FÁTIMA MENDONÇA JORGE VIEIRA

**Porfiria cutânea tardia. Estudo evolutivo das
características clínicas e laboratoriais:
bioquímica, imunofluorescência e
microscopia óptica**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para a
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Dermatologia
Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Costa Martins

São Paulo
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

© reprodução autorizada pelo autor

Vieira, Fátima Mendonça Jorge

Porfiria cutânea tardia. Estudo evolutivo das características clínicas e laboratoriais: bioquímica, imunofluorescência e microscopia óptica / Fátima Mendonça Jorge Vieira. – São Paulo, 2006.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Dermatologia.

Área de concentração: Dermatologia.

Orientador: José Eduardo Costa Martins

Descritores: 1.Revisão [Tipo de publicação] 2.Porfiria cutânea tardia/fisiopatologia 3.Fatores desencadeantes 4.Porfiria cutânea tardia/complicações 5.Porfiria cutânea tardia/patologia 6.Imunofluorescência 7.Porfiria cutânea tardia/terapia 8. Cloroquina

USP/FM/SBD-190/06

DEDICATÓRIA

Ao meu querido esposo **José Alberto** que amo e admiro, pelo seu amor, compreensão e apoio.

Às minhas queridas filhas **Lívia Gabriela** e **Marília Beatriz**, pela compreensão nos momentos nos quais não pude dar a atenção que gostaria, e pelo amor e alegria que me proporcionam.

À minha querida mãe **Maria Júlia**, sempre amiga e companheira, que me incentivou, e que graças à sua ajuda tornou este projeto possível.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

Ao **Prof. Dr. José Eduardo Costa Martins**, um mestre da dermatologia do qual me orgulho de tê-lo como meu orientador. Agradeço pela orientação, incentivo e apoio.

À **Prof. Dra. Valéria Aoki**, pelas importantes sugestões, pela interpretação dos exames de imunofluorescência, e pelo auxílio incondicional na realização deste trabalho.

À **Prof. Dra. Neusa Uriko Sakai Valente**, por seu apoio e recomendações essenciais na redação deste trabalho.

À **Prof. Dra. Zilda Najjar Prado de Oliveira** por sua inestimável contribuição de revisão e suas importantes sugestões.

Aos **doentes de porfiria cutânea tardia**, pela disposição em colaborar. Que o resultado deste estudo possa trazer uma melhor compreensão em relação à doença, e assim aperfeiçoar nossa abordagem terapêutica.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Evandro A. Rivitti**, exemplo de eficiência e sabedoria, pela oportunidade de estudar nesta instituição.

Ao **Prof. Dr. Luis Carlos Cucê**, por sua nobre dedicação à vida acadêmica e por me aceitar na pós-graduação.

À **Prof. Dra. Miriam N. Sotto** e à **Prof. Dra. Maria Aparecida Constantino Vilela**, pela ajuda e apoio na interpretação dos exames histológicos.

Ao **Prof. Dr. Vitor Manoel dos Reis**, por suas valiosas sugestões e orientações.

Ao **Ricardo S. Nunes**, pela realização dos testes de “*screening*” com a lâmpada de Wood, pela amizade, e principalmente, pela dedicação que coloca no seu trabalho.

Aos biólogos **Alexandre Marques Périgo** e **Lígia Maria Ichimura Fukumori**, pela contribuição valiosa na realização dos exames de imunofluorescência e no levantamento de dados dos doentes.

Às funcionárias **Jaqueline Maria Cruz Aragão**, **Maria Cristina Galhardo** e **Marlene Contine**, pelo auxílio na realização dos exames de histopatologia e no levantamento das lâminas dos doentes.

Aos funcionários **Alexandre Vargas** e **Nicéia Francisca da Silva** pelas fotografias dos pacientes e auxílio na digitalização das fotos.

À funcionária **Eliete Celestina**, pela simpatia em ajudar sempre que possível.

À minha irmã **Lúcia Filomena Jorge**, pelo auxílio na revisão de português.

Aos **médicos residentes** que auxiliaram na realização das biopsias.

Aos demais **amigos, colegas e funcionários do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, os quais, de alguma forma, colaboraram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Página

Lista de abreviaturas	
Lista de símbolos	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de quadros	
RESUMO	
SUMMARY	
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	05
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	07
3.1. Classificação da porfiria cutânea tardia.....	08
3.1.1. Porfiria cutânea tardia esporádica (Tipo I).....	08
3.1.2. Porfiria cutânea tardia familiar (Tipo II).....	08
3.1.3. Porfiria cutânea tardia tipo III.....	09
3.1.4. Porfiria cutânea tardia tóxica.....	10
3.2. Epidemiologia.....	10
3.3. Patogênese.....	11
3.3.1. Biossíntese do heme.....	11
3.3.2. Uroporfirinogênio decarboxilase.....	13
3.3.3. Mecanismo de inativação da uroporfirinogênio decarboxilase no hepatócito.....	15
3.3.4. Fisiopatologia das lesões cutâneas.....	19
3.3.4.a. Fatores reatores de oxigênio.....	20
3.3.4.b. Propriedades físico-químicas das porfirinas.....	21
3.3.4.c. Participação do complemento.....	21
3.3.4.d. Proliferação fibroblástica e fibrose.....	22
3.3.4.e. Metabolismo eicosanoide.....	23
3.3.4.f. Metaloproteinases matriciais.....	23
3.4. Fatores desencadeantes.....	24
3.4.1. Álcool.....	24
3.4.2. Estrógenos.....	25
3.4.3. Hexaclorobenzeno.....	26
3.4.4. Hemocromatose e metabolismo do ferro.....	28
3.4.5. Infecções virais.....	29
3.4.6. Hemodiálise.....	32
3.5. Manifestações clínicas.....	33
3.6. Condições associadas.....	34
3.6.1. Alterações hepáticas.....	34
3.6.2. Intolerância à glicose.....	36
3.6.3. Outras condições associadas a porfiria cutânea tardia.....	37

3.7. Diagnóstico e achados laboratoriais.....	37
3.7.1. Análise das porfirinas.....	37
3.7.1.a. Testes de “screening” com a lâmpada de Wood.....	37
3.7.1.a.1. Porfirinas urinárias.....	38
3.7.1.a.2. Porfirinas fecais	38
3.7.1.a.3. Porfirinas no sangue.....	38
3.7.1.b. Quantificação das porfirinas urinárias pelo método “high performance liquid chromatography”.....	39
3.7.2. Outras alterações bioquímicas.....	40
3.8. Histopatologia.....	40
3.9. Imunofluorescência direta.....	42
3.10. Microscopia eletrônica.....	43
3.11. Imunomapeamento antigênico da junção dermo-epidérmica (immunomapping).....	45
3.12. Diagnóstico diferencial.....	47
3.13. Tratamento.....	50
3.13.1. Flebotomia.....	50
3.13.2. Antimaláricos.....	51
3.13.3. Antioxidantes.....	53
3.13.4. Não-indução da 5-aminolevulínico sintetase.....	54
3.13.5. Interferon-alfa.....	54
3.13.6. Eritropoietina recombinante humana no renal crônico....	55
3.13.7. Monitoramento do tratamento.....	55
4. MÉTODOS.....	57
4.1. Tipo de estudo.....	58
4.2. Seleção dos doentes.....	58
4.2.1. Diagnóstico e critérios de remissão clínica e bioquímica..	58
4.2.2. Exames laboratoriais.....	59
4.3. Biópsias de pele.....	60
4.3.1. Histopatologia.....	60
4.3.2. Imunofluorescência direta	61
4.3.3. Técnica de Imunomapeamento.....	62
4.4. Comissão de ética.....	64
5. RESULTADOS.....	65
5.1. Características clínicas.....	66
5.2. Doenças associadas / Fatores desencadeantes.....	72
5.3. Características laboratoriais.....	75
5.4. Microscopia óptica.....	78
5.5. Imunofluorescência direta.....	82
5.6. Imunomapeamento.....	89
5.7. Tratamento.....	91
6. DISCUSSÃO.....	93
7. CONCLUSÕES.....	115
8. ANEXOS.....	118
9. REFERÊNCIAS.....	133

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac	anticorpo
ACO	anticoncepcional oral
Ag	antígeno
ALA	ácido delta-aminolevulínico
ALA-D	ácido delta-aminolevulínico desidratase
ALT	alanina aminotransferase
ASMA	anticorpo antímúsculo liso
AST	aspartato aminotransferase
C	complemento
C3	fração 3 do complemento
C3a	fração 3 do complemento ativada
C5	fração 5 do complemento
C5a	fração 5 do complemento ativada
CHC	carcinoma hepatocelular
CoA	coenzima A
COPRO	coproporfirina
COPROGEN	coproporfirinogênio
CPH	coproporfiria hereditária
DDC	3,5 dicarboxi 1,4 dihidro 2,4,6 trimetil piridina
DEHIDROISOCOPROGEN	dehidroisocoproporfirinogênio
DHL	desidrogenase láctica
DM	<i>diabetes mellitus</i>
DNA	ácido desoxirribonucléico
DOVA	4,5 dioxovalerato
Dr.	Doutor
EBA	epidermólise bolhosa adquirida
<i>et al</i>	e outros
FAN	fator antinúcleo
FRO	fatores reatores de oxigênio
GGT	gama glutamiril transpeptidase
GTT	teste de tolerância a glicose

HARDEROGEN	harderoporfirinogênio
HCB	hexaclorobenzeno
HCV	vírus da hepatite C
HCl	ácido clorídrico
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HPLC	<i>"High-Performance" Liquid-Chromatographic</i>
IFD	imunofluorescência direta
IFN	interferon
Ig	imunoglobulina
Igs	imunoglobulinas
IRC	insuficiência renal crônica
ISOCOPRO	isocoproporfirina
JDE	junção dermo-epidérmica
LKM-1	<i>liver-kidney-microsomal-1</i>
MMP	metaloproteinase matricial
MMPs	metaloproteinases matriciais
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
p.ex.	por exemplo
PAI	porfíria aguda intermitente
PAS	ácido periódico-Schiff
PBG	porfobilinogênio
PCB	bifenil policlorado
PCT	porfíria cutânea tardia
PEC	porfíria eritropoiética congênita
PGE ₂	prostaglandina E ₂
PHE	porfíria hepatoeritropoiética
PPE	protoporfíria eritropoiética
Prof.	Professor
PROTO	protoporfirina
PROTOGEN	protoporfirinogênio
PV	porfíria variegata
RNA _m	ácido ribonucléico mensageiro

RUV	radiação ultravioleta
TBS	<i>trizma buffer saline</i> (tampão acetato cálcio)
TCDD	2,3,7,8-tetraclorodibenzo- <i>p</i> -dioxina
TGO	transaminase glutâmica oxaloacética
TGP	transaminase glutâmica pirúvica
URO	uroporfirina
UROGEN	uroporfirinogênio
UROD	uroporfirinogênio decarboxilase
USG	ultra-sonografia
ZMB	zona da membrana basal

LISTA DE SIMBOLOS

α	alfa
O_2^-	anion superóxido
~	aproximadamente
β	beta
dL	decilitro
γ	gama
g	grama
°C	grau centígrados
hrs	horas
=	igual a
kDa	quilo Dalton
$\geq$	maior ou igual
>	maior que
<	menor que
μg	micrograma
μs	microsegundo
mg	miligrama
ml	mililitro
ms	milisegundo
M	molar
Nº.	número
ng	nanograma
nm	nanômetro
O_2	oxigênio
1O_2	oxigênio <i>singlet</i>
H_2O_2	peróxido de hidrogênio
%	por cento
OH	radical hidroxila
x	vezes

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - A cadeia de biossíntese das porfirinas e as diferentes enzimas envolvidas..... 12
- Figura 2** - O mecanismo de inativação da uroporfirinogênio decarboxilase nos hepatócitos e a interação entre fatores hereditários e adquiridos na porfiria cutânea tardia (modelo patogênico).... 18
- Figura 3** - Porfiria cutânea tardia - Bolhas e lesões ulceradas encimadas por crostas no dorso das mãos.....71
- Figura 4** - Porfiria cutânea tardia – Doente feminina com hipertricose acometendo a região malar superior e da região temporal até a região frontal.....72
- Figura 5** - Porfiria cutânea tardia – Histopatologia com a coloração hematoxilina-eosina mostrando bolha subepidérmica com papilas dérmicas armadas e sem infiltrado inflamatório..... 79
- Figura 6** - Porfiria cutânea tardia – Coloração de ácido periódico-Schiff revelando material hialino PAS-positivo diastase-resistente espessando a parede dos vasos dérmicos.....81
- Figura 7** - Porfiria cutânea tardia - Imunofluorescência direta de lesão localizada no dorso da mão antes do tratamento, demonstrando fluorescência homogênea, intensa e contínua na junção dermo-epidérmica e na parede dos vasos para anti-IgG.....88
- Figura 8** - Porfiria cutânea tardia - Imunofluorescência direta de pele normal localizada no dorso da mão de doente com porfiria inativa, demonstrando fluorescência negativa na junção dermo-epidérmica e positiva na parede dos vasos para anti-IgG.....88
- Figura 9** - Porfiria cutânea tardia - Imunomapeamento antigênico da membrana basal com todos os antígenos (antígeno do penfigóide bolhoso PB180, laminina, colágeno IV e colágeno VII) do lado epidérmico, portanto com o nível da clivagem na derme superior abaixo da sublâmina densa90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Classificação das porfirias e sua enzima deficiente ou defeituosa correspondente.....	03
Tabela 2	- Nível de clivagem da bolha nos estudos de microscopia eletrônica ou de imunomapeamento dos doentes com porfiria cutânea tardia.....	47
Tabela 3	- Manifestações cutâneas dos 28 doentes com porfiria cutânea tardia.....	71
Tabela 4	- Fatores desencadeantes e doenças associadas nos 28 doentes com porfiria cutânea tardia.....	74
Tabela 5	- Associação dos fatores desencadeantes nos 28 doentes com porfiria cutânea tardia.....	75
Tabela 6	- Porfiria cutânea tardia - Resumo dos exames laboratoriais alterados pré-tratamento.....	78
Tabela 7	- Intensidade do espessamento da parede vascular por material hialino PAS-positivo diastase-resistente, antes do tratamento (porfiria cutânea tardia ativa) e depois da remissão bioquímica, além do tempo de tratamento após o qual foi feita a segunda biopsia.....	80
Tabela 8	- Porfiria cutânea tardia - Achados da imunofluorescência direta – Número de casos com depósito de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) e C3 na junção dermo-epidérmica e vasos.....	87
Tabela 9	- Porfiria cutânea tardia - Imunomapeamento antigênico da junção dermo-epidérmica e o nível de clivagem da bolha.....	89

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 -** Relação de dados dos doentes: Número do doente, características clínicas, fatores desencadeantes, doenças associadas, alterações laboratoriais e evolução após o tratamento.....67-70
- Quadro 2-** Estudo da imunofluorescência dos doentes – número, nome, idade, sexo, data do início dos sintomas, intensidade da fluorescência de cada anticorpo e da fração C3 do complemento (0,1,2, e 3) e sua localização (junção dermo-epidérmica e/ou parede vascular), período de tratamento após o diagnóstico quando foi realizada a biopsia nas fases B e C, e a dosagem das porfirinas urinárias quando a imunofluorescência direta foi realizada na fase C.....85-86

RESUMO

Vieira FMJ. *Porfíria cutânea tardia. Estudo evolutivo das características clínicas e laboratoriais: bioquímica, imunofluorescência e microscopia óptica* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 163 p.

A porfíria cutânea tardia é causada pela deficiência parcial, herdada ou adquirida, da atividade enzimática da uroporfirinogênio decarboxilase, resultando no acúmulo de uroporfirina e hepta-carboxil porfirinogênio no fígado. Os objetivos deste trabalho foram o estudo das características clínicas e laboratoriais: bioquímica, imunofluorescência e microscopia óptica de 28 doentes com porfíria cutânea tardia, antes e após o tratamento com cloroquina. A microscopia óptica e imunofluorescência direta foram feitas em 23 doentes com porfíria ativa antes do tratamento, em sete doentes com apenas remissão clínica, e em oito doentes com remissão clínica e bioquímica, isto é, porfíria inativa. Sete doentes foram do sexo feminino (25%) e 21 doentes do sexo masculino (75%). A ingestão de álcool foi o fator desencadeante predominante nos homens, e a terapia com estrógeno nas mulheres (anticoncepção e reposição hormonal). A hepatite C esteve associada em 57,1% do total dos doentes (71,4% dos homens e 14,3% das mulheres). Na microscopia óptica de 23 doentes, 86,9% apresentavam bolhas subepidérmicas, e 95,6% exibiam vasos da derme superior com paredes espessadas por depósito de material ácido periódico-Schiff positivo e diastase-resistente. O espessamento dos vasos persistiu em quatro de cinco doentes com remissão bioquímica, porém se apresentava de forma menos intensa. Quanto à imunofluorescência direta dos 23 doentes com porfíria ativa, quatro apresentavam imunofluorescência negativa e 19 apresentavam depósitos de IgG e de complemento (C3) de forma característica no interior e em torno dos vasos e na junção dermo-epidérmica. A IgG estava presente nos vasos de 65,2% e na junção dermo-epidérmica de 47,8%, e C3 estava presente nos vasos de 52,2% e na junção dermo-epidérmica de 39,1%. A fluorescência na parede dos vasos era homogênea, com intensidade moderada ou intensa, e com a sua presença e intensidade tão notável quanto

à da junção dermo-epidérmica em 57,9% dos casos. Na remissão clínica durante o tratamento e na remissão bioquímica, o depósito de IgG estava presente na parede dos vasos de 85,7% e 87,5%, respectivamente, e o depósito de C3 nos vasos estava presente em 14,3% e 37,5%, respectivamente. Comparando os doentes antes do tratamento com os doentes em remissão clínica e os que estão em remissão bioquímica, o número de casos com depósito de complemento (C3) nos vasos diminuiu (de 52,2% antes do tratamento, para 14,3% e 37,5%, respectivamente). Na remissão bioquímica a fluorescência predominava mais na parede dos vasos do que na junção dermo-epidérmica em 71,4% dos doentes. O imunomapeamento antigênico da bolha, para determinar o nível da clivagem na junção dermo-epidérmica, foi realizado em sete doentes sem tratamento prévio. Em três casos todos os antígenos, a saber: BP 180 (antígeno do penfigóide bolhoso), laminina, colágeno tipo IV e colágeno tipo VII, estavam localizados em ambos os lados da bolha (sem padrão de clivagem); em dois casos todos os antígenos foram encontrados na base da bolha (clivagem intraepidérmica); em um caso o colágeno tipo IV foi encontrado no teto e o colágeno tipo VII em ambos os lados da bolha (clivagem na sublâmina densa); e em um caso todos antígenos foram encontrados no teto da bolha (clivagem abaixo da sublâmina densa). Portanto, não houve um padrão característico do nível de clivagem no imunomapeamento. Provavelmente o mecanismo que define o nível de clivagem é a lesão fotodinâmica dos lisossomos ao nível dos queratinócitos basais e/ou das células dérmicas.

