKKAT, V; SRIDHARAN, R. '**Factors Affecting the Duration of Phase 1 of Dexamethasone-Immunosuppressant Pulse Therapy for Pemphigus Group of Disorders: A 10-Year Retrospective Study in a Tertiary Care Center**', *Indian Dermatol Online J*, v.9, p. 405-08, 2018.
- MUSTAFA, S.*et al.* '**Pulse therapy: Opening new vistas in treatment of pemphigus**', *J Family Med Prim Care*, v.8, p.793-98, 2019.
- NAKAHARA, T.*et al.* '**High Anti-Desmoglein 3 Antibody ELISA Index and Negative Indirect Immunofluorescence Result in a Patient With Pemphigus Vulgaris in Remission: Evaluation of the Antibody Profile by Newly Developed Methods**', *JAMA Dermatol*, 2014.
- NAYAK, C. S. *et al.* '**Factors affecting the duration of phase I of dexamethasone - cyclophosphamide pulse therapy**', *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v.80, p. 296-9, 2014.
- OHATA, C; ISHII, N; FURUMURA, M. '**Locations of acantholysis in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus**', *J Cutan Pathol*, 2014.
- OSADA, K; SEISHIMA, M; KITAJIMA, Y. '**Pemphigus IgG activates and translocates protein kinase C from the cytosol to the particulate/cytoskeleton fractions in human keratinocytes**', *J Invest Dermatol*, v. 108, p. 482-7, 1997.
- PANDYA, A. G; SONTHEIMER, R. D. '**Treatment of pemphigus vulgaris with pulse intravenous cyclophosphamide**', *Arch Dermatol*, v. 128, p. 1626-30, 1992.
- PAOLINO, G. *et al.* '**Paraneoplastic Pemphigus: Insight into the Autoimmune Pathogenesis, Clinical Features and Therapy**', *Int J Mol Sci*, v.18, 2017.
- PARNICKA, Z. *et al.* '**High susceptibility to pemphigus vulgaris due to HLA-DRB1*14:54 in the Slovak population**', *Int J Immunogenet*, v.40, p. 471-5, 2013.
- PASRICHA, J. S. '**Pulse therapy as a cure for autoimmune diseases**', *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v. 69, 323-8, 2003.
- PASRICHA, J. S; Khaitan, B.K. '**Curative treatment for pemphigus**', *Arch Dermatol*, v. 132, p. 1518-9, 1996.
- PASRICHA, J. S. *et al.* '**Dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy for pemphigus**', *Int J Dermatol*, 34: 875-82, 1995.
- PASRICHA, J. S; POONAM. '**Current regimen of pulse therapy for pemphigus: minor modifications, improved results**', *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v.74, p. 217-21, 2008.
- PASRICHA, J. S; SEETHARAM, K.A; DAS, U. '**Further Studies on Pemphigus Patients Treated with Dexamethasone**', *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v.55, p. 98-104, 1989.

- PASRICHA, J. S; THANZAMA, J; KHAN, U. K. **'Intermittent high-dose dexamethasone-cyclophosphamide therapy for pemphigus'**, *Br J Dermatol*, v. 119, p. 73-7, 1988.
- PAVONI, D. P. et al. **'Dissecting the associations of endemic pemphigus foliaceus (Fogo Selvagem) with HLA-DRB1 alleles and genotypes'**, *Genes Immun*, v.4, p. 110-6, 2003.
- PETZL-ERLER, M. L; SANTAMARIA, J. **'Are HLA class II genes controlling susceptibility and resistance to Brazilian pemphigus foliaceus (fogo selvagem)?'**, *Tissue Antigens*, 33: 408-14, 1989.
- PIRES, C. A. et al. **'Evaluation of cases of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus from a reference service in Para state, Brazil'**, *An Bras Dermatol*, v. 89, p. 556-61, 2014.
- PORRO, A. M; HANS FILHO, G; SANTI, C. G. **'Consensus on the treatment of autoimmune bullous dermatoses: pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus - Brazilian Society of Dermatology'**, *An Bras Dermatol*, v.94, p.20-32, 2019.
- RAO, P. N; LAKSHMI, T. S. **'Pulse therapy and its modifications in pemphigus: a six year study'**, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v. 69, p. 329-33, 2003.
- ROBINSON, J. et al. **'IMGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex'**, *Nucleic Acids Res*, v.31, p. 311-4, 2003.
- ROGA, G; AUGUSTINE, M. **'A review of pulse therapy in 74 patients with pemphigus'**, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 84: 331-33, 2018.
- ROSATELLI, T. B et al. **'Increased activity of plasma and tissue kallikreins, plasma kininase II and salivary kallikrein in pemphigus foliaceus (fogo selvagem)'**, *Br J Dermatol*, v.152, p. 650-7, 2005.
- ROY, R; KALLA, G. **'Dexamethasone - Cyclophosphamide pulse (DCP) therapy in Pemphigus'**, *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, v.63, p. 354-6, 1997.
- RUIZ-IRASTORZA, G. et al. **'Repeated pulses of methyl-prednisolone with reduced doses of prednisone improve the outcome of class III, IV and V lupus nephritis: An observational comparative study of the Lupus-Cruces and lupus-Bordeaux cohorts'**, *Autoimmun Rev*, v.16, p.826-32, 2017.
- RUOCCO, E. et al. **'Pemphigus: associations and management guidelines: facts and controversies'**, *Clin Dermatol*, v.31, p. 382-90, 2013.
- RUOCCO, E. et al. **'Pemphigus: etiology, pathogenesis, and inducing or triggering factors: facts and controversies'**, *Clin Dermatol*, v.31, p. 374-81, 2013.
- SACCHIDANAND, S. et al. **'Dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy for autoimmune-vesiculobullous disorders at Victoria hospital, Bangalore'**, *Dermatol Online J*, v.9, p. 2, 2003.