Descritores: 1.Revisão [Tipo de publicação] 2.Porfiria cutânea tardia/fisiopatologia 3.Fatores desencadeantes 4.Porfiria cutânea tardia/complicações 5.Porfiria cutânea tardia/patologia 6.Imunofluorescência 7.Porfiria cutânea tardia/terapia 8. Cloroquina

SUMMARY

Vieira FMJ. *Porphyria cutanea tarda. Evolution study of the clinical and laboratory features: biochemistry, immunofluorescence and light microscopy* [Dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2006. 163 p.

Porphyria cutanea tarda is caused by the inherited or acquired partial deficiency of the uroporphyrinogen decarboxylase enzyme activity, resulting in the accumulation of uroporphyrin and hepta-carboxyl porphyrinogen in the liver. The purpose of this study was to investigate the clinical and laboratory features: biochemistry and the alterations on skin morphology, on light microscopy and immunofluorescence of 28 patients with the diagnosis of porphyria cutanea tarda, before and after treatment with chloroquine. We report the results of light microscopy and direct immunofluorescence on 23 patients with active porphyria cutanea tarda before treatment, seven patients with clinical remission, and eight patients with clinical and biochemical remission, i.e. inactive porphyria. Seven patients were females (25%) and 21 were males (75%). Alcohol intake was the predominant etiological factor in male patients and estrogen therapy in female patients (contraceptive agents or postmenopausal hormone replacement therapy). Hepatitis C was present in 57,1% of the patients (71,4% of the males and 14,3% of the females). In light microscopy of 23 patients, 86,9% had subepidermal bullae and 95,6% had deposits of PAS-positive diastase-resistant material thickening the vessel wall of the superficial dermis. This thickening of the vessel persisted after biochemical remission in four of five patients but it was less intense. Of the 23 patients with active porphyria, the direct immunofluorescence of four patients was negative and 19 patients revealed IgG and complement (C3) bound in a rather characteristic pattern in and around vessel walls and on the dermal-epidermal junction. IgG was present on the vessels of 65,2% and on the dermal-epidermal junction of 47,8%. C3 was present on the vessels of 52,2% and on the dermal-epidermal junction of 39,1%. The fluorescence on the vessel walls was homogeneous, moderate or very intense and its presence and intensity was as noticeable as on the dermal-epidermal

junction in 57,9% of the patients. Patients with clinical remission or biochemical remission had deposit of IgG on the vessel wall in 85,7% and 87,5%, respectively, and deposit of C3 on the vessel wall in 14,3% and 37,5%, respectively. Comparing the patients before treatment to those with clinical remission or with biochemical remission, the number of cases with deposit of C3 on the vessel lessened (from 52,2% before treatment to 14,3% and 37,5%, respectively). Patients with biochemical remission had the fluorescence predominating on the vessel walls rather than on the dermal-epidermal junction (71,4%). Immunofluorescence mapping of the dermal-epidermal junction, in order to determine the level of the subepidermal split, was possible in seven patients with active porphyria without previous treatment. In three cases all the antigens, i.e. BP180 (bullous pemphigoid antigen), laminin, type IV collagen and type VII collagen, were found on both sides of the bulla (no split level); in two cases all the antigens were found on the floor of the bulla (intra-epidermal split); in one case type IV collagen was found on the roof and type VII collagen on both sides of the bulla (split occurred on the sublamina densa); and in one additional case all the antigens were found on the roof of the bulla (split occurred below sublamina densa). Therefore no standard split level occurs on the dermal-epidermal junction. Probably what defines the split level is the photodynamically induced lysosomal damage affecting keratinocytes of the basal layer and/or dermal cells.

Keywords: 1.Review [Publication type] 2.Porphyria cutanea tarda/physiopathology 3.Precipitating factors 4.Porphyria cutanea tarda/complications 5.Porphyria cutanea tarda/pathology 6.Fluorescent antibody technique 7.Porphyria cutanea tarda/therapy 8.Chloroquine

1. INTRODUÇÃO

O termo porfiria origina-se da palavra grega “porphura” que significa cor roxa. Utilizou-se este termo, devido à coloração vermelha a arroxeada da urina de doentes com porfiria aguda intermitente. Na porfiria cutânea tardia (PCT), a urina varia de vermelha a acastanhada quando exposta à luz natural, e rósea a avermelhada quando exposta à luz de Wood.¹

As porfirias resultam de distúrbios na cadeia de biossíntese do heme. Há oito enzimas na cadeia do heme que controlam sua síntese, e cada tipo de porfiria apresenta diminuição da atividade de uma enzima específica, resultando em formas distintas de acúmulo e excreção de porfirinas e/ou seus precursores.^{2,3} As porfirinas excretadas são os substratos oxidados da enzima deficiente ou defeituosa.⁴

Günther, em 1911, descreveu a “hematoporfiria crônica” incluindo casos que atualmente são reconhecidos como porfiria cutânea tardia (PCT) e como porfiria variegata (PV). Waldenström em 1937 renomeou este grupo de ‘porfiria cutânea tardia’, mas não distinguiu a PCT da PV.⁵ Entretanto, em 1957, reconheceu a distinção entre estas duas doenças, baseando-se no trabalho de Dean e Barnes, na África do Sul e de Watson, nos Estados Unidos.⁶

As porfirias podem ser classificadas como hepáticas ou eritropoiéticas, dependendo do local em que ocorre o excesso de produção de porfirinas ou precursores.⁷ Outra classificação divide as porfirias em dois grupos: (1) porfirias agudas e (2) porfirias não agudas.⁸ Entretanto, Mascaro sugere a divisão das porfirias em três categorias, dependendo das manifestações clínicas: porfirias agudas, cutâneas, e mistas (**Tabela 1**).^{9,10}

A PCT é um grupo heterogêneo de doenças causadas pela deficiência parcial da atividade enzimática da uroporfirinogênio decarboxilase (UROD), herdada ou adquirida, que resulta no acúmulo de uroporfirina (URO) e hepta-carboxil porfirinogênio no fígado.¹¹

Tabela 1 – Classificação das porfirias e sua enzima deficiente ou defeituosa correspondente^{9,10}

PORFIRIAS	ENZIMAS
1. Porfirias agudas	
• Porfiria com deficiência de ALA-D (Porfiria de Doss)	→ ALA desidratase
• Porfiria aguda intermitente (PAI)	→ ↑ALA sintetase / ↓PBG deaminase
2. Porfirias cutâneas	
• Porfiria cutânea tardia (PCT)	→ Uroporfirinogênio decarboxilase
• Porfiria hepatoeritropoiética (PHE)	→ Uroporfirinogênio decarboxilase
• Protoporfiria eritropoiética (PPE)	→ Ferroquelatase
• Porfiria eritropoiética congênita (PEC)	→ Uroporfirinogênio III sintetase
3. Porfirias Mistas	
• Porfiria Variegata (PV)	→ Protoporfirinogênio oxidase
• Coproporfiria hereditária (CPH)	→ Coproporfirinogênio oxidase

ALA-D, ácido delta-aminolevulínico desidratase; PBG, porfobilinogênio

Há poucos relatos caracterizando os doentes brasileiros com porfiria cutânea tardia quanto às suas características clínicas, alterações bioquímicas, fatores desencadeantes e doenças associadas. Há apenas um trabalho publicado abordando a associação de PCT com a infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) e com a mutação C282Y da hemocromatose em doentes brasileiros.¹² Nas publicações internacionais também encontramos poucos trabalhos sobre a imunofluorescência direta (IFD) na PCT antes e após a remissão clínica e bioquímica.^{13,14,15} No diagnóstico inicial da PCT, a

IFD da pele lesada é característica, mas desconhecemos se os depósitos fluorescentes encontrados na IFD têm relação com a atividade da doença, ou seja, se os depósitos imunes ainda estão presentes quando o doente está com PCT inativa (remissão clínica e bioquímica).^{13,14,15}

Objetivando conhecer melhor a fisiopatologia das lesões na PCT, há vários trabalhos que estudaram o nível de clivagem da bolha utilizando a microscopia eletrônica, mas o imunomapeamento de antígenos (*“immunomapping”*) da junção dermo-epidérmica foi empregado somente em dois estudos.^{16,17}

2. OBJETIVOS

Foram estudados doentes com porfiria cutânea tardia (PCT) acompanhados no Ambulatório de Fotobiologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os objetivos deste trabalho foram:

1. Verificar a frequência da ocorrência de manifestações clínicas, alterações bioquímicas, doenças associadas e fatores desencadeantes dos doentes com PCT.
2. Realizar a imunofluorescência direta (IFD) da pele dos doentes com PCT ativa antes do tratamento, com apenas remissão clínica e na PCT com remissão clínica e bioquímica. Nosso objetivo foi verificar se a remissão clínica e bioquímica correspondem a alguma alteração nos depósitos de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA) e da fração C3 do complemento na parede dos vasos e na junção dermo-epidérmica.
3. Analisar o espessamento da parede dos vasos na microscopia óptica com a coloração de ácido periódico-Schiff (PAS) antes do tratamento e depois da remissão clínica e bioquímica.
4. Analisar o nível da clivagem da bolha nos doentes sem tratamento com a técnica de imunomapeamento de antígenos na junção dermo-epidérmica.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. CLASSIFICAÇÃO DA PORFIRIA CUTÂNEA TARDIA

A descoberta da atividade diminuída da uroporfirinogênio decarboxilase (UROD) hepática na PCT levou à sua subdivisão.¹⁸

3.1.1. Porfiria cutânea tardia esporádica (Tipo I)

A PCT esporádica, denominada também de PCT tipo I, sintomática ou adquirida, ocorre em cerca de 72 a 84% dos casos^{19,20,21} e apresenta a deficiência enzimática limitada ao fígado, ou seja, a atividade da UROD eritrocitária é normal.²² Não há história familiar. O defeito enzimático específico do fígado não parece ser causado por uma mutação no *locus* da UROD,¹¹ e as seqüências de cDNA da UROD hepática, extra-hepática e a região promotora de seu gene são normais.²³

3.1.2. Porfiria cutânea tardia familiar (Tipo II)

A PCT familiar, também denominada forma tipo II ou hereditária, corresponde a 16 a 28% dos casos, apresenta a atividade da UROD reduzida à metade do normal em todos os tecidos (eritrocitária e hepática) devido à diminuição na síntese ou na estabilidade da enzima.^{20,21,24,25,26} A discriminação entre a PCT tipo I e o tipo II não pode ser baseada somente na atividade da UROD eritrocitária, pois alguns doentes com PCT tipo II apresentam UROD eritrocitária no limite inferior ao normal, e alguns doentes com PCT tipo I apresentavam UROD eritrocitária abaixo do intervalo normal.^{20,27} Isto demonstra que a análise do DNA é mais adequada à

identificação dos casos familiares.²⁸ Mutações no gene da UROD, localizadas no cromossomo 1p34, discriminam as formas familiares das esporádicas. Múltiplas mutações da UROD (mais de 40), que reduzem a estabilidade da enzima ou produzem pré-RNAm *splicing* defeituoso, têm sido identificadas.^{2,11,24,28,29,30} Estas mutações diminuem ou eliminam a atividade enzimática e a imunoreatividade; a UROD residual tem metade da concentração codificada pelo alelo normal.⁶ A herança é autossômica dominante, com penetrância clínica baixa; menos de 10% dos indivíduos afetados desenvolvem sintomas.²⁶ Como a maioria dos indivíduos que herdaram o defeito enzimático não manifesta a doença, isto sugere que fatores genéticos ou não-genéticos adicionais são necessários para a expressão da doença.²⁴ Nenhuma diferença foi encontrada entre os doentes com PCT tipo I e II, quanto à idade do início da doença, gravidade dos sintomas, distribuição entre os sexos e perfil das enzimas hepáticas e de ferro.²⁸

3.1.3. Porfíria cutânea tardia tipo III

A PCT tipo III é bioquimicamente indistinguível do tipo I, ou seja, a concentração da UROD eritrocitária é normal, mas acomete mais do que um membro da família;^{11,31,32} ocorre em um pequeno contingente de doentes (inferior a 5%). A região promotora e a sequência do DNA do gene UROD são normais sugerindo que outros *loci* estão envolvidos na patogênese, talvez genes afetando o ferro tecidual.^{20,23} Não se comprovou se a PCT tipo III representa uma forma distinta da doença ou se seria a PCT tipo I com uma forte contribuição hereditária, presumivelmente fora do *locus* da UROD.²¹

3.1.4. Porfíria cutânea tardia tóxica

O aparecimento deste tipo de PCT não é influenciado por uma susceptibilidade individual; é uma resposta previsível, mas não invariável, relacionada à dose de absorção da substância química porfirinogênica.²¹ A forma tóxica ocorre após a exposição a substâncias químicas que reduzem a atividade da UROD hepática. Uma grande epidemia ocorreu no final da década de 50 (período pós-guerra) após o consumo de farinha contaminada com hexaclorobenzeno (HCB) no sudeste da Turquia;³³ outros casos são relatados após a exposição accidental na indústria a 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD).³⁴

3.2. EPIDEMIOLOGIA

A PCT ocorre em todo o mundo sendo a mais freqüente das porfirias. A doença geralmente inicia-se em indivíduos de meia-idade, a maioria acima dos 40 anos, podendo se desenvolver antes desta idade.³⁵ No passado predominava em homens, mas alguns autores encontraram uma incidência aproximadamente idêntica nos dois sexos.³⁶ O aumento da incidência em mulheres deve-se à ingestão de estrógenos (anticoncepcionais, reposição hormonal na menopausa) e ao aumento do consumo de álcool pelas mulheres nas últimas décadas.²⁸ Homens tratados com estrógenos para o tratamento de carcinoma de próstata também podem desenvolver PCT.³⁷

A prevalência é em torno de um em 10.000, variando de acordo com

o país; assim na América do Norte é de 1/25.000³⁸ e na Tchecoslováquia é de 1/5.000.³⁹ Quanto à incidência de casos novos, esta é de 2-5 por milhão por ano no Reino Unido.¹⁹ Alguns autores relatam uma incidência estimada de um em 70.000.⁴⁰ No Brasil não há dados estatísticos a esse respeito.

3.3. PATOGÊNESE

3.3.1. Biossíntese do heme

O heme é um grupo protético para várias proteínas incluindo a hemoglobina, mioglobina, citocromos mitocondriais, citocromos microssomais (citocromo P450), catalase, peroxidase, triptofano pirrolase, prostaglandina endoperoxidase sintetase, a forma solúvel da guanil ciclase e outros. Os principais locais de síntese do heme são a medula óssea (85%) e o fígado, mas ocorre em todas as células humanas com exceção do eritrócito maduro.⁴¹ A cadeia de biossíntese do heme é demonstrada na **Figura 1**.⁴

Figura 1 - Cadeia de biossíntese das porfirinas-heme e as enzimas envolvidas nas várias porfirias.⁴ (1) Ácido delta-aminolevulínico (ALA) forma-se a partir de glicina e succinil CoA que é catalisada pela enzima ALA sintetase (ALAS). Duas moléculas de ALA formam o monopirrol porfobilinogênio (PBG). (2) Quatro moléculas de PBG são convertidas no tetrapirrol linear, hidroximetilbilano pela PBG deaminase, que depois se torna cíclico espontaneamente e forma o uroporfirinogênio I (UROGEN I). (3) Os quatro grupos acetil da UROGEN I são seqüencialmente decarboxilados pela UROGEN decarboxilase (UROD) e forma o coproporfirinogênio I (COPROGEN I). (4) O hidroximetilbilano também pode ser convertido em uroporfirinogênio III (UROGEN III) pela enzima UROGEN III sintetase. Nesta reação um dos anéis do monopirrol inverte-se alterando a seqüência das cadeias laterais. (5) Os grupos acetil da UROGEN III são seqüencialmente decarboxilados pela UROD para formar a coproporfirinogênio III (COPROGEN III). (6) COPROGEN III é convertida em protoporfirinogênio IX (PROTOGEN IX) pela enzima COPROGEN oxidase, que decarboxila oxidando cada grupo propionil. (7) PROTOGEN IX é convertido em protoporfirina IX (PROTO IX) pela PROTOGEN oxidase. PROTO IX é convertida em heme pela ferroquelatase, que catalisa a inserção do íon ferro na molécula.¹ O heme, produto final da cadeia, difunde pelas paredes da mitocôndria até o citoplasma, onde está disponível para funcionar como um grupo protético combinando com apoproteínas apropriadas.