SAENZ-CANTELE, A. M. *et al.* 'HLA-DRB1*0402 haplotypes without DQB1*0302 in Venezuelan patients with pemphigus vulgaris', *Tissue Antigens*, v. 69, p. 318-25, 2007.

SAHA, M. *et al.* 'Pemphigus vulgaris in White Europeans is linked with HLA Class II allele HLA DRB1*1454 but not DRB1*1401', *J Invest Dermatol*, v.130, p. 311-4, 2010.

SAKI MALEHI, A. *et al.* 'Assessing the Autoantibody levels in Relation to Recurrence of Pemphigus: Joint Modeling of Longitudinal Measurements and Recurrent Event Times', *Iran Red Crescent Med J*, v.16, p.13812, 2014.

SCHARF, S. J. *et al.* 'Specific HLA-DQB and HLA-DRB1 alleles confer susceptibility to pemphigus vulgaris', *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.86, p. 6215-9, 1989.

SCHARF, S. J. *et al.* 'HLA class II allelic variation and susceptibility to pemphigus vulgaris', *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.85, p. 3504-8, 1988.

SCHMIDT, E. *et al.* 'Meeting Report of the Pathogenesis of Pemphigus and Pemphigoid Meeting in Munich, September 2016', *J Invest Dermatol*, v. 137, p. 1199-203, 2017.

SCHULTZ, H. Y. *et al.* 'Generating consensus research goals and treatment strategies for pemphigus and pemphigoid: The 2010 JC Bystryń Pemphigus and Pemphigoid Meeting', *J Invest Dermatol*, v. 131, p. 1395-9, 2011.

SEISHIMA, M. *et al.* 'Pemphigus IgG, but not bullous pemphigoid IgG, causes a transient increase in intracellular calcium and inositol 1,4,5-triphosphate in DJM-1 cells, a squamous cell carcinoma line', *J Invest Dermatol*, v.104, p. 33-7, 1995.

SEISHIMA, M. *et al.* 'Phosphatidylcholine-specific phospholipase C, but not phospholipase D, is involved in pemphigus IgG-induced signal transduction', *Arch Dermatol Res*, v. 291, p. 606-13, 1999.

SHAHIDI-DADRAS, M. *et al.* 'Pulse versus oral methylprednisolone therapy in pemphigus vulgaris', *Arch Iran Med*, v.10, p. 1-6, 2007.

SHAIK, F. *et al.* 'Corticosteroid/cyclophosphamide pulse treatment in South African patients with pemphigus', *Clin Exp Dermatol*, v.35, p. 245-50, 2010.

SHARMA, V. K; KHANDPUR, S. 'Evaluation of cyclophosphamide pulse therapy as an adjuvant to oral corticosteroid in the management of pemphigus vulgaris', *Clin Exp Dermatol*, 38: 659-64, 2013.

SINHA, A. A. 'The genetics of pemphigus', *Dermatol Clin*, v.29, p. 381-91, 2011.