3.3.2. Uroporfirinogênio decarboxilase

A uroporfirinogênio decarboxilase (UROD), a quinta enzima da cadeia de biossíntese do heme, tem sua atividade reduzida em doentes com PCT e porfiria hepatoeritropoiética (PHE). A UROD é um polipeptídeo com massa molecular de aproximadamente 42kDa, codificado por um único gene no cromossomo 1p34 que contém 10 exons distribuídos em 3kb.¹¹ A enzima encontra-se no citoplasma e catalisa a decarboxilação (oxidativa) seqüencial de quatro grupos acetil do uroporfirinogênio (UROGEN) formando o coproporfirinogênio (COPROGEN). O UROGEN é um 8-carboxil porfirinogênio que é convertido em 7-carboxil porfirinogênio; por sua vez é convertido em 6-carboxil porfirinogênio e em 5-carboxil porfirinogênio. Quando este último sofre decarboxilação do seu último grupo acetil, forma-se o 4-carboxil porfirinogênio, também conhecido como coproporfirinogênio (COPROGEN). Estes intermediários também são denominados hepta-, hexa-, penta- e tetra-carboxil porfirinogênios. O COPROGEN I não segue na seqüência da cadeia de biossíntese do heme. Na PCT há uma inversão na seqüência de ação das enzimas UROD e COPROGEN oxidase. A UROD normalmente age na 5-carboxil porfirinogênio para formar a COPROGEN III e esta é subsequenteemente convertida em PROTOGEN pela COPROGEN oxidase. Entretanto na PCT onde temos deficiência da UROD, a COPROGEN oxidase pode decarboxilar primeiramente o grupo propionil do 5-carboxil porfirinogênio e formar a dehidroisocoproporfirinogênio (DEHIDROISOCOPROGEN). Quando o grupo acetil da DEHIDROISOCOPROGEN é decarboxilado pela UROD, forma-se o

HARDEROGEN, e então ocorre o retorno à cadeia de biossíntese do heme. Alternativamente, a DEHIDROISOCOPROGEN pode sofrer hidratação e formar o isocoproporfirina (ISOCOPRO). Isto não ocorre durante o processo normal de síntese do heme e explica o aumento de ISOCOPRO nas fezes característico de doentes com PCT.⁴

A deficiência de UROD é herdada ou adquirida e resulta no acúmulo de uroporfirina (URO) e hepta-carboxil porfirinogênio no fígado; estas porfirinas mais carboxiladas são hidrofílicas, portanto são preferencialmente excretadas pela urina. À medida que ocorre a progressão na cadeia de biossíntese, as porfirinas são mais hidrofóbicas e inicia-se a predominância da excreção biliar; a coproporfirina é excretada, por ambas as vias, predominando a excreção biliar.⁴

Contrastando com as outras porfirias, a PCT não é uma doença de herança monogênica. Indivíduos com PCT aparentemente são predispostos geneticamente a desenvolver deficiência de UROD como resposta à lesão hepática. A doença é desencadeada pela ingestão de álcool e pelos estrógenos^{41,42} na maioria dos casos e numa minoria por hemodiálise, vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da hepatite C (HCV), hidrocarbonetos aromáticos polihalogenados, carcinoma hepatocelular e ferro.¹⁹

Estudos bioquímicos e genéticos indicam que não há hereditariedade do defeito específico no fígado, na expressão ou estrutura da UROD na PCT esporádica.^{22,23} Se fatores hereditários estão envolvidos, outros *loci* devem estar afetados.²³ A expressão clínica da PCT aparenta ser

um resultado da inativação progressiva da UROD (estruturalmente normal) no fígado, por um processo específico atingindo o sítio catalítico, não afetando os principais epitopos.⁴³ A atividade da UROD no fígado diminui para 25% ou menos do normal, níveis estes em que há quantidade suficiente de porfirinas para produzir fotossensibilização.^{22,43,44} Embora esteja mais bem relatado na PCT esporádica, provavelmente este processo também ocorre na forma familiar, onde, é provável que uma menor inativação seja necessária, pois nestes casos, a concentração da enzima é inferior.⁶

3.3.3. Mecanismo de inativação da uroporfirinogênio decarboxilase no hepatócito

Elder em 1998²¹ revisou os fatores que interferem no mecanismo de inativação da UROD no hepatócito em modelos experimentais e observou que três fatores principais aceleravam sua inativação: a sobrecarga de ferro, a indução do citocromo P450 e o aumento do suplemento de ALA.^{11,45}

O ferro age promovendo a formação de fatores reatores do oxigênio.⁴⁶ Há fortes evidências de que o ferro age oxidando o substrato da UROD, isto é, o uroporfirinogênio (UROGEN), gerando uroporfirina (URO) e produtos oxidados não-porfirínicos (não caracterizados) que inibem a enzima. A oxidação ocorre através dos radicais hidroxil, cuja formação é promovida pelo ferro.⁴⁴ O ferro tem um papel importante na patogênese da doença. A remissão após a flebotomia e a falha do tratamento se for administrado o suplemento de ferro, sugerem que o ferro contribui para o excesso de produção das porfirinas hepáticas.^{47,48}

Os hidrocarbonetos cíclicos clorados e não-clorados induzem o citocromo P450 e causam a PCT tóxica e uroporfiria experimental.⁴⁹ Em roedores, o citocromo P450IA2 catalisa a oxidação microsomal (NADPH-dependente) da UROGEN em URO.⁵⁰ O citocromo humano é menos ativo como catalítico da oxidação do uroporfirinogênio em relação ao do roedor.⁵⁰

A indução de uroporfiria em roedores com hidrocarbonetos cíclicos e ferro é acelerada de forma marcante com a adição de ALA.^{46,51} A adição de ALA tem efeito acelerador provavelmente porque serve como um fornecedor de uroporfirinogênio, substrato para a UROD que está inibida. A medida da atividade da ALA sintetase, enzima controladora da biossíntese do heme, não está aumentada, provavelmente porque basta estar um pouco acima dos níveis basais para produzir o aumento na produção de porfirinas.⁵¹

Alguns autores sugerem que autoanticorpos podem estar envolvidos na inibição da UROD.^{8,52} Os doentes com hepatite C teriam um aumento da resposta auto-imune no fígado, e os autoanticorpos funcionariam como inibidores da atividade catalítica da UROD.

Na Figura 2 observamos a interação entre os fatores hereditários e adquiridos implicados na inativação da UROD (modelo patogênico).²⁴ Em condições normais, praticamente todo UROGEN III é convertido em COPROGEN III. Na presença de ferro a proporção oxidada de URO e de produtos de oxidação não-porfirínicos está aumentada; isto ocorre quando há indução do citocromo P450 ou acúmulo intracelular de UROGEN (secundário à deficiência de UROD ou administração de ALA). A inativação da UROD é auto-sustentada a não ser que a formação de fatores reatores de oxigênio

seja prevenida pela remoção de ferro. O ferro age como um interruptor que controla a geração de inibidores da UROD, começando um ciclo vicioso de inativação da UROD; sua remoção permite a restauração da atividade da UROD.²¹ São vários os genes candidatos a induzir a PCT. Mutações no *locus* da UROD podem diminuir a concentração da enzima de forma que uma inativação menor seria necessária para atingir o nível no qual surge a doença. Outros *loci*, candidatos potenciais, seriam *loci* envolvidos na regulação do metabolismo do ferro, na produção do heme hepático (e também na formação de ALA) e na indução do citocromo P450. As mutações ocorridas em mais do que um destes *loci* pode explicar porque PCT é uma reação incomum entre as causas freqüentes de lesão hepática. Genes de susceptibilidade fora do *locus* da UROD, além do gene da hemocromatose, ainda não foram identificados. Os depósitos de ferro hepático podem estar aumentados pela ingestão na dieta alimentar. Álcool e estrógenos aumentam a absorção intestinal de ferro, e a infecção viral crônica pode liberar o ferro ligado à ferritina. O álcool e os hidrocarbonetos cíclicos podem também induzir o gene da ALA sintetase, enzima que controla a geração UROGEN, precursor de inibidores da UROD.²⁴

TA: ⁽¹⁾ FRO: Fatores reatores de oxigênio; ⁽²⁾ Auto-Ac: Autoanticorpos

Figura 2 - O mecanismo de inativação da uroporfirinogênio decarboxilase nos hepatócitos e a interação entre fatores hereditários e adquiridos na porfiria cutânea tardia (modelo patogênico) ²⁴

3.3.4. Fisiopatologia das lesões cutâneas

A capacidade das porfirinas de fotossensibilizar a pele foi demonstrada por Meyer-Betz em 1912, quando ele se auto-injetou com hematoporfirina.⁵³ As porfirinas URO, COPRO e PROTO em soluções ácidas apresentam pico de absorção na região de 400 a 410 nm (chamada de banda de Soret) e em quatro bandas adicionais com intensidade decrescente entre 500 e 700 nm. A exposição das porfirinas ao espectro da banda de Soret resulta na emissão de dois picos de fluorescência na região de 600 a 610 nm e de 640 a 660 nm.⁴

Os níveis de porfirinas plasmáticas de doentes com insuficiência renal crônica em hemodiálise podem se sobrepor àqueles encontrados em doentes com PCT.⁵⁴ No renal crônico, as porfirinas plasmáticas podem estar aumentadas em até oito vezes do seu nível normal sem causar lesão na pele.⁶ Não é portanto apenas os níveis de porfirinas que determinam as lesões cutâneas, mas também outros fatores como: o tipo de porfirina, a sua concentração na derme, a intensidade de exposição à luz e o grau de fotoproteção natural.⁶ A lesão na pele pelas porfirinas requer o acúmulo destas na derme, radiação com comprimento de onda em torno de 400nm (pico de Soret) e a presença do oxigênio.^{55,56}

O mecanismo de fotossensibilização pelas porfirinas quando são expostas às luzes ultravioleta e visível (360 a 420nm) ou ao infravermelho (640 a 700nm) não está bem definido. Provavelmente há interação entre vários fatores responsáveis pela patogênese das lesões cutâneas; entre eles estão os fatores reatores do oxigênio (FRO), células (mastócitos,

polimorfonucleares, e fibroblastos), mediadores solúveis (sistema complemento e eicosanóides) e metaloproteinases matriciais.⁴

3.3.4.a. Fatores reatores de oxigênio

As porfirinas (URO e COPRO) absorvem a energia da luz gerando uma molécula de porfirina em seu estado excitado *singlet*, que apresenta meia-vida extremamente curta ($<0,01\mu\text{s}$), podendo espontaneamente converter-se em estado *triplet*, com nível de energia mais baixa e meia-vida mais longa (na ordem de μs a ms), o que permite que eles reajam com substratos biológicos. As moléculas de porfirina em seu estado excitado retornam ao seu estado basal liberando a energia absorvida na forma de luz (fluorescência, se emitido por moléculas no estado *singlet* ou fosforescência se no estado *triplet*), calor, ou transferindo energia para os constituintes da célula (membranas, organelas, proteínas e DNA). Quando as porfirinas no seu estado *triplet* transferem a energia para as moléculas de oxigênio (O_2) produzem os fatores reatores de oxigênio (FRO), como o oxigênio *singlet* ($^1\text{O}_2$), ânion superóxido (O_2^-), radicais hidroxila (OH), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peróxidos lipídeos, que interagem com as membranas celulares e causam uma lesão tecidual e a liberação de mediadores proinflamatórios. O oxigênio *singlet* ($^1\text{O}_2$) é provavelmente o principal mediador do dano das porfirinas à pele.⁵⁷ Este processo é chamado de reação fotodinâmica. Vários estudos dão suporte à participação dos FRO na fototoxicidade induzida por porfirinas,^{58,59,60,61} mas sua ação na pele ainda não foi estabelecida.

3.3.4.b. Propriedades físico-químicas das porfirinas

A fotossensibilidade depende da distribuição das porfirinas no tecido e, portanto, das suas propriedades físico-químicas. A URO e a COPRO são hidrofílicas e preferencialmente acumulam na porção inferior da epiderme na zona da membrana basal (ZMB) e na derme superior; por outro lado a PROTO tem mais afinidade por membranas lipídicas (célula endotelial e membrana do lisossomo). Isto explica as diferenças clínicas entre a protoporfiria eritropoiética e a PCT.⁶

3.3.4.c. Participação do complemento

A participação do complemento (C) na gênese das lesões foi inicialmente sugerida pelos estudos de imunofluorescência identificando componentes do complemento na parede dos vasos e na junção dermo-epidérmica.^{62,63,64} A irradiação do soro de doentes com PCT *in vitro* resulta na ativação do complemento (C).^{65,66,67} Em modelos animais, a fotossensibilidade induzida por porfirinas está associada à ativação do complemento; ela está suprimida em animais com depleção do complemento e em animais congenitamente deficientes de C5.⁶⁸ A geração de quimiotaxia derivada de C5 também é observada após a exposição da pele de doentes com PCT à radiação na banda de Soret.^{57,69} Presume-se que a porfirina quando irradiada pela luz resulta na geração de FRO, mais provavelmente o oxigênio *singlet*, que ativa o complemento. A ativação da cascata do complemento pela irradiação é uma via adicional, ou provavelmente a via mais aceitável que leva à lesão endotelial. A lesão endotelial sempre precede

o influxo de leucócitos polimorfonucleares, portanto a geração de quimiotaxia derivada de C5 pode representar somente um processo patogênico adicional que se soma à lesão tecidual.⁷⁰ A observação de que a ativação do complemento ocorre após a irradiação do soro de doentes com PPE e PCT pode explicar porque as alterações vasculares são semelhantes em ambas as doenças.⁶⁵ Múltiplos surtos de fototoxicidade foram induzidos em ratos, com níveis elevados de protoporfirina, por um longo período; a pele tornou-se esclerótica nas áreas expostas e microscopicamente eram idênticas na histoquímica, imunohistoquímica e na ultra-estrutura à pele de doentes com PPE. Foi também demonstrado que cada irradiação resultava na destruição do endotélio, que era seguida de vazamento maciço do conteúdo vascular. Como a membrana basal do vaso continuava intacta, ela fornecia um suporte para a regeneração das células endoteliais, que por sua vez depositavam uma nova membrana basal ao longo da membrana original. Exposições subseqüentes produzindo a lesão endotelial resultaram em várias camadas de membrana basal, formando um tubo concêntrico em torno do vaso, que era PAS positiva e continha debris celulares e componentes do soro.⁷¹

3.3.4.d. Proliferação fibroblástica e fibrose

A fibrose pode ser secundária à lesão vascular levando à deficiência nutricional da derme, mas isto isoladamente não explica as alterações esclerodermóides vistas na PCT.⁶² O aumento na biossíntese de colágeno foi observado após a incubação de fibroblastos com URO.⁷² Este efeito é independente da radiação de luz e parcialmente explica as alterações

esclerodermóides que ocorrem em áreas expostas ou cobertas. A histamina liberada pelos mastócitos, sob a influência da anafilotoxina (C5a), pode estimular a produção de colágeno pelos fibroblastos e produzir alterações esclerodermóides.⁷³ Esta hipótese baseia-se nos seguintes fatos: (1). Ocorre ativação do complemento no soro de doentes com PCT resultando na geração de anafilotoxina (C5a).⁵⁷ (2). Mastócitos são células alvo de C5a na pele; o C5a liga-se aos mastócitos, levando as células a liberar histamina.⁷⁴ (3). A histamina tem um efeito marcante no crescimento de cultura de fibroblastos e na síntese de colágeno.⁷⁵

3.3.4.e. Metabolismo eicosanoide

A incubação *in vitro* de macrófagos peritoniais de rato ou de células tumorais de fibrosarcoma (induzido por radiação) com derivado de hematoporfirina (PHOTOFRIN II) seguida da radiação de 630nm resulta na geração de prostaglandina E₂ (PGE₂).⁷⁶ Sabe-se que o líquido da bolha de PCT contém PGE₂.⁷⁷

3.3.4.f. Metaloproteinases matriciais

A URO fotoexcitada, *in vitro* induz collagenases intersticiais [metaloproteinase matricial-1 (MMP-1), collagenase tipo IV (MMP-2) e a stromelisin-1 (MMP-3)] em fibroblastos de derme humana.⁷⁸ A indução das MMPs pela porfirina fotossensibilizada sugere que a degradação da derme e da membrana basal pode ser decorrente destas enzimas.