SINHA, A. A; HOFFMAN, M. B; JANICKE, E. C. 'Pemphigus vulgaris: approach to treatment', *Eur J Dermatol*, v.25, p. 103-13, 2015.

STANLEY, J. R. 'The pathophysiology of pemphigus', *J Dermatol Sci*, v. 24, p. 155-7, 2000.

- SVECOVA, D. *et al.* 'HLA DRB1* and DQB1* alleles are associated with disease severity in patients with pemphigus vulgaris', *Int J Dermatol*, 2014.
- TAVAKOLPOUR, S. 'Current and future treatment options for pemphigus: Is it time to move towards more effective treatments?', *Int Immunopharmacol*, 53: 133-42, 2017.
- THEOFILOPOULOS, A. N. 'The basis of autoimmunity: Part I. Mechanisms of aberrant self-recognition', *Immunol Today*, v.16, p. 90-8, 1995.
- TOTH, G. G. *et al.* 'Dexamethasone pulse therapy in pemphigus', *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.16, p. 607-11, 2002.
- TRON, F. *et al.* 'Genetic factors in pemphigus', *J Autoimmun*, v.24, p. 319-28, 2005.
- TUNCA, M. *et al.* 'Association of human leukocyte antigen class II alleles with pemphigus vulgaris in a Turkish population', *J Dermatol*, v. 37, p. 246-50, 2010.
- VAN HATEREN, A. *et al.* 'The cell biology of major histocompatibility complex class I assembly: towards a molecular understanding', *Tissue Antigens*, v.76, p. 259-75, 2010.
- VENUGOPAL, S. S; MURRELL, D.F. 'Diagnosis and clinical features of pemphigus vulgaris', *Dermatol Clin*, v.29, p. 373-80, 2011.
- VERNAL, S. *et al.* 'Insights into the epidemiological link between biting flies and pemphigus foliaceus in southeastern Brazil', *Acta Trop*, 2017.
- WAMBIER, C. G. *et al.* 'Image Gallery: A case of pemphigus vulgaris following Simulium spp. (Diptera) bites', *Br J Dermatol*, v.176, p. 100, 2017.
- WANG, X. *et al.* 'Possible apoptotic mechanism in epidermal cell acantholysis induced by pemphigus vulgaris autoimmunoglobulins', *Apoptosis*, v.9, p. 131-43, 2004.
- WASCHKE, J. *et al.* 'Inhibition of Rho A activity causes pemphigus skin blistering', *J Cell Biol*, v.175, p. 721-7, 2006.
- WOLF, R. *et al.* 'The putative role of apoptosis in the induction of pemphigus', *Med Hypotheses*, v. 64, p. 44-5, 2005.
- YAMAMOTO, T. *et al.* 'Human leukocyte antigen genotypes and antibody profiles associated with familial pemphigus in Japanese', *J Dermatol*, v. 38, p. 711-6, 2011.
- YAN, L; WANG, J. M; ZENG, K. 'Association between HLA-DRB1 polymorphisms and pemphigus vulgaris: a meta-analysis', *Br J Dermatol*, 167: 768-77, 2012.
- ZEOTI, D. M. *et al.* 'Serum cytokines in patients with Brazilian pemphigus foliaceus (fogo selvagem)', *Braz J Med Biol Res*, 33: 1065-8, 2000.
- ZHANG, S. Y. *et al.* 'Subtype-specific inherited predisposition to pemphigus in the Chinese population', *Br J Dermatol*, v.180, p. 828-35, 2019.

ZHOU, T. *et al.* '**Comparative study of indirect immunofluorescence, enzyme-linked immunosorbent assay, and the Tzanck smear test for the diagnosis of pemphigus**', *J Oral Pathol Med*, v.45, p. 786-90, 2016.

ZIVANOVIC, D. *et al.* '**Dexamethasone-cyclophosphamide pulse therapy in pemphigus: a review of 72 cases**', *Am J Clin Dermatol*, v. 11, p.123-9, 2010.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ribeirão Preto, 21 de outubro de 2015.

Ofício nº 3761/2015
CEP/LVG

PROCESSO HCRP nº 8063/2015

Prezadas Pesquisadoras,

O trabalho intitulado **“ASSOCIAÇÃO DOS ALELOS HLA DE CLASSES I E II COM O DESFECHO DA RESPOSTA TERAPÊUTICA À PULSOTERAPIA COM DEXAMETASONA E/OU CICLOFOSFAMIDA NOS PÊNFIGOS” – Projeto de Pesquisa Versão 2 de 13/08/2015**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 416ª Reunião Ordinária realizada em 19/10/2015, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como a solicitação de dispensa de aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/2012 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.
Atenciosamente.