A causa das alterações pigmentares e da hipertricose ainda não foi

elucidada. Os níveis de andrógenos são normais; provavelmente há receptores de superfície ou fatores de crescimento para queratinócitos do bulbo capilar, que são ativados pela ação das porfirinas em conjunto com a luz.⁴

3.4. FATORES DESENCADEANTES

Os fatores que freqüentemente contribuem para o desenvolvimento da PCT (tipo I, adquirida ou esporádica) são o álcool, estrógenos, ferro, infecções virais [vírus da hepatite C (HCV) e vírus da imunodeficiência humana (HIV)], hidrocarbonetos policlorados [principalmente hexaclorobenzeno (HCB) e 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD)], e a hemodiálise em doentes com insuficiência renal crônica. Pelo menos um destes fatores está presente na maioria dos doentes, independente do tipo de PCT.^{25,35}

3.4.1. Álcool

O etilismo há muito é reconhecido como um importante fator desencadeante de PCT.⁷⁹ A maioria dos doentes etilistas com PCT consome pelo menos 40g de etanol por dia.^{21,80} Como somente 40% dos doentes com PCT apresentam ingestão de álcool acima de 3 litros por mês e a grande maioria dos indivíduos etilistas não desenvolve PCT, isto indica que o álcool só age em sinergismo com outros fatores em indivíduos predispostos.⁸¹ A análise da excreção de porfirina urinária e da concentração de porfirina

hepática em etilistas com hepatopatia crônica sugere que as alterações bioquímicas consistentes com deficiência de UROD são mais comuns do que o diagnóstico de PCT.^{82,83} Etilismo crônico leva à supressão da eritropoiese e aumenta a absorção de ferro da dieta alimentar⁸⁴, mas talvez esteja ligada à herança de mutações associadas à hemocromatose, como a mutação Cys282Tyr, que é dominante em países onde o álcool é o fator desencadeante mais comum de PCT.⁸⁵ O álcool induz o aumento da ALA sintetase hepática em doentes com PCT. Este aumento pode ocorrer em doentes com cirrose hepática sem PCT; esta associação suscita a questão quanto à relevância dos efeitos do álcool na ALA sintetase na expressão clínica da PCT.⁸⁶ O álcool e os compostos fenólicos do vinho induzem as isoenzimas do citocromo P450 resultando em consumo do heme hepático e afetando a expressão da enzima reguladora, a ALA sintetase. O aumento subsequente na geração do precursor pode sobrecarregar a UROD, inibida ou alterada geneticamente, provocando a manifestação da deficiência enzimática.⁸⁷

3.4.2. Estrógenos

O uso de estrógenos, como contraceptivos ou para reposição hormonal pós-menopausa, e como terapêutica hormonal nos homens com carcinoma de próstata, pode estar associado à PCT.^{36,88} Estrógeno é o único fator desencadeante em mais de 25% das mulheres com PCT⁸⁹ e a suspensão do hormônio geralmente é o suficiente para a remissão, se o tratamento hormonal foi por um período curto.⁹⁰ Em porfiria experimental

(p.ex. porfiria induzida por HCB em ratos) o estrógeno aumenta a excreção de porfirina.⁹¹ O mecanismo pelo qual atua o estrógeno na expressão da PCT ainda não foi estabelecido. O estrógeno dietilestilbestrol induz a ALA sintetase hepática, mas isto não explica o padrão de excreção de porfirinas encontrado na PCT.⁹² Outros autores vincularam o componente progestagênico do anticoncepcional como mais efetivo na indução da ALA sintetase.⁹³ O estrógeno também pode atuar inibindo a UROD no fígado de doentes que já a apresentam geneticamente diminuída.⁴² A maioria dos doentes que recebe estrógenos não manifesta as alterações bioquímicas associadas à PCT. Na gravidez o aumento de estrógenos e o suplemento de ferro podem induzir a PCT. Esta também está associada ao teste positivo para o fator antinúcleo (FAN) em 36 por cento dos doentes e isto pode ter importantes implicações na gestação. Por esta razão é recomendado o teste do anticorpo anticoagulante lúpico e anticardiolipina.⁹⁴ Aparentemente há um aumento de pré-eclampsia entre as doentes com PCT, porém não abortos recorrentes.⁹⁴ Se há a necessidade de tratamento, a flebotomia é a melhor opção.⁹⁵ A cloroquina (Categoria D) é embriotóxica em roedores, mas não no ser humano e seu uso é aceitável considerando-se seu benefício terapêutico nos casos refratários.⁹⁶

3.4.3. Hexaclorobenzeno

O HCB usado como fungicida causou uma “epidemia” de uma síndrome PCT-símile no sudeste da Turquia em 1952.⁹⁷ Utilizado como um defensivo agrícola em sementes de trigo destinado ao plantio, mas devido à

fome, milhares de pessoas, na sua maioria crianças, comeram pão feito com o trigo e desenvolveram PCT tóxica. Mais de 4000 casos desta síndrome foram relatados entre 1956 e 1961, em indivíduos de diferentes etnias. Não há necessidade de susceptibilidade individual para desenvolver PCT tóxica. Como o HCB tem uma meia-vida biológica longa, muitos doentes ainda apresentavam sintomas após 20 anos, sendo que as porfirinas urinárias e fecais permaneceram elevadas em muitos doentes.^{33,98} Estudos experimentais demonstram que o HCB pode inativar a UROD abolindo a sua atividade catalítica sem modificar a quantidade da enzima.⁹⁹

A porfiria tóxica também pode ser causada por outros hidrocarbonetos clorados como o bifenil policlorado (PCB) e o 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD), que é um sub-produto na síntese do herbicida ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético.¹⁰⁰ O TCDD é um poluente ambiental tóxico e o seu efeito porfirinogênico pode ser inibido em ratos se eles forem depletados de ferro.

Estudos adicionais dos efeitos porfirinogênicos do HCB, TCDD e PCB sugerem que a ativação metabólica do citocromo P450 e os FRO mediados pelo ferro estão associados ao ataque à UROD no sítio catalítico.^{24,101} Além da inativação da UROD no sítio catalítico, eles também têm a capacidade de induzir a ALA sintetase através da depleção do heme, secundária à indução das isoenzimas do citocromo P450, e isto leva à geração de substrato em excesso para uma enzima que se encontra inibida.²⁴

3.4.4. Hemocromatose e metabolismo do ferro

A alteração no metabolismo do ferro é comum na PCT;^{81,102,103} o ferro sérico e a ferritina estão elevados ou no limite superior do normal.¹⁰⁴ No fígado, a concentração do ferro não ligada ao heme e os depósitos de ferro estão aumentados em 65% dos doentes.^{81,102,103} A sobrecarga de ferro é leve a moderada na maioria dos doentes, e a hemocromatose clínica é incomum.⁴¹ Um certo grau de siderose hepática está presente em 80% dos doentes com PCT, especialmente nos hepatócitos periportais.^{35,80,81,102,105} Os depósitos de ferro estão freqüentemente associados aos cristais de uroporfirina dentro dos hepatócitos.³⁵ PCT é freqüente onde o etilismo é pela cerveja e vinho com alto teor de ferro, como na África do Sul e em algumas regiões da Itália.⁵¹ A mutação Cys282Tyr no gene da hemocromatose tem sido identificada como um fator de susceptibilidade a PCT adquirida ou familiar.¹⁹ Os homozigóticos desta mutação apresentam hemocromatose e têm risco aumentado de até 60 vezes de desenvolver PCT.⁸⁹ Recentemente foi demonstrado que a homozigose da mutação C282Y estava associada ao início mais precoce das lesões cutâneas tanto na PCT esporádica como na familiar.²⁹ Em populações do sul da Europa, uma segunda mutação no gene da hemocromatose, a H63D, também pode estar associada a PCT.¹⁰⁶ Um trabalho brasileiro identificou que 17,4% dos doentes com PCT apresentavam a mutação C282Y, enquanto que no grupo controle a mutação ocorreu em 4%; neste trabalho não houve aumento na mutação H63D.¹² Esta mutação contribui para o aumento dos níveis de ferro hepático, mas não resulta em sobrecarga de ferro na ausência da mutação C282Y.¹⁰⁷

A flebotomia é mais indicada para a redução dos depósitos de ferro nos doentes homozigotos da mutação C282Y ou heterozigotos compostos das mutações C282Y e H63D.¹⁰⁷

3.4.5. Infecções virais

O papel dos vírus hepatotrópicos no desencadeamento da PCT é relatado desde 1992.^{108,109} A prevalência de anticorpos anti-HCV varia de 8 a 90%, e está relacionada à sua endemicidade na população,^{19,21,110} sendo mais elevada no sul da Europa (França¹¹¹, Espanha¹¹², Itália^{52,108} e Polônia¹¹³) e nos Estados Unidos (59%).⁸⁹ Não há predominância de nenhum genótipo do HCV nas porfirias.¹¹⁴

Os doentes com sorologia positiva para HCV apresentam um aumento do ferro sérico, da saturação de transferrina e da concentração de ferritina sérica, sugerindo que o HCV é capaz de deslocar o ferro do hepatócito produzindo “ferro livre”, que leva à formação de radicais livres e oxidação de uroporfirinogênio.^{89,108} Doentes com hepatite C crônica apresentam um benefício adicional através da flebotomia para a redução do ferro, pois melhora a inflamação hepática e a resposta ao tratamento com interferon.¹¹⁵ Apesar do excesso de ferro e a hepatite C serem importantes fatores de risco, isoladamente são insuficientes para causar PCT; menos de 10% de todos os indivíduos com excesso patológico de ferro desenvolve PCT¹¹⁶ e a maioria dos indivíduos com hepatite C não o desenvolve.¹¹⁷ Evidentemente certos indivíduos são predispostos a desenvolver a deficiência enzimática. Como a PCT pode ser a primeira indicação de

infecção pelo HCV, é importante a investigação de HCV em todos os doentes.¹¹⁸

As hipóteses que explicam o papel do HCV na PCT seriam: (1). Diminuição na atividade da UROD secundariamente à lesão do hepatócito;^{112,119} (2). Alteração no metabolismo da porfirina através do sistema oxidase dependente do citocromo P450;¹¹⁹ e (3). Aumento da resposta auto-imune no fígado.⁵² Em um trabalho no qual se estudou o padrão de autoanticorpos de 111 doentes com PCT, somente 8% dos doentes apresentavam HCV; não houve um aumento de autoanticorpos circulantes (anticorpos antinúcleo, antimúsculo liso, anticélulas parietais, *anti-liver-kidney-microsomal* (LKM-1) e antimitocôndria) comparado ao grupo controle.¹²⁰ Outro trabalho utilizou o “imunoblot” para identificar autoanticorpos contra o citosol (que contém UROD) e contra a fração microssomal (que contém citocromo P450) do hepatócito humano, de 82 doentes com PCT (77% com infecção pelo HCV), 105 com outras doenças hepáticas e 40 indivíduos saudáveis. Os anticorpos anti-citosol foram mais freqüentes nos doentes com PCT (46%) comparado aos controles e nos doentes com PCT eram mais freqüentes nos HCV positivos (57%) do que nos HCV negativos (11%).¹²¹ O antígeno citosólico tinha um peso molecular de 40kDa, que é semelhante à UROD¹¹ que tem 42kDa. Os anticorpos funcionariam como inibidores da atividade catalítica da UROD. Provavelmente a reatividade ao citosol deve-se a um mecanismo de imitação molecular, semelhante ao que ocorre na hepatite C e na produção de autoanticorpos *anti-liver-kidney-microsomal* (LKM-1),¹²² antinúcleo e

antimúsculo liso.^{123,124}

Indivíduos infectados pelo HCV, mas sem PCT, podem apresentar aumento das porfirinas e diminuição da atividade da UROD no fígado. Como não foram comprovadas a associação destas alterações com a carga viral, o conteúdo de ferro hepático ou à lesão histológica, sugere-se que as reações imunológicas podem ser a ligação entre o vírus e a PCT.¹²⁵

Outros vírus têm sido implicados na patogênese da PCT. Alguns trabalhos mostram um pequeno aumento da prevalência de hepatite B.¹²⁶

A associação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e a PCT foi inicialmente reconhecida em 1987,¹²⁷ e nos primeiros relatos a PCT geralmente incidia nas fases mais tardias da infecção pelo HIV,¹²⁸ mas atualmente, na maioria dos casos, relatados se fez o diagnóstico de HIV concomitante com a PCT.¹²⁹ Deve-se, portanto, considerar a sorologia para HIV em todos os pacientes com PCT. Infecções combinadas de HIV e HCV já foram relatadas.¹³⁰ Outros fatores desencadeantes geralmente estão associados, tais como álcool, hepatite B e hepatite C; provavelmente é a combinação destes fatores que causa a lesão hepática e a infecção pelo HIV potencializa esta lesão.¹²⁹ A infecção pelo HIV, HCV ou ambos atuam através de uma lesão hepática inespecífica, que age como um fator desencadeante em indivíduos predispostos.¹¹⁷ Alterações nas porfirinas séricas tornam-se mais freqüentes nos doentes com as duas infecções (HCV e HIV) e nos doentes HIV positivo sem HCV, quando comparados aos doentes HIV negativo com HCV, sugerindo que o HIV tem um papel independente do HCV.¹³¹ O diagnóstico de PCT deve ser cogitado no

diagnóstico diferencial dos doentes HIV com quadro de fotossensibilidade e prurido.¹²⁹ Anormalidades no metabolismo da porfirina, como a deficiência de UROD, são mais freqüentes em doentes com AIDS do que naqueles com infecção pelo HCV.¹³¹

O papel destas infecções virais na patogênese da PCT não está claro. Uma conexão com a mutação H63D da hemocromatose tem sido sugerida, mas é possível que esta conexão seja eventual.²⁴

3.4.6. Hemodiálise

PCT pode ocorrer em doentes com insuficiência renal crônica (IRC), tratados com hemodiálise.^{132,133} Estes doentes são predispostos a PCT provavelmente pela diminuição pré-existente da atividade da UROD hepática.¹³⁴ A sobrecarga de ferro, devido à insuficiência renal, diminui a atividade enzimática levando à doença clínica.¹³⁵

Cada um destes fatores desencadeantes contribui para o excesso de porfirinogênese hepática característica da PCT. Há evidências que a siderose hepática é o evento patológico crítico na PCT e que outros agentes de alguma forma intensificam a habilidade do ferro em oxidar o substrato da UROD. A maioria dos doentes apresenta mais de um fator de risco para o desenvolvimento da PCT, freqüentemente HCV e álcool, principalmente em homens.¹¹⁸ A expressão da PCT depende portanto da interação entre vários fatores, tanto genéticos quanto ambientais.

3.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Vesículas e bolhas, seguidas de erosões e crostas, ocorrem predominantemente nas áreas expostas ao sol e sujeitas a trauma. Acometem com maior frequência a face, dorso das mãos e dos pés.^{36,136} Há aumento da fragilidade da pele em praticamente todos os doentes. As bolhas são tensas, não circundadas por inflamação, e seu conteúdo geralmente é claro, podendo, no entanto, ocorrer bolhas hemorrágicas. Cicatrizes hipopigmentadas ou hiperpigmentadas, com milia permanecem na região, principalmente nos dedos e dorso das mãos.¹⁰ A doença piora no verão e melhora no inverno.³⁶ Nos doentes com altos níveis de porfirinas no plasma e na urina, a radiação solar pode induzir a formação de bolhas.¹⁰ No verão há aumento da excreção de porfirinas.⁴ Outra alteração cutânea é a hiperpigmentação difusa da face e das áreas fotoexpostas.^{36,118,136} A hipertricose (não-virilizante) é um sinal que pode ser o primeiro sintoma da doença na mulher.¹³⁷ Geralmente os pêlos são do tipo lanugem, mas podem variar em espessura e cor, que acometem a região frontotemporal e malar superior estendendo-se até os supercílios.¹³⁶ Nas crianças envenenadas por HCB na Turquia, a hipertricose, ocasionalmente, acometia o tronco e extremidades.¹³⁸

Placas esclerodermiformes¹³⁹ são pouco frequentes; ocorrem em 1,6 a 18% dos doentes^{118,140} e geralmente se desenvolvem após uma longa evolução da doença.^{140,141} As placas são branco-amareladas, endurecidas, e podem surgir nas áreas expostas como também nas áreas protegidas.⁷³

Acometem face, pescoço, tórax e couro cabeludo¹⁰ e ocasionalmente se tem observado esclerose sistêmica e esclerodactilia.¹¹⁸ A histopatologia das lesões é semelhante à da esclerodermia, e podem ocorrer calcificações nas placas, principalmente na região preauricular e no couro cabeludo.^{36,142} A associação de PCT com esclerodermia é rara.¹⁴³

Outras alterações cutâneas são alopecia cicatricial,¹¹⁸ envelhecimento precoce da pele da face com elastose solar e comedões,^{10,136} e onicólise.¹³⁶ Manifestações não cutâneas incluem neuropatia periférica,¹⁴⁴ surdez, insônia, alterações da personalidade, conjuntivite e epífora (aumento do lacrimejamento). Em casos raros, a fotossensibilidade prolongada pode produzir a *scleromalacia perforans* de Van der Hoeve, que consiste numa úlcera redonda enegrecida no limbo da esclerocórnea devido à destruição superficial da esclera.^{142,145} Náusea, anorexia, diarreia, obstipação intestinal e fibromatose palmar também já foram relatados.¹⁰ A cloroquina na dosagem antimalárica provoca uma reação hepatotóxica severa associada a uroporfirinúria maciça e fotossensibilização, mas raramente este é o primeiro sinal de que o indivíduo apresenta a PCT.¹⁴⁶

3.6. CONDIÇÕES ASSOCIADAS

3.6.1. Alterações hepáticas

A maioria dos doentes apresenta algum grau de lesão hepática.⁵¹ Evidência clínica de doença hepática não é usual, independentemente de apresentar uma alteração nas enzimas hepáticas e aumento da

concentração de porfirina hepática, com cristais de uroporfirinogênio precipitado dentro dos hepatócitos.¹⁴⁷ A característica mais importante é a presença destas inclusões citoplasmáticas acastanhadas em forma de agulha, que são birrefringentes na luz polarizada.¹⁴⁸ Estes cristais são específicos para PCT, e sua contribuição à iniciação ou progressão da doença hepática é controversa.¹⁰⁵ Além da siderose (depósito de hemossiderina nas células hepáticas periportais), as alterações histopatológicas são a infiltração gordurosa discreta (esteatose), necrose lobular focal, e presença de macrófagos repletos de material ceróide.^{80,105,149} A cirrose está presente em menos de 15% dos doentes e estes apresentam um risco maior de desenvolver carcinoma hepatocelular (CHC) do que os outros tipos de cirrose.^{105,150,151,152} A incidência de CHC em PCT varia de 5 a 16%,¹⁵³ mas em necropsias é de 40 a 50% indicando que estes tumores são assintomáticos e progridem lentamente.^{153,154} A coexistência de fatores como hepatite viral, álcool e sobrecarga de ferro podem explicar a ocorrência de CHC em doentes com PCT mesmo na ausência de cirrose.^{150,155} O risco de CHC aumenta nos homens acima de 50 anos, que apresentam PCT sintomática por 10 anos ou mais e com cirrose.^{153,151} O risco de CHC diminui com o tratamento efetivo precoce.^{152,153,156,157} Os doentes devem ser monitorados por ultra-som e dosagem de alfa-fetoproteína sérica para a detecção precoce de malignidade hepática.¹⁵⁸ A intervenção cirúrgica e a injeção intra-tumoral de álcool absoluto para necrosar o tumor, têm sucesso se o tumor for pequeno e não tiver cirrose associada. Independentemente do tipo de tratamento, as metástases são freqüentes mesmo nos tumores

pequenos, pois apresentam invasão vascular microscópica. Transplante hepático pode ser indicado.²⁴

3.6.2. Intolerância à glicose

A intolerância à glicose é freqüentemente relatada na PCT, havendo alguns relatos da incidência de diabetes mellitus ser acima de 40%, especialmente em homens.³⁶ Outros autores observaram que 3 de 30 doentes apresentavam diabetes mellitus e que 77% apresentavam teste de tolerância a glicose (GTT) alterado.⁸¹ Em um estudo controlado, onde compararam o GTT de 20 doentes com PCT com o de um grupo controle, não encontraram grandes diferenças entre os dois grupos.¹⁵⁹ A única diferença entre os dois grupos foi o aumento da excreção de insulina nos doentes com PCT, semelhante ao que ocorre nos doentes com doença hepática crônica. O que explica o aumento da insulina na cirrose é a diminuição do catabolismo da insulina e o *shunt* porta-cava derivando parte da insulina produzida pelo pâncreas direto para a circulação periférica. Estes autores acreditam que a alteração hepática na PCT se deve mais ao etilismo do que aos depósitos de ferro. Outro fato importante de se ressaltar é que não se encontrou aumento de uroporfirinas entre doentes diabéticos, o que fala contra a associação de *diabetes mellitus* e PCT.¹⁵⁹ Outros autores associam a intolerância à glicose mais à presença do gene da hemocromatose do que à PCT.¹⁶⁰

3.6.3. Outras condições associadas à PCT

Outras condições associadas são: o lúpus eritematoso sistêmico,¹⁶¹ lúpus eritematoso discóide,¹⁶² dermatomiosite,³⁶ esclerose sistêmica,¹⁴³ distúrbios hematológicos,¹⁶³ anemia sideroblástica,²¹ talassemia,²¹ e infecção pelo citomegalovírus.¹³⁵ Estas doenças geralmente apresentam alteração da função hepática ou do metabolismo do ferro.

3.7. DIAGNÓSTICO E ACHADOS LABORATORIAIS

Pode-se suspeitar do diagnóstico de PCT pela clínica e histopatologia, mas a análise das porfirinas na urina, nas fezes e no sangue é necessária para distingui-la de outras doenças.

3.7.1. Análise das porfirinas

3.7.1.a. Testes de “*screening*” usando a lâmpada de Wood¹⁶⁴

Os doentes com PCT apresentam urina escura, com fluorescência púrpura-avermelhada à luz de Wood, devido ao seu alto conteúdo de porfirim. O teste da lâmpada de Wood deve ser feito em todos os doentes com fotossensibilidade e não somente nos doentes com suspeita de porfiria. Na PCT o teste é positivo na urina (++) e nas fezes (++) e negativo no sangue (hemácias). Se os testes de “*screening*” são positivos ou duvidosos, o teste quantitativo deverá ser realizado. Os espécimes deverão ser amostras frescas.

3.7.1.a.1. Porfirinas urinárias (Método de Rimington) – A

urina normalmente contém uroporfirinas e coproporfirinas e o objetivo é detectar seu excesso. Na PCT mais grave a quantidade de porfirina na urina, logo que coletada, pode ser suficiente para ser visível sem necessidade de acidificação. Entretanto, as porfirinas estão freqüentemente conjugadas e para se sobrepor a isto, a urina é acidificada. As uroporfirinas e coproporfirinas são extraídas no amil álcool onde fluorescem livremente e os outros materiais fluorescentes e quelantes ficam na camada aquosa. Usa-se a lâmpada de Wood, que contém comprimento de onda entre 350-420nm, isto é, radiação ultravioleta (RUV) de comprimento de onda longa e luz violeta. Fluorescência rósea ou vermelha pálida na camada superior denota excesso de porfirina.

3.7.1.a.2. Porfirinas fecais (Método de Rimington) – O

objetivo do teste é detectar o excesso de porfirinas (coproporfirinas), mas as fezes podem conter normalmente pigmentos de clorofila provenientes da dieta (vermelho fluorescente), e pequenas quantidades de COPRO e protoporfirinas. Se a coproporfirina está presente em excesso, a fluorescência na camada ácida inferior é forte. Fluorescência avermelhada na camada superior (éter) não tem significado diagnóstico (pigmentos de clorofila).

3.7.1.a.3. Porfirinas no sangue (Método de Rimington-

Doyle) – O objetivo deste teste é detectar o excesso de porfirinas nos eritrócitos. Este teste é negativo na PCT. Fluorescência rósea a

avermelhada na camada ácida inferior indica excesso de porfirina. PROTO, COPRO ou uroporfinas, em excesso, são detectadas nos glóbulos vermelhos, se a dosagem estiver acima de 500µg/100ml.

3.7.1.b. Quantificação das porfirinas urinárias pelo método HPLC

(“*High performance liquid chromatography*”)^{165,166}

É um teste com maior sensibilidade para investigar as porfirinas. O método detecta e identifica as seis frações de porfirinas [Uroporfirina ou URO (8-carboxil), hepta-porfirina (7-carboxil), hexa-porfirina (6-carboxil), penta-porfirina (5-carboxil), e coproporfirina ou COPRO I e III (4-carboxil)] na urina de 24 horas. Na PCT, o padrão característico é o aumento da excreção de URO de 50 vezes acima do nível normal e da hepta-porfirina; a hexa e a penta-porfirina também podem estar aumentadas. A COPRO também está aumentada, mas numa extensão menor que a URO.^{24,51} A URO e a hepta-porfirina são as porfirinas urinárias predominantes na PCT (>90 por cento do total das porfirinas); a relação URO/COPRO é geralmente > 3:1.⁴ Em condições fisiológicas, a relação URO/COPRO é em torno de 1:4 e na PCT há uma inversão desta relação.¹⁶⁷ Isto ocorre em todos os doentes com doença ativa e também em indivíduos que estão em remissão.^{21,168} O marcador bioquímico utilizado, para avaliar a atividade da doença e a resposta ao tratamento, é a quantificação da excreção de porfirinas urinárias.¹¹⁸

3.7.2. Outras alterações bioquímicas^{1,4}

- **Depósito de ferro.** Praticamente todos os doentes com PCT têm aumento do ferro sérico, da saturação de ferro, da ferritina e/ou do ferro hepatocelular. A capacidade de ligação do ferro está diminuída.
- **Teste de tolerância à glicose.** Está alterada em uma minoria.
- **Enzimas hepáticas.** As transaminases séricas e a γ -glutamiltanspeptidase estão elevadas em 50% dos doentes.⁶ Os doentes com hepatite C associada apresentam níveis séricos mais altos.¹¹⁴

O diagnóstico de PCT baseia-se no quadro clínico característico, no exame de “*screening*” com a lâmpada de Wood (urina, sangue e fezes), na histopatologia de uma lesão bolhosa, na elevação da ferritina, no aumento das enzimas hepáticas, e na dosagem das porfirinas na urina de 24 horas, que confirma o diagnóstico quando o aumento do nível de uroporfirina é pelo menos três vezes maior que o nível de coproporfirina.^{1,4,36}

3.8. HISTOPATOLOGIA

As alterações histopatológicas são qualitativamente semelhantes em todas as formas de porfrias cutâneas, mas a PCT apresenta a bolha subepidérmica, uma característica histopatológica que a distingue das demais porfrias, sugerindo que a PCT apresenta um evento patológico adicional desconhecido.^{13,62,169} Na base da bolha subepidérmica as papilas dérmicas estendem-se irregularmente a partir da base da bolha para o

interior da cavidade da bolha. Este fenômeno, designado de festonamento, é explicado pela rigidez da derme superior induzida pela presença de material eosinófilo na parede dos vasos.¹⁶⁹ O infiltrado inflamatório está ausente ou é discreto.¹⁶⁹ Lesões esclerodermiformes da PCT lembram a esclerodermia histologicamente.⁶² A esclerose da derme é causada pelo aumento do colágeno I, semelhante à esclerodermia sistêmica¹⁴⁰ e no infiltrado inflamatório há um número significativo de mastócitos.⁷³ A imunofluorescência direta (IFD) permite a diferenciação entre a PCT esclerodermiforme e a esclerodermia, pois na última a imunofluorescência geralmente é negativa.¹⁴⁰ A pele exposta freqüentemente exibe uma quantidade considerável de elastose solar.⁶²

Na coloração pelo PAS (ácido periódico-Schiff), um material hialino, PAS positivo e diastase resistente, é revelado na parede dos vasos da derme superior e na junção dermo-epidérmica (JDE).^{13,14} Na microscopia eletrônica a JDE apresenta múltiplas camadas da lâmina basal e alargamento dos espaços perivasculares com fibras colágenas finas e dispersas com pequena quantidade de material filamentar e amorfo.^{13,14,62} Na PPE o material perivascular resulta do excesso na síntese de membrana basal, o que foi comprovado pela reação imunohistoquímica para colágeno tipo IV¹⁷⁰ e através da técnica de imunofluorescência empregando soro anti-colágeno tipo IV e anti-laminina.¹⁷¹ Os depósitos hialinos seriam uma resposta decorrente de episódios repetidos da lesão na parede dos vasos com vazamento do seu conteúdo.⁷¹ Estudos histoquímicos demonstraram que os depósitos hialinos contêm triptofano que é derivado do sangue e não

é encontrado no colágeno ou no tecido elástico.¹⁷² Estes estudos sugerem, portanto, que o material hialino amorfo é derivado da parede e do conteúdo vascular. A JDE apresenta alterações estruturais idênticas àquelas descritas nos vasos.^{62,13}

3.9. IMUNOFLOURESCÊNCIA DIRETA

Doentes com PCT ou pseudoporfiria desenvolvem bolhas que podem ser distinguidas de outras doenças bolhosas pela imunofluorescência direta (IFD).¹⁶ A pseudoporfiria é um termo usado para descrever doentes que apresentam as manifestações cutâneas, histologia e IFD da PCT, mas sem alteração no perfil das porfirinas.¹⁶ Na IFD há depósito de IgG, IgM, fibrinogênio e/ou complemento (C3) no interior e na parede dos vasos e na junção dermo-epidérmica (JDE) de indivíduos afetados.^{13,62,64} O estudo da imunofluorescência na PCT foi realizada pela primeira vez em 1968, utilizando conjugados poliespecíficos sem especificidade imunológica.¹⁷³ Através da melhora do equipamento microscópico (diminuição da autofluorescência das fibras colágenas) detectou-se imunoglobulinas (IgG, IgA e IgM) e depósitos de complemento no interior e na parede dos vasos, e na JDE.⁶⁴ Não foram identificados autoanticorpos circulantes contra antígenos vasculares ou perivasculares nem imunocomplexos, portanto é pouco provável que estes depósitos sejam resultantes de um fenômeno imunológico.^{13,62} Vários autores sugerem que o depósito resulta do enclausuramento de imunoglobulinas e complemento no material

hialino.^{62,140} Anticorpos circulantes antimembrana basal também não foram observados na PCT e os depósitos de imunoglobulina na JDE equivalem aos depósitos nos vasos da derme superior, portanto é mais provável que sejam componentes do plasma que escaparam do vaso e ficaram presos na JDE.^{13,62} As alterações na IFD são mais evidentes na pele exposta ao sol nos doentes com doença ativa e com excreção elevada de porfirinas urinárias; a pele não-exposta apresenta fluorescência menor.^{13,14} Após o tratamento (PCT inativa) estas alterações diminuem, a IFD da pele exposta apresenta fluorescência menos intensa ou negativa e na pele não-exposta a fluorescência é sempre negativa.¹³

3.10. MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Vários autores estudaram o nível de clivagem da bolha utilizando a microscopia eletrônica. A localização exata da clivagem ainda não foi determinada. As bolhas podem resultar de clivagem em diferentes níveis: 1. queratinócitos basais;¹⁷⁴ 2. lâmina lúcida;^{16,17} 3. sublâmina densa;¹⁴ 4. derme papilar.⁶² Em alguns doentes, as várias formas de clivagem podem ser visualizadas em diferentes biópsias ou até na mesma biópsia.¹⁷⁴ Porém, não há uma explicação para a fragilidade e a tendência à formação de bolhas na PCT. Alguns autores sugerem que a bolha se origina na camada juncional e que ao receber um estímulo adicional, a bolha apresentaria clivagem dérmica, explicando porquê a bolha pode causar uma cicatriz.¹⁷⁵

Na PCT, as bolhas são produzidas por trauma e exposição à luz.⁶² Aparentemente, a pele exposta do doente com PCT torna-se endurecida, não suportando fricção ou trauma. De fato, uma lesão induzida por trauma na pele exposta de doente com PCT ativa pode ainda parecer normal clinicamente, mas na microscopia óptica e eletrônica já exhibe a formação de clivagem. Esta ocorre abaixo da lâmina basal, como se as camadas mais superficiais da derme papilar estivessem sido rompidas. As várias duplicações da membrana basal provavelmente resultam de múltiplos episódios de clivagem microscópica, clinicamente invisível e subsequente regeneração. Os depósitos de imunoglobulinas não podem ser responsabilizados por esta fragilidade, pois também ocorrem na protoporfiria eritropoiética (PPE) onde não ocorrem bolhas após trauma.⁶² As alterações observadas na JDE da bolha, pela microscopia eletrônica, são encontradas somente na PCT e PV e não na PPE. Esta variação está relacionada à concentração e solubilidade das porfirinas envolvidas; na PPE as protoporfirinas não são hidrossolúveis, portanto não difundem para fora do vaso facilmente, levando a uma lesão vascular mais proeminente do que da JDE.¹³

Ao estudar os eventos morfológicos envolvidos na formação da bolha, com a microscopia eletrônica, observou-se que o fenômeno está relacionado à formação de vacúolos limitados por membrana.¹⁷⁶ Estes vacúolos apresentam um conteúdo elétron lúcido e finamente granuloso e são observados na derme superficial, em torno dos vasos e imediatamente abaixo da lâmina basal. Próximo à clivagem da bolha, o número e o tamanho

dos vacúolos tendem a aumentar progressivamente e as membranas destes tendem a fundir, dando à derme superficial uma aparência de rede. A ruptura destas membranas seria a causa do descolamento dermo-epidérmico abaixo da lâmina basal. Estes vacúolos podem ser resultado de: (1). Citólise das células dérmicas. A uroporfirina concentrada nos lisossomos¹⁷² absorveria a luz e levaria ao escape de enzimas lisossomais para o citoplasma, causando apoptose e morte celular. (2). Formação de pseudópodes das células basais que fazem protrusão para dentro da derme através de fendas na lâmina basal. Este fenômeno degenerativo das células basais, se acentuado, pode explicar porque alguns autores^{16,17,174} relatam que a bolha se forma acima da lâmina basal.¹⁷⁶

3.11. IMUNOMAPEAMENTO ANTIGÊNICO DA JUNÇÃO DERM-EPIDÉRMICA (“IMMUNOMAPPING”)

O imunomapeamento antigênico da junção dermo-epidérmica (JDE) estuda o nível de clivagem das bolhas subepidérmicas através da imunofluorescência indireta com anticorpos específicos marcados, direcionados contra a laminina, o colágeno tipo IV, o antígeno do penfigóide bolhoso e o colágeno VII.^{16,177,178} A laminina, uma glicoproteína não-colágena, presente na membrana basal,¹⁷⁹ tem sido implicada na adesão das células epidérmicas à membrana basal¹⁸⁰ e é o principal componente da lâmina lúcida.¹⁷⁹ O colágeno tipo IV é o principal elemento da lâmina densa da membrana basal.^{177,181,182} O antígeno do penfigóide bolhoso fica acima

da lâmina lúcida nas células epidérmicas da camada basal.¹⁸² O colágeno tipo VII compõe as fibrilas ancorantes que se localizam na sublâmina densa.¹⁸² Esta técnica permite visualizar a localização dos antígenos da membrana basal dentro da bolha e apresenta vantagens em relação à microscopia eletrônica, por ser mais rápida e permitir analisar a bolha inteira.¹⁷ Este método é utilizado para determinar o nível de clivagem da JDE em várias doenças bolhosas.¹⁸³ Poucos trabalhos utilizaram este método na PCT. Em um dos trabalhos o imunomapeamento foi utilizado em cinco casos de PCT. Foi encontrado o colágeno tipo IV (todos os casos) e a laminina (4 de 5 casos) na base da bolha; o antígeno do penfigóide bolhoso (1 de 5 casos) foi encontrado no teto da bolha, indicando que a clivagem ocorreu na lâmina lúcida nos cinco casos.¹⁶ Outro trabalho utilizou o imunomapeamento em cinco biópsias de bolhas grandes; em quatro a clivagem ocorreu na lamina lúcida e em um na derme superficial.¹⁷

Na **Tabela 2**, estão relacionados os autores e o nível de clivagem da bolha encontrado nos estudos de microscopia eletrônica ou de imunomapeamento.

Tabela 2 - Nível de clivagem da bolha nos estudos de microscopia eletrônica ou de imunomapeamento dos doentes com porfiria cutânea tardia

Autores	Nível de clivagem da bolha na microscopia eletrônica ¹ ou no imunomapeamento ²
Perrot H <i>et al.</i> (1972) ¹⁷⁴	queratinócitos basais ¹
Wolff K <i>et al.</i> (1982) ⁶²	derme superior ¹
Klein GF <i>et al.</i> (1983) ¹⁷	juncional ou derme superior ^{1,2}
Caputo R <i>et al.</i> (1983) ¹⁷⁶	derme superior ¹
Nagato N <i>et al.</i> (1987) ¹⁷⁵	juncional ¹
Dabski C and Beutner EH (1991) ¹⁶	juncional ²
Timonen K <i>et al.</i> (1991) ¹⁴	derme superior ¹

3.12. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O diagnóstico diferencial de PCT deve ser feito com coproporfiria hereditária (CPH), porfiria variegata (PV), porfiria hepatoeritropoiética (PHE), porfiria eritropoiética congênita (PEC ou doença de Günther) de início tardio, pseudoporfiria,^{184,185} epidermólise bolhosa adquirida (EBA), esclerodermia e lipóido proteinose (*hialinose cutis et mucosae*).⁴ Todas estas doenças podem ser diferenciadas com base na clínica, histologia, imunofluorescência, ou pelo estudo das porfirinas.