PROF. DR. LUÍS VICENTE GARCIA
Vice-Coordenador do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimas Senhoras

LUDMILLA DE FIGUEIRÊDO DO VALE CAPUCHO
PROFª DRª ANA MARIA FERREIRA ROSELINO (Orientadora)
Depto. de Clínica Médica - Dermatologia

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP

Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
FWA-00002733; IRB-00002186 e
Registro Plataforma Brasil / CONEP nº 5440
(016) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.usp.br

Ribeirão Preto, 09 de fevereiro de 2011

Ofício nº 423/2011
CEP/MGV

Prezada Professora,

O trabalho intitulado **"RELAÇÃO DOS FATORES IMUNOGENÉTICOS E AMBIENTAIS NA ETIOPATOGENESE DOS PÊNFIGOS EM AMOSTRAGEM BRASILEIRA"** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 317ª Reunião Ordinária realizada em 07/02/2011 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 12248/2010.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssima Senhora
PROFª DRª ANA MARIA FERREIRA ROSELINO
Depto. de Clínica Médica – Divisão de Dermatologia

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA – 0000 2733; IRB – 0000 2186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AOS FAMILIARES DE PACIENTES COM PÊNFIGO E MORADORES DE ÁREAS ENDÊMICAS PARA PÊNFIGO (aprovado pelo CEP-HCFMRP-USP – Processo de no. 8716/2013)

Referente ao projeto temático: RELAÇÃO DOS FATORES IMUNOGENÉTICOS E AMBIENTAIS NA ETIOPATOGENESE DOS PÊNFIGOS EM AMOSTRAGEM BRASILEIRA (Proc. HCRP no. 12248/2010)

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa realizada por uma equipe de Dermatologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCFMRP), a qual tem, como coordenadora, a Professora Dra. Ana Maria F Roselino. Esta pesquisa refere-se ao pênfigo, doença com formação de bolhas na pele e mucosas como boca, nariz e genitais. Não é transmissível entre pessoas. Ainda não se sabe exatamente a causa desta doença. O que se sabe é que o organismo do doente forma anticorpos (que normalmente fazem a defesa do nosso organismo contra vírus e bactérias) que passam a atacar a pele e mucosas. Fatores ambientais e genéticos têm participação no surgimento da doença, no entanto, ainda há muito que se conhecer sobre os pênfigos. A equipe de Dermatologia do ambulatório de Dermatoses auto-imunes, HC-FMRP-USP, tem atendimento realizado às segundas-feiras, acompanha diversos pacientes com diagnóstico de pênfigo. Desta forma, estamos iniciando uma pesquisa sobre as causas ambientais, imunológicas (formação de anticorpos), e genéticas de ambos os pênfigos: vulgar e foliáceo. Estamos estudando principalmente a implicação de mosquitos, de agrotóxicos e de acometimento familiar no desencadeamento do pênfigo. Para isso pedimos a colaboração dos familiares dos pacientes com pênfigo acompanhados no HCFMRP, e de moradores de áreas com grande número de casos da doença, através da permissão da coleta de aproximadamente 45 ml de sangue, um frasco de urina e uma mecha de cabelo, além do preenchimento de questionário.

Para participar desta pesquisa não será necessário pagar qualquer quantia. Se você for convocado a participar da pesquisa fora do horário do seu atendimento ou internação no HCFMRP, você receberá ressarcimento dos seus gastos com transporte de ônibus e alimentação. Basta apresentar o comprovante da passagem. Quanto à alimentação, será pago o valor de R\$ 12,00. A qualquer momento você poderá desistir da participação na pesquisa sem ter nenhum prejuízo. Os resultados serão confidenciais. Desde já agradecemos e nos colocamos à disposição para qualquer esclarecimento. Serão assinadas duas cópias, sendo que uma ficará com o (a) Sr. (a).

Eu, _____ RG _____ li o termo de consentimento e aceito participar da pesquisa.

Nome _____

Coordenadora: Professora Dra Ana Maria Roselino
CRM: 38.450 CPF: 052.189.868-44
Celular: 16.9793.8116

Ribeirão Preto, de _____ de _____