Coproporfiria hereditária (CPH) apresenta crises agudas e 20% dos doentes têm lesões cutâneas. É caracterizada pelo aumento de COPRO III na urina e pelo aumento de ALA e PBG na urina durante as crises agudas.⁴

Porfiria variegata (PV) pode apresentar lesões de pele idênticas às da PCT e crises abdominais agudas. Tem aumento da excreção de PROTO e COPRO nas fezes (PROTO>COPRO) e aumento de ALA e PBG na urina durante as crises agudas.⁶ A relação URO e COPRO na urina é útil na diferenciação entre PV e PCT; na PCT a relação URO/COPRO é maior que 3:1 (URO>COPRO), enquanto que na PV a relação geralmente é menor que 1:1 (COPRO>URO).⁴

Porfiria hepatoeritropoiética (PHE) é a forma homozigótica ou heterozigótica para várias mutações no gene da UROD.^{186,187} Apresenta manifestações semelhantes à PCT e porfiria eritropoiética. Inicia-se na infância. Apresenta aumento de 8-carboxil (URO) e 7-carboxil na urina, de COPRO e ISOCOPRO nas fezes, e de PROTO no sangue, sugerindo que a síntese de porfirinas está alterada no fígado e na medula óssea. É diferenciada da PCT pelo quadro clínico, pela fluorescência positiva no sangue observada no exame de “screening” com a lâmpada de Wood e pela concentração do ferro sérico, que é normal neste tipo de porfiria.¹⁶⁴

Porfiria Eritropoiética Congênita (PEC) ou Doença de Günther apresenta aumento de PROTO nos eritrócitos que leva à fluorescência positiva no exame de “screening”, com a lâmpada de Wood, do sangue.¹⁶⁴

Pseudoporfiria é um termo usado para descrever doentes que apresentam as manifestações cutâneas, histologia e IFD da PCT, mas sem alteração no perfil das porfirinas.^{16,184,185} Pode ser induzida por drogas como furosemida, ácido nalidixico, tetraciclina, naproxeno, piridoxina, sulfonamidas e isotretinoína^{184,188,189} ou ocorrer em indivíduo com insuficiência renal e em

hemodiálise, e nesta condição pode ser denominada de dermatose bolhosa da hemodiálise.^{190,191,192} A dermatose bolhosa da hemodiálise¹⁹⁰ ocorre em 4-7% dos casos de hemodiálise e geralmente se desenvolve após tratamento prolongado (5-7 anos).^{191,192} Salientamos que o doente renal crônico pode apresentar aumento das porfirinas plasmáticas (2 a 4 vezes) sem lesões cutâneas de porfiria, devido à ligação das porfirinas a proteínas plasmáticas não dializáveis,¹⁹³ ou PCT verdadeira com aumento das porfirinas (5 a 100 vezes) devido à diminuição da UROD.¹⁹⁴ A elevação das porfirinas plasmáticas é secundária à: (1). diminuição do clearance renal; (2). diminuição do clearance pelos filtros de diálise (peso molecular de exclusão de 10 kDa);¹⁹³ (3). inibição da UROD devido à azotemia;¹⁹⁵ e (4). sobrecarga de ferro devido ao tratamento da anemia com transfusões sangüíneas e suplemento de ferro, levando à inibição da UROD, especialmente em indivíduos geneticamente predispostos.¹⁹⁶

Epidermólise Bolhosa Adquirida (EBA) pela IFD, pois não apresenta depósito de imunoglobulinas e complemento no interior e na parede dos vasos,⁴ e pela dosagem de porfirinas.

Lipóido Proteinose (Hyalinosis cutis et mucosae) clinicamente apresenta pápulas e nódulos na face, infiltração difusa da pele com hiperqueratose nos cotovelos, joelhos e mãos, e infiltração das cordas vocais causando rouquidão. Na histopatologia, apresenta depósito de material hialino em torno dos vasos dérmicos, em torno das glândulas sudoríparas, e dispostos em feixes homogêneos na derme perpendicularmente à superfície da pele.¹⁶⁹

3.13. TRATAMENTO

Inicialmente se deve fazer uma história pregressa detalhada no sentido de tentar identificar o fator desencadeante da doença como álcool, estrógeno, hidrocarbonetos clorados e infecção pelo HCV ou HIV. Com a suspensão do fator desencadeante, especialmente álcool ou estrógeno, há uma melhora gradual do quadro podendo ocorrer remissão clínica e bioquímica, o que pode levar meses ou anos.^{21,197} A PCT, independentemente do tipo, responde a dois tratamentos específicos: a depleção dos estoques de ferro por flebotomia^{24,198} e baixas doses de cloroquina.^{199,200} Outras formas de tratamento já descritas são a administração lenta de deferoxamina subcutânea (quelante de ferro) que leva a uma remissão mais rápida do que na flebotomia mas é muito cara,¹⁹⁸ a colestiramina²⁰¹ e a talidomida via oral.²⁰²

3.13.1 Flebotomia

Numerosos relatos enfatizam a segurança e eficácia desta forma de tratamento,^{47,197} que foi introduzida em 1961 por Ippen.²⁰³ A flebotomia é efetiva levando à depleção do excesso de ferro hepático característico da PCT.⁴⁷ É um procedimento ambulatorial no qual aproximadamente 500 ml (uma unidade) de sangue é removida semanalmente ou a cada duas semanas até a hemoglobina atingir 10 g/dL ou o ferro sérico atingir níveis de 50 a 60 µg/dL.⁴ O objetivo do tratamento é reduzir o estoque de ferro para o

limite inferior do normal.⁶ A ferritina não avalia a intensidade do depósito de ferro²⁰⁴ pois pode estar aumentada em doenças infecciosas, inflamatórias e malignas.²⁰⁵ Uma ferritina baixa, por outro lado, sempre indica estoque baixo de ferro corporal;²⁰⁶ portanto as flebotomias devem ser interrompidas quando a ferritina atingir o limite inferior dos valores de referência.²⁰⁷ A excreção de porfirina pode continuar diminuindo após a interrupção das flebotomias.⁴ Em 90% dos doentes tratados com flebotomia, a excreção urinária de URO atinge níveis normais (<100 µg/24 hrs) após 5 a 12 meses.¹⁹⁷ Há poucos trabalhos sobre o seguimento pós-tratamento, a longo prazo, mas a maioria dos doentes com recidiva responde a um novo tratamento. O tempo de remissão é muito variável (quatro a 85 meses).³⁶ A recidiva ocorre em torno de 2,5 anos após o término do tratamento.²⁰⁸ A flebotomia é um procedimento seguro com baixa morbidade. Alguns doentes apresentam cansaço e fraqueza durante o tratamento. A flebotomia é o tratamento de primeira escolha quando o doente apresenta o gene da hemocromatose, pois previne a lesão hepática induzida pelo ferro.¹⁰⁷ As contra-indicações são: anemia, doença cardiovascular devido às alterações do volume sanguíneo, cirrose hepática pois a perda de sangue leva a um aumento na necessidade da síntese de albumina e HIV.

3.13.2 Antimaláricos

Os antimaláricos são a droga de escolha pela facilidade do tratamento e quando a flebotomia é contra-indicada. Utilizam-se as aminoquinolonas, cloroquina ou hidroxicloroquina, drogas antimaláricas, em doses baixas. A

hidroxicloroquina é pouco utilizada, havendo recidiva precoce em doentes tratados com dose de 200 mg duas vezes por semana.^{209,210} Em 1957, pela primeira vez se fez uso da cloroquina no tratamento da PCT, devido à sua possível ação em algumas fotodermatoses.^{146,211} Baixas doses de 125 mg^{199,208,212} ou 250 mg²⁰⁰ duas vezes por semana foram utilizadas com sucesso em vários relatos, sem apresentarem efeitos colaterais de importância. As bolhas e a fragilidade cutânea melhoram em aproximadamente 6 meses e a excreção de porfirinas normaliza-se em 6 a 15 meses.^{199,200,208,213} Recomenda-se que o tratamento não seja descontinuado até que a concentração de porfirinas (URO) na urina tenha diminuído abaixo de 100 µg/24 hrs.¹⁹⁹ O período de remissão geralmente tem duração de 17 a 24 meses.^{199,213}

A administração da cloroquina é seguida por um aumento na excreção de porfirinas policarboxiladas na urina²¹⁴ e discreto aumento das transaminases hepáticas no início do tratamento, provavelmente devido a certo grau de toxicidade às estruturas centrolobulares do fígado.²⁰⁰ Entretanto, a morfologia hepática continua intacta e a cloroquina não agrava a lesão hepática.^{200,215} Os antimaláricos podem causar retinopatia em doses elevadas, o que não ocorre em doses baixas.²¹³

Há várias hipóteses sobre o mecanismo de ação da cloroquina: (1). A cloroquina quela o ferro do hepatócito sendo eliminado posteriormente.²¹⁶ (2) A cloroquina reduz a atividade da ALA sintetase, provavelmente através da interação com os grupos sulfidríla da enzima, regulando a biossíntese do heme que está aumentada na PCT humana.²¹⁷ (3). A cloroquina forma um

complexo com a uroporfirina, sendo excretado pelo fígado na bile.²¹⁸ Este mecanismo foi proposto em ratos com porfiria induzida por DDC (3,5 dicarboxi 1,4 dihidro 2,4,6 trimetil piridina) que inibe a ferroquelatase e leva ao acúmulo de protoporfirinas, e portanto este modelo não seria comparável à PCT humana ou à HCB-porfiria.²¹⁷ e (4). A cloroquina aumenta a excreção de porfirinas por exocitose e tem um efeito porfirinostático inibindo a formação de porfirinas.²⁰⁰

O tratamento com cloroquina é efetivo, seguro, de baixo custo e conveniente, porém a recidiva é mais precoce que pela flebotomia.²⁰⁸ A flebotomia associada a cloroquina é empregada quando a resposta for inadequada a qualquer tratamento isolado.²¹⁹

3.13.3 Antioxidantes

Doentes com PCT apresentam níveis sangüíneos baixos de antioxidantes como a vitamina E, vitamina C e o β -caroteno.²²⁰ O β -caroteno é utilizado no tratamento da protoporfiria eritropoiética (PPE), mas não foi observado benefício no tratamento da PCT.⁶⁰ Na PCT experimental em roedores, o ascorbato previne o desenvolvimento de uroporfiria,^{220,221} mas evitamos o suplemento de vitamina C porque aumenta a absorção intestinal de ferro e o ácido ascórbico reduzido libera ferro catalítico dos estoques.²²² Antes de se pensar em tratamento com antioxidantes, deve-se primeiramente remover o ferro, agente gerador de radicais. O doente é aconselhado a consumir frutas e verduras para que aumente a oferta de anti- radicais.

3.13.4. Não-indução da 5-aminolevulínico sintetase

O excesso de ALA acelera o ritmo de inativação da UROD na uroporfiria experimental;¹¹ o seu excesso pode ser um fator patogênico adicional na PCT. Este mecanismo ainda não está bem aceito na PCT. O efeito acelerador da ALA é menos visível na PCT do que nas porfirias agudas, que sofrem indução da ALA sintetase. A hipótese de que a PCT pertence às porfirias que sofrem indução, ganha apoio com a observação de que a cimetidina antagonista do receptor H₂, que inibe a ALA sintetase, tem um efeito benéfico na PCT.²²³

3.13.5. Interferon-alfa

A administração de interferon-alfa (IFN- α) a doentes com PCT associada à HCV pode produzir uma melhora das lesões cutâneas e dos marcadores bioquímicos da porfíria.^{224,225} A diminuição das porfirinas pode ocorrer sem mudanças na carga viral da hepatite C.²²⁶ O mecanismo de ação do IFN- α no metabolismo das porfirinas não foi esclarecido, talvez porque há uma diminuição da siderose hepática²²⁴ ou porque o efeito imunomodulador do IFN- α diminui a resposta inflamatória ao HCV e esta inflamação seria a responsável pela inibição da UROD na PCT.²²⁶ A siderose hepática reduz a efetividade do tratamento com interferon²²⁷ e agrava a lesão hepática na hepatite C, portanto flebotomia é preferível nestes doentes.¹¹⁸

3.13.6. Eritropoietina recombinante humana no renal crônico

As opções de tratamento para doentes com a “verdadeira” PCT e IRC são limitadas. As porfirinas apresentam alta afinidade pelas proteínas plasmáticas e portanto não são dializáveis. A cloroquina não pode ser utilizada porque os complexos que ela forma com a porfirina não são filtrados pela hemodiálise e a presença de anemia secundária à IRC exclui a flebotomia. Na “verdadeira” PCT é possível melhorar a condição da pele abordando o principal fator patogênico, isto é, a sobrecarga de ferro hepático. Com a condição de que a hemosiderose está presente, como é sugerida pelo aumento da concentração de ferritina sérica na ausência da alteração hepática, o excesso de ferro pode ser removido do fígado e ligar-se à hemoglobina pela administração de eritropoietina recombinante humana no doente anêmico.^{228,229,230}

Ocasionalmente o doente não responde ao tratamento com eritropoietina, por exemplo nos casos de hiperparatireoidismo,²³¹ pielonefrite crônica¹⁹⁶ e de condição inflamatória aguda ou crônica.²³² Estes casos podem ser tratados com flebotomias de pequeno volume,²³¹ preferencialmente combinadas com a eritropoietina.^{196,231,233} Doentes que não respondem a este tratamento podem ter uma melhora do quadro pelo transplante renal.²³⁴

3.13.7. Monitoramento do tratamento²³⁵

Em qualquer do tratamento de PCT, é necessário um acompanhamento por um longo período de todos os doentes, para prevenir

as recidivas (dosando a excreção de porfirinas urinárias) e supervisionar a doença hepática coexistente. A excreção das porfirinas urinárias reflete claramente o conteúdo de porfirina hepática. O monitoramento do tratamento pela análise das porfirinas urinárias é altamente confiável; a porfirinúria antecede a manifestação dermatológica, permitindo a introdução precoce de medidas preventivas e terapêuticas. Recomenda-se a análise das porfirinas urinárias a cada 3 meses para reconhecer a reativação da porfiria antes do surgimento de sintomas cutâneos, especialmente em doentes com a forma geneticamente predisposta (tipo II).²³⁵

4. MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDO

O enfoque foi retrospectivo e prospectivo, longitudinal e descritivo. Baseado em informações prospectivas obtidas de forma longitudinal, os doentes responderam, após assinatura do consentimento livre e esclarecido (**Anexo A**), a questões relacionadas ao objeto da pesquisa e tiveram material coletado como descrito no item a seguir. Após tratamento padrão convencional foram novamente questionados e tiveram material coletado. As informações foram analisadas através de estatísticas descritivas e foram aplicadas medidas para a análise da incidência de alguns fatores na população de estudo. Para a análise descritiva dos resultados foi usada a planilha Excel[®] (Microsoft[®]).

4.2. SELEÇÃO DOS DOENTES

Vinte e oito doentes com PCT, com idade variando entre 16 e 66 anos, do Ambulatório de Fotobiologia do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, foram selecionados para este estudo. A seleção incluiu os doentes já em tratamento e os casos novos no período de dois anos e meio (maio de 2003 até outubro de 2005).

4.2.1. Diagnóstico e critérios de remissão clínica e bioquímica

O diagnóstico foi baseado nas manifestações clínicas, no exame de “*screening*” com a lâmpada de Wood (positivo na urina e fezes e negativo no

sangue), no aumento da concentração de uroporfirina na urina de 24 horas (com a relação URO:COPRO $\geq$ 3:1), na histopatologia e na imunofluorescência direta (IFD). Todos foram tratados com cloroquina com a exceção de um doente que foi tratado com flebotomia. O desaparecimento das bolhas e a melhora da fragilidade cutânea foram os critérios usados para a remissão clínica e a redução das porfirinas totais na urina de 24 horas para parâmetros normais (mulheres $< 159 \mu\text{g}$ e homens $< 199 \mu\text{g}$) foi considerada remissão bioquímica. Devemos ressaltar que a avaliação incluiu ingestão de álcool, compostos estrogênicos ou suplemento de ferro, exposição aos hidrocarbonetos clorados, antecedentes de hepatite ou HIV e manifestações clínicas semelhantes na família.

4.2.2. Exames laboratoriais

Os exames laboratoriais realizados foram: hemograma completo, enzimas hepáticas [alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), γ -glutamiril transpeptidase (GGT)], eletroforese de proteínas, ferro sérico, ferritina, fosfatase alcalina sérica, bilirrubina sérica, desidrogenase láctica (DHL) e fator antinúcleo (FAN). Os doentes com glicemia de jejum normal foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (GTT) oral. O doente foi considerado diabético se a glicemia de jejum estivesse acima de 110 mg/ml ou se a glicemia após 120 minutos atingisse níveis ≥ 200 mg/ml. Sorologias para a hepatite B e C e para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) também foram realizadas. Exames de “screening”¹⁸⁰ com a lâmpada de Wood (**Anexo C**) foram utilizados para

detectar a presença de porfirinas na urina, fezes e eritrócitos (Métodos de Rimington e de Rimington-Doyle). As porfirinas urinárias foram quantificadas pelo método HPLC (*“High-Performance” Liquid-Chromatographic*) nas amostras de urina de 24 horas. Para acompanhamento do doente utilizou-se um protocolo exposto no **Anexo D**.

4.3. BIÓPSIAS DE PELE

A biópsia foi realizada com *punch*. Em 23 doentes (**Fase A**), a primeira biópsia de pele foi obtida de pele lesada, independentemente de ser bolha ou não e da sua localização (dorso da mão, quirodátilo, face e antebraço). Em 7 doentes (**Fase B**) a biópsia foi obtida de pele clinicamente normal do dorso da mão (pele exposta) durante o tratamento com cloroquina, porém sem remissão bioquímica. Em 8 doentes (**Fase C**) a biópsia foi realizada na pele clinicamente normal do dorso da mão, quando em remissão clínica e bioquímica. A biópsia da pele foi dividida em duas partes: metade era enviada para o processamento histológico de rotina e a outra metade para realizar a imunofluorescência direta. Em 9 doentes com PCT ativa foi realizada uma biópsia, independente das demais, da região perilesional à bolha para o imunomapeamento antigênico da JDE.

4.3.1. Histopatologia

Para o exame histopatológico os fragmentos de pele foram fixados em formol a 10%, embebidos em parafina e submetidos à técnica histológica de

rotina com coloração pela hematoxilina-eosina, *periodic acid-Schiff* (PAS) e coloração de Perls para identificar hemossiderina.

4.3.2. Imunofluorescência direta (IFD)

Para a imunofluorescência direta o fragmento de pele foi transportado em gaze umedecida com solução fisiológica a 0,9% ao Laboratório de Imunopatologia Cutânea do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para a criopreservação imediata. O fragmento de pele foi criopreservado num meio de inclusão para espécimes (*tissue freezing medium* marca Leica) num envelope de alumínio, e estocado no *freezer* a -20°C até o momento da criomicrotomia.

Foi realizada a criosecção em criostato a uma temperatura de -20°C e foram depositados três cortes, de 4 micra de espessura, sobre as lâminas albuminizadas.

As lâminas foram colocadas em câmara úmida, à temperatura ambiente e, sobre os cortes, foram adicionados os conjugados (anti-imunoglobulinas humanas produzidas em animais imunizados e marcados com isotiocianato de fluoresceína). Os conjugados foram diluídos em TBS pH 7,5 (*trizma buffer saline* - tampão acetato de cálcio) contendo 3 mg% de corante Azul de Evans (marca Interlab). Foram utilizados anti-IgA humana, marca SIGMA (diluição de 1:20); anti-IgM humana, marca SIGMA (diluição de 1:20); anti-IgG humana, marca SIGMA (diluição de 1:130) e anti-C3 humano, marca DAKO (diluição 1:40). Para cada lâmina, utilizou-se um conjugado.

Após um período de trinta minutos de incubação, as lâminas foram lavadas em TBS pH 7,5 por duas vezes durante dez minutos cada. Para a montagem das lâminas, utilizou-se glicerina tamponada (pH 9 / 0,5M) e lamínula de vidro.

A leitura foi realizada em microscópio de epiluminescência HBO 50w (filtro CB12) marca Zeiss, com ocular de 10x e objetivas de 16x e 40x.

4.3.3. Técnica de Imunomapeamento

A biópsia da pele obtida de uma área perilesional foi transportada em gaze umedecida com solução fisiológica a 0,9% ao Laboratório de Imunopatologia Cutânea do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para criopreservação imediata.

No laboratório, o fragmento de pele foi criopreservado num meio de inclusão para espécimes (*tissue freezing medium* marca Leica) em um envelope de alumínio e estocado em *freezer* a -20°C até o momento da criomicrotomia.

A criosecção em criostato, à temperatura de -20°C, foi realizada e quatro cortes, de quatro micra de espessura, foram depositados sobre as lâminas albuminizadas.

Sobre cada corte foi colocado um dos anticorpos monoclonais (produzidos em camundongo), a saber, antilaminina humana (clone LAM-89, diluição de 1:20), anticolágeno IV humano (clone col-94, diluição de 1:25) e anticolágeno VII humano (clone LH7-2, diluição 1:25) todos da marca Sigma Aldrich, adquiridos comercialmente. Como fonte de anticorpos contra o

antígeno do Penfigóide Bolhoso, utilizou-se o soro de um doente com essa patologia previamente diagnosticada (diluição 1:20). As diluições foram realizadas em TBS pH 7,5 (*trizma buffer saline* – tampão acetato de cálcio).

A função destes anticorpos é marcar as diferentes camadas da zona da membrana basal (ZMB); assim temos o antígeno do penfigóide bolhoso marcando a parte superior da lâmina lúcida (região dos hemidesmosomos) e a laminina marcando a parte inferior; o colágeno IV marcando a lâmina densa e o colágeno VII marcando a sublâmina densa (fibrilas de ancoragem).

Cada um dos anticorpos diluídos foi depositado num corte e incubados por um período de 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente. Findo este prazo as lâminas foram lavadas em TBS por dois períodos de 10 minutos cada.

A seguir, para se revelar a reação, foi utilizado o anticorpo anti-IgG conjugado com isotiocianato de fluoresceína. Para a ligação aos anticorpos monoclonais utilizou-se uma IgG anticamundongo (diluição 1:30) produzida em coelho [*mouse immunoglobulins/FITC-rabbit F (ab')₂*, marca Dako], e para a ligação ao anticorpo do antígeno do penfigóide utilizou-se uma IgG anti-humana (diluição 1:130) também produzida em coelhos (*anti-Human IgG-Whole molecule-FITC conjugate*, marca Sigma Aldrich). As diluições foram realizadas em tampão TBS contendo 3mg% do corante azul-de-evans (marca Inlab). Após 30 minutos de incubação (em câmara úmida e temperatura ambiente) as lâminas foram novamente lavadas em TBS por dois períodos de 10 minutos cada. Depois de levemente secas, as lâminas

foram montadas com glicerina tamponada (pH 9,0 / 0,5 M) e lamínula de vidro.

A leitura das lâminas foi feita em microscópio de epiluminescência (marca Zeiss, modelo Axiolab) com ocular de 10x e objetivas de 16 e 40x.

4.4. COMISSÃO DE ÉTICA

O projeto foi submetido à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e aprovado em 26.08.04. (**Anexo B**)

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

O grupo de doentes com PCT era constituído por sete mulheres (25,0%) e 21 homens (75,0%) com a idade de início da doença variando entre um e 58 anos (média de 30,3 anos / mediana de 29,0 anos) para mulheres e entre um e 66 anos (média de 44,5 anos / mediana de 49 anos) para homens (**Quadro 1**). As manifestações clínicas estão relacionadas na **Tabela 3**. Com exceção de dois doentes, todos apresentavam lesões bolhosas no dorso das mãos (**Figura 3**). Lesões bolhosas nos braços, pernas, dorso dos pés e face foram menos frequentes. Aumento da fragilidade cutânea esteve sempre presente, ou seja, a pele se traumatizava com facilidade e a cicatrização das lesões era mais demorada. Em um doente (Nº. 4) o aumento da fragilidade cutânea era sua única queixa; era o irmão de um doente em tratamento de PCT. A hipertricose facial (**Figura 4**) ocorreu em 23 doentes (82,1%) e era mais visível em mulheres. O pêlo tipo lanugem acometia a região lateral da fronte, região temporal e a região malar superior. A hiperpigmentação estava presente em 19 doentes (67,9%) e se manifestava como uma pigmentação acastanhada difusa na pele exposta ao sol, como face, pescoço e área extensora dos membros superiores. Alterações esclerodermiformes foram observadas somente em um doente; apresentava placas hipopigmentadas endurecidas à palpação na região peitoral. Dois doentes (7,1%) tinham onicólise.

Quadro 1 - Relação de dados dos doentes: Número do doente, características clínicas, fatores desencadeantes, doenças associadas, alterações laboratoriais e evolução após o tratamento

Nº.	NOME	IDADE NA QUAL FOI FEITA O DIAGNÓSTICO (anos)	SEXO	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS					
				VESÍCULAS / BOLHAS	LOCALIZAÇÃO DAS LESÕES	FRAGILIDADE CUTÂNEA	HIPERTRICOSE	HIPERPIGMENTAÇÃO	PLACAS ESCLERODERMIFORMES
1	ARL	36	M	+	mãos, face, pés, onicólise	+	-	-	-
2	ACA	52	M	+	mãos. Pés	+	+	+	+
3	CIS	46	M	+	mãos, antebraços	+	-	+	-
4	CG	66	M	-	mãos	+	-	-	-
5	EPO	25	F	+	mãos, pés	+	+	-	-
6	EMR	47	F	+	mãos, antebraços, pés	+	+	+	-
7	EJA	17	M	+	mãos, antebraços, pés	+	+	-	-
8	FSR	22	F	+	mãos, face	+	+	+	-
9	FJA	49	M	+	mãos, antebraços, orelha	+	+	+	-
10	JAC	28	M	+	mãos, antebraços	+	+	+	-
11	JAA	16	F	+	mãos, antebraços, pés, face	+	+	+	-
12	JCG	51	M	-	mãos	+	-	+	-
13	JGA	61	M	+	mãos, face, antebraços, pernas	+	+	+	-
14	JCS	50	M	+	mãos, face, antebraços, pernas	+	+	+	-
15	LAM	47	M	+	mãos	+	+	+	-
16	LMGL	58	F	+	mãos, antebraços, pernas	+	+	+	-
17	MCB	31	M	+	mãos, pés	+	+	+	-
18	MCMX	30	F	+	mãos, face	+	+	+	-
19	MDP	48	M	+	mãos	+	+	-	-
20	NG	49	M	+	mãos, antebraços, pés	+	+	-	-
21	OCR	31	M	+	mãos, face	+	-	+	-
22	PCF	50	M	+	mãos, antebraços	+	+	-	-
23	PRF	38	M	+	mãos, face	+	+	+	-
24	PRJ	64	M	+	mãos	+	+	-	-
25	RS	49	M	+	face, c.cabel, mãos, pés	+	+	+	-
26	RNS	34	M	+	mãos, antebraços, pés	+	+	-	-
27	VXR	56	M	+	mãos, face, pés, onicólise	+	+	+	-
28	VAS	29	F	+	mãos	+	+	+	-

NOTA: (+) presente e (-) ausente

continua -->

Quadro 1 (Continuação) - Relação de dados dos doentes: Número do doente, características clínicas, fatores desencadeantes, doenças associadas, alterações laboratoriais e evolução após o tratamento

FATORES DESENCADENTES / DOENÇAS ASSOCIADAS								
Nº.	ÁLCOOL	ESTRÓGENOS	HISTÓRIA FAMILIAR	HEPATITE C	HEPATITE B	HIV	DIABETES MELLITUS (DM) / TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE (GTT)	OUTRAS DOENÇAS ASSOCIADAS
1	+	-	-	+	-	-	-	-
2	+	-	-	+	-	-	-	-
3	+	-	-	-	-	-	-	-
4	+	-	+	-	+	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	parou 10a antes	-	+	-	-	-	-
7	-	-	+	-	-	-	-	-
8	-	+	-	-	-	-	-	-
9	+	-	-	+	+	-	-	-
10	+	-	-	+	+	-	-	-
11	-	-	+	-	-	-	-	-
12	+	-	-	+	+	-	DM antes da PCT	-
13	+	-	-	+	-	-	DM antes da PCT	Insuficiência renal crônica
14	+	-	-	+	+	-	-	-
15	+	-	-	+	+	-	-	-
16	-	+	-	-	-	-	DM antes da PCT	Mieloma múltiplo
17	+	-	-	-	-	+	-	-
18	-	+	-	-	+	-	-	-
19	+	-	-	+	-	-	Apresentou GTT alterado	Hepatocarcinoma
20	+	-	+	-	+	-	-	Mielofibrose
21	+	-	-	-	-	+	-	-
22	+	-	-	+	+	-	-	-
23	+	-	-	+	-	-	-	-
24	+	-	-	+	-	-	-	-
25	+	-	-	+	+	-	-	-
26	+	-	-	+	-	-	-	-
27	+	-	-	+	+	-	DM antes da PCT	-
28	-	+	+	-	-	-	-	-

NOTA: (+) presente e (-) ausente

continua -->

Quadro 1 (Continuação) - Relação de dados dos doentes: Número do doente, características clínicas, fatores desencadeantes, doenças associadas, alterações laboratoriais e evolução após o tratamento

ALTERAÇÕES LABORATORIAIS INICIAIS								
Nº.	FERRO SÉRICO (50-150µg/dL) / FERRITINA (25-300µg/dL ♂ 10-125µg/L I♀)	TGO/AST SÉRICO (10-34 U/L ♂ / 10-30 U/L ♀)	TGP/ALT SÉRICO (10-44 U/L ♂ / 10-36 U/L ♀)	GGT SÉRICO (11-50 U/L ♂ / 7-32 U/L ♀)	FOSFATASE ALCALINA (45-122 U/L)	BILIRRUBINA SÉRICA TOTAL (<1,0 mg/dL)	HDL SÉRICA (240-480 U/L)	FATOR ANTINÚCLEO (FAN)
1	?	76	113	107	79	0,6	240	negativo
2	152 / 211	74	116	321	89	0,5	353	negativo
3	?	57	103	111	101	?	249	negativo
4	137 / 363	29	36	38	58	0,6	295	negativo
5	70 / 18	32	21	15	127 (nl<104)	0,3	528	negativo
6	139 / 181	97	117	151	113	0,8	392	negativo
7	186 / 37	?	24	18	?	1	236	?
8	87 / 63	37	56	17	55	2,8 (BD=2,2)	205	negativo
9	150 / 643	63	103	403	101	0,9	277	negativo
10	133 / 502	125	235	114	565 (nl<200)	0,6	532 (nl<432)	negativo
11	128 / 35	25	34	28	137	0,7	308	?
12	?	31	53	85	83	0,6	247	negativo
13	26 / 24	26	26	62	115	0,5	465	?
14	?	43	48	334	82	0,5	272	1/40 pont La/Ro+
15	280 / 504	89	112	227	64	1,1	347	negativo
16	192 / ?	69	116	72	116 (nl<104)	0,8	290	negativo
17	?	34	29	131	?	?	422	negativo
18	180 / 638	69	130	148	72	1	317	1/40 pont La/Ro+
19	117 / 520	32	28	74	132	1,6 (BI=1)	415	negativo
20	?	?	?	?	?	?	?	negativo
21	106 / 402	28	20	119	147	0,4	306	negativo
22	312 / ?	206	315	163	89	0,9	87	negativo
23	?	51	69	157	97	0,7	288	negativo
24	?	108	100	108	88	1,8 (BI=1,1)	385	?
25	146 / 623	68	83	206	103	0,6	406	1/40 nucleolar
26	224 / 589	70	103	278	74	2 (BI=1,5)	410	negativo
27	161 / 468	106	139	384	131	0,8	337	negativo
28	155 / 232	36	61	55	75	0,7	362	negativo

NOTA: 1. Cor **vermelha** = nível aumentado, cor **preta** = nível normal; 2. ? = desconhecido

continua -->

Quadro 1 (Continuação) - Relação de dados dos doentes: Número do doente, características clínicas, fatores desencadeantes, doenças associadas, alterações laboratoriais e evolução após o tratamento

EVOLUÇÃO						
Nº.	DOSE CLOROQUINA 250 a 500mg	TEMPO DE TRATAMENTO ATÉ REMISSÃO CLÍNICA	TEMPO DE TRATAMENTO ATÉ REMISSÃO BIOQUÍMICA	TGO/TGP/GGT APÓS O PERÍODO DE EVOLUÇÃO	FERRO (50-150µg/dL) E FERRITINA (25-300µg/dL ♂ / 10-125µg/dL ♀) APÓS PERÍODO DE EVOLUÇÃO	PERÍODO DE EVOLUÇÃO APÓS O QUAL FORAM FEITOS OS EXAMES
1	250 a 750mg	sim / tempo ?	38 meses	31/40/26	112/158	3 anos 6 meses
2	6 flebo e 500mg	3 meses (recidivou depois)	12 meses (teve recidiva depois)	28/37/116	122/134	1ano 6 meses
3	500mg	sim / tempo ?	sim / tempo ? (teve várias recidivas)	26/34/29	106/308	7 anos
4	500mg	6 meses	11 meses	31/26/21	153/684	1ano 10 meses
5	500mg	2 meses	10 meses (recidiva ao suspender cloroquina)	32/21/15	40/27	23 anos
6	500mg	7 meses	10 meses	74/85/130	142/306,3	7 meses (perdeu seguimento)
7	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	20/22/12	131/45	5 meses
8	250 a 500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	perdeu seguimento
9	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
10	500mg	sim / tempo ?	não atingiu remissão	46/75/98	204/523	20 anos
11	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
12	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
13	500mg	14 meses	20 meses	14/22/18	102/165	1 ano 9 meses
14	500mg	21 meses	não atinge remissão (álcool)	53/42/366	83/236	3 anos
15	500mg	4 meses	5 meses	65/78/217	165/647	1 ano
16	500mg	7 meses	12 meses	16/21/9	139/494 (nl<125)	1 ano 6 meses
17	250 a 500mg	sim / tempo ?	32 meses (recidiva ao suspender cloroquina)	25/18/26	58/89	4 anos
18	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
19	250 a 500mg	6 meses	16 meses	29/31/108	77/272	1 ano 9 meses
20	500mg	2 meses	sim / tempo ? (recidiva ao suspender cloroquina)	29/19/81	99/251	11 anos
21	250 a 500mg	12 meses	sim / tempo ? (recidiva ao suspender cloroquina)	28/20/119	102/199	7 anos
22	500mg	15 meses (após tratar HCV)	não atingiu remissão	22/16/35	85/120	1 ano 9 m (perdeu seguimento)
23	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
24	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
25	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
26	500mg	sim / tempo ?	não atingiu remissão (perdeu seguimento)	49/90/220	224/589	5 anos (perdeu seguimento)
27	500mg	não atingiu remissão	não atingiu remissão	—	—	início tratamento
28	500mg	10 meses	não atingiu remissão	18/15/31	77/127	10 meses

NOTA: cor **vermelha** = nível aumentado; cor **preta** = nível normal

conclusão

Tabela 3 - Manifestações cutâneas dos 28 doentes com porfiria cutânea tardia

MANIFESTAÇÕES CUTÂNEAS	Nº. DE DOENTES	% DOENTES
Fragilidade cutânea	28	100,0
Vesículas e bolhas	26	92,9
Hipertricose	23	82,1
Hiperpigmentação	19	67,9
Alterações esclerodermóides	1	3,6

Figura 3 - Porfiria cutânea tardia - Bolhas e lesões ulceradas encimadas por crostas no dorso das mãos

Figura 4 – Porfiria cutânea tardia – Doente feminina com hipertricose acometendo a região malar superior e da região temporal até a região frontal

5.2. DOENÇAS ASSOCIADAS / FATORES DESENCADEANTES

A ingestão de álcool foi o fator desencadeante mais importante, ocorrendo em 71,4% (20 de 28 doentes), sendo todos homens. Na maioria dos casos houve mais de um fator de risco: a ingestão de álcool foi identificada em combinação com o vírus da hepatite C (HCV) em 53,6% (15 de 28) e em combinação com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) em 7,1% (dois de 28). Somente dois doentes apresentaram um único fator desencadeante, são eles os doentes N°. 3, que apresentava ingestão de álcool, e o doente N°. 6, que apresentava o HCV. Devemos ressaltar que o

doente N°. 6 era do sexo feminino e havia tomado estrógenos como anticoncepcional oral (ACO) por dezoito anos sem sintomas de PCT e havia interrompido o ACO dez anos antes de manifestar os sintomas de PCT. Quatro doentes femininas tinham a ingestão de estrógenos como fator desencadeante, sendo que uma delas (N°. 28) tinha história familiar (pai com PCT desencadeada por álcool) e outra (N°. 18) tinha hepatite B associada. Os dois doentes (N°. 17 e 21) com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) tiveram o diagnóstico feito simultaneamente ao de PCT, eles eram negativos para o vírus da hepatite B e C e tinham história de ingestão de álcool. A sorologia para hepatite B era positiva em 39,3% (11 de 28 doentes), mas nenhum apresentava o antígeno viral positivo (HBsAg); oito destes doentes também apresentavam HCV associado. *Diabetes mellitus* ocorreu em 17,9% (cinco de 28 doentes); quatro já apresentavam o diagnóstico de diabetes quando manifestaram a PCT e um teve o diagnóstico feito pelo teste de tolerância à glicose (GTT). Um doente (3,6%) com insuficiência renal crônica (IRC), infecção pelo HCV e história de ingestão de álcool, desenvolveu a PCT 'verdadeira' quando iniciou a hemodiálise. Doenças neoplásicas foram observadas em dois doentes (7,1%), sendo elas o mieloma múltiplo, e o carcinoma hepatocelular (CHC). O doente com mieloma múltiplo (N°. 16) era do sexo feminino e teve a PCT desencadeada por estrógenos para reposição hormonal; apresentava *diabetes mellitus* associada e o quadro de mieloma múltiplo controlado após o transplante de medula e com a talidomida na dosagem de 100 mg por dia. O doente com carcinoma hepatocelular (CHC) (N°. 19) era masculino e tinha 64 anos. Ele

desenvolveu CHC após 16 anos de PCT e apresentava além do etilismo crônico no passado, hepatite C e *diabetes mellitus*. Um doente (Nº. 20) (3,6%) apresentava mielofibrose. Ele era do sexo masculino e apresentava história de ingestão de álcool e antecedentes familiares de PCT (irmão). Os fatores desencadeantes e as doenças associadas estão relacionados na **Tabela 4** de forma independente, ao passo que os fatores desencadeantes associados em cada doente estão relacionados na **Tabela 5** e no **Quadro 1**.

Tabela 4 - Fatores desencadeantes e doenças associadas nos 28 doentes com porfiria cutânea tardia

FATORES DESENCADEANTES E DOENÇAS ASSOCIADAS	Nº. DE DOENTES	% DOENTES
INGESTÃO DE ÁLCOOL	20	71,4
HEPATITE C	16	57,1
INGESTÃO DE ÁLCOOL E HEPATITE C	15	53,6
HEPATITE B	11	39,3
HISTÓRIA FAMILIAR	5	17,9
<i>DIABETES MELLITUS</i>	5	17,9
ESTRÓGENOS	4	14,3
DOENÇAS NEOPLÁSICAS	2	7,1
HIV	2	7,1
MIELOFIBROSE	1	3,6
INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA	1	3,6

Tabela 5 - Associação dos fatores desencadeantes nos 28 doentes com porfiria cutânea tardia

FATORES DESENCADEANTES	Nº. DE DOENTES	% DOENTES
HEPATITE C + HEPATITE B + INGESTÃO DE ÁLCOOL	8	28,6
HEPATITE C + INGESTÃO DE ÁLCOOL	7	25
HIV + INGESTÃO DE ÁLCOOL	2	7,1
HEPATITE B + INGESTÃO DE ÁLCOOL + ANTECEDENTES FAMILIARES	2	7,1
ESTRÓGENOS	2	7,1
SOMENTE ANTECEDENTES FAMILIARES	2	7,1
ESTRÓGENOS + HEPATITE B	1	3,6
ESTRÓGENOS + ANTECEDENTES FAMILIARES	1	3,6
HEPATITE C	1	3,6
INGESTÃO DE ÁLCOOL	1	3,6
SEM FATORES DESENCADEANTES ASSOCIADOS	1	3,6
TOTAL DE DOENTES	28	100

5.3. CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS

Os exames laboratoriais realizados antes do tratamento e a percentagem dos resultados alterados estão resumidos na **Tabela 6**. Os níveis de ferritina estavam elevados em 66,7% dos doentes testados (12 de 18) e os níveis de ferro sérico estavam elevados em 35% dos doentes (sete de 20). Após um período variável de tratamento com cloroquina observou-se uma diminuição dos níveis de ferro; a ferritina estava elevada em 36,8%

(sete de 19) e os níveis do ferro sérico estavam elevados em 15,8% dos doentes testados (três de 19). Considerando somente os doentes com HCV observou-se aumento do número de doentes que apresentavam alteração dos níveis de ferritina; a ferritina estava elevada em 80% dos doentes (oito de 10) antes do tratamento e em 40% dos doentes (quatro de 10) após o tratamento.

A maioria dos doentes apresentava aumento das enzimas hepáticas, ou seja, da transaminase glutâmica oxaloacética/aspartato aminotransferase (TGO/AST) sérica (65,4%), da transaminase glutâmica pirúvica/alanina aminotransferase (TGP/ALT) sérica (70,4%) e da gama-glutamiril transpeptidase (GGT) sérica (81,5%). A elevação das enzimas hepáticas era mais freqüente nos doentes com etilismo e/ou a hepatite C como fatores desencadeantes. A GGT estava elevada em todos os doentes que tinham o álcool como fator desencadeante. Os doentes que apresentavam o estrógeno como fator desencadeante, demonstraram elevação discreta das enzimas hepáticas.

Após o tratamento as enzimas hepáticas séricas, de 19 doentes, estavam elevadas para TGO/AST em 26,3%, para TGP/ALT em 21,0% e para GGT em 47,4% dos doentes. Após o tratamento 52,6% dos doentes (dez de 19) apresentavam todas as enzimas hepáticas normais, sendo que antes do tratamento sete destes apresentavam enzimas elevadas e três apresentavam níveis normais. Quatro dos 19 doentes (21%) persistiram com todas as enzimas elevadas, um doente (5,3%) com duas enzimas elevadas e quatro doentes (21%) com apenas a GGT elevada. A elevação persistente

das enzimas hepáticas foi mais freqüente nos doentes que apresentavam hepatite C e álcool como fatores desencadeantes. Oito doentes estavam no início do tratamento e um doente perdeu o seguimento.

O teste de tolerância à glicose (GTT) estava alterado no doente N°. 19, ou seja, em 6,7% dos doentes testados (um de 15). Este doente apresentava a glicemia de jejum no limite superior do normal. O GTT não foi realizado em quatro doentes que já apresentavam *diabetes mellitus* antes do diagnóstico de PCT.

O fator antinúcleo (FAN) foi positivo em 12,5% dos doentes testados (três de 24), todos de título baixo (1/40), sendo que dois doentes (N°. 14 e 18) apresentavam padrão pontilhado e um doente (N°. 25) apresentava padrão nucleolar.

Tabela 6 – Porfiria cutânea tardia - Resumo dos exames laboratoriais alterados pré-tratamento

EXAME LABORATORIAL	Nº. DOENTES TESTADOS	% DOENTES COM RESULTADOS ALTERADOS
GGT SÉRICO ↑	27	81,5
TGP/ALT SÉRICO ↑	27	70,4
TGO/AST SÉRICO ↑	26	65,4
FERRITINA ↑	18	66,7
FERRO SÉRICO ↑	20	35,0
FOSFATASE ALCALINA SÉRICA ↑	25	24,0
BILIRRUBINA SÉRICA ↑	25	16,0
GLICEMIA DE JEJUM ↑	28	14,3
FATOR ANTINÚCLEO (FAN)	24	12,5
HDL SÉRICA ↑	27	7,4
TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE	15	6,7

NOTA: TGO/AST = transaminase glutâmica oxaloacética /aspartato aminotransferase; TGP/ALT = transaminase glutâmica pirúvica /alanina Aminotransferase; GGT = gama glutamiril transpeptidase; HDL = deshidrogenase láctica.

5.4. MICROSCOPIA ÓPTICA

A microscopia óptica com a coloração de hematoxilina-eosina, antes do tratamento (Fase A), revelou bolha subepidérmica em 86,9% (20 de 23 doentes), sendo que 47,8% (11 de 23) apresentavam papilas dérmicas armadas estendendo-se irregularmente a partir da base da bolha para dentro da cavidade com aspecto de festonamento (**Figura 5**). Infiltrado inflamatório linfomononuclear perivascular foi encontrado ocasionalmente. Nenhuma

fibrose foi observada, exceto na lesão esclerodermóide de um doente onde a derme apresentava fibras de colágeno espessadas e dispostas de uma forma mais compacta. Nas biópsias dos doentes com remissão clínica (Fase B e C) observou-se epiderme normal ou por algumas vezes hiperqueratose, hipergranulose, acantose epidérmica, além de elastose solar.

Figura 5 – Porfiria cutânea tardia - Histopatologia com a coloração hematoxilina-eosina mostrando uma bolha subepidérmica com papilas dérmicas armadas e sem infiltrado inflamatório

Na coloração com ácido periódico-Schiff (PAS) da pele lesada de 95,6% dos doentes (22 de 23) (Fase A), os vasos da derme superior apresentavam espessamento homogêneo da parede dos vasos por material

hialino PAS-positivo e diastase-resistente (**Figura 6**). Este espessamento da parede vascular manteve-se em 92,9% dos doentes (13 de 14) com a pele clinicamente normal (Fase B e C); em um doente da fase B (Nº. 10) não foi possível realizar a coloração com PAS. As alterações vasculares eram mais acentuadas na derme papilar e a quantidade de material hialino em torno dos vasos variava nas diferentes biópsias.

Tabela 7 - Intensidade do espessamento da parede vascular por material hialino PAS-positivo diastase-resistente, antes do tratamento (porfiria cutânea tardia ativa) e depois da remissão bioquímica, além do tempo de tratamento após o qual foi feita a segunda biópsia

Nº. DOENTE	BIÓPSIA ANTES DO TRATAMENTO	BIÓPSIA COM REMISSÃO BIOQUÍMICA	TEMPO DE TRATAMENTO
4	Moderado	Leve	18 meses
13	Intenso	Leve	28 meses
16	Intenso	Leve	16 meses
20	Intenso	Leve	10 anos
21	Moderado a leve	Sem espessamento	6 anos

NOTA: Espessamento do vaso: intenso, moderado ou leve

A comparação do espessamento da parede vascular, pelo material hialino PAS-positivo diastase-resistente, da biópsia antes do tratamento e da remissão bioquímica, só foi possível em cinco doentes, pois três doentes com remissão bioquímica não apresentavam biópsia antes do tratamento. Os cinco doentes apresentavam espessamento do vaso ao PAS antes do tratamento e, na remissão bioquímica, quatro destes apresentavam

espessamento mais leve e um não apresentava espessamento da parede (**Tabela 7**). Desconhecemos o período em que dois doentes (Nº. 20 e Nº. 21) já se apresentavam em remissão bioquímica quando realizaram a segunda biópsia (após 10 e seis anos, respectivamente); quanto aos outros três doentes, estes tiveram a segunda biópsia realizada logo que entraram em remissão bioquímica.

Todas as biópsias (Fase A, B e C) foram submetidas à coloração de Perls, mas não se identificou depósito de hemossiderina na derme.

Figura 6 – Porfíria cutânea tardia - Coloração de ácido periódico-Schiff revelando material hialino PAS-positivo diastase-resistente espessando a parede dos vasos dérmicos

5.5. IMUNOFLOURESCÊNCIA DIRETA

Na fase A, dos 23 doentes com porfiria ativa, quatro apresentaram a IFD negativa (**Quadro 2**) e 19 apresentaram imunofluorescência com depósitos de IgG e de complemento (C3) de forma característica no interior e na parede dos vasos (65,2% e 52,2%, respectivamente) e na junção dermo-epidérmica (47,8% e 39,1%, respectivamente) (**Tabela 8**). A fluorescência por depósito de IgM e IgA também foi encontrada na parede dos vasos (39,1%, para ambos) e na JDE (30,4% e 26,1%, respectivamente). A fluorescência nos vasos foi positiva para IgG em 15 doentes (65,2%), com fluorescência homogênea e de intensidade moderada em quatro (17,4%) e intensa em nove (39,1%). O depósito de C3 estava presente nos vasos de 12 destes doentes (52,2%), de intensidade moderada em quatro (17,4%) e intensa em seis (26,1%). O depósito era mais proeminente nos vasos papilares, mas os vasos da derme reticular também estavam envolvidos com frequência. A fluorescência na JDE era focal ou contínua e apresentava padrão granular ou homogêneo (**Figura 7**).

Na fase B o depósito de IgG na parede dos vasos ocorreu em 85,7% dos sete doentes testados, sendo que três (42,9%) eram de intensidade moderada e dois (28,6%) apresentavam fluorescência intensa. O depósito de C3 nos vasos estava presente somente em um caso (14,3%) mas com fluorescência discreta. Os depósitos de IgM e IgA estavam presentes na parede dos vasos (de 28,6% e 57,1%, respectivamente) e na JDE (em 49,2% e 14,3%, respectivamente).

Na fase C o depósito de IgG também ocorreu na parede dos vasos de 87,5% dos oito doentes testados, sendo que três doentes (37,5%) apresentavam fluorescência de intensidade moderada e quatro (50,0%) apresentavam fluorescência intensa. Nesta fase o depósito de C3 estava presente em 37,5% (três de oito) e a intensidade da fluorescência era discreta, moderada e intensa em cada um dos três casos (12,5% cada). Os depósitos de IgM e IgA estavam na parede dos vasos (de 12,5% e 50%, respectivamente) e na JDE (em 37,5% para ambos). A imunofluorescência foi negativa em um caso da fase C.

Os doentes pertencentes às fases B e C, excetuando um na fase B e dois na fase C, estavam recebendo 250-500 mg por semana de difosfato de cloroquina quando a biópsia foi realizada.

Considerando os doentes que apresentavam a IFD positiva, na fase A, 57,9% dos doentes (11 de 19) demonstravam a intensidade da fluorescência na parede dos vasos tão notável quanto à da JDE e 31,6% dos doentes (seis de 19) demonstravam a fluorescência mais intensa na parede dos vasos do que na JDE (**Quadro 2**). Quanto aos doentes com remissão clínica da fase B, 42,9% dos doentes (três de sete) demonstravam a intensidade da fluorescência na parede dos vasos tão notável quanto à da JDE, e 57,1% dos doentes (quatro de sete) demonstravam a fluorescência mais intensa na parede dos vasos do que na JDE. Os doentes com PCT inativa da fase C, 28,6% (dois de sete) demonstravam a intensidade da fluorescência dos vasos equivalente à da JDE, e 71,4% dos doentes (cinco

de sete) demonstravam fluorescência mais intensa na parede dos vasos do que na JDE (**Quadro 2**).

Quadro 2 - Estudo da imunofluorescência direta dos doentes – número, nome, idade, sexo, data do início dos sintomas, intensidade da fluorescência de cada anticorpo e da fração C3 do complemento (0,1,2, e 3) e sua localização (junção dermo-epidérmica e/ou parede vascular), período (em anos) após o diagnóstico no qual foi realizada a biópsia nas fases B e C e a dosagem das porfirinas urinárias quando a imunofluorescência direta foi realizada na fase C

IFD SEM TRATAMENTO (Fase A)												IFD / REMISSÃO CLÍNICA (Fase B)										IFD / REMISSÃO CLÍNICA E BIOQUÍMICA (Fase C)													
Nº.	IDADE¹	SEXO	DATA²	JDE				VASCULAR				Nº.	JDE				VASCULAR				Período após o diagnóstico (anos)	Nº.	JDE				VASCULAR				Nível de Porfirinas Totais (µg/24hs)	Período após o diagnóstic (anos)			
				IgG	IgM	IgA	C3	IgG	IgM	IgA	C3		IgG	IgM	IgA	C3	IgG	IgM	IgA	C3			IgG	IgM	IgA	C3	IgG	IgM	IgA	C3					
1	36	M	1998	0	0	0	0	3	3	3	0	1	0	1	0	0	0	0	0	5															
2	52	M	2002	0	0	0	0	3	0	0	3	2	2	0	2	0	2	0	2	0	3														
3	46	M	1999	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	2	0	0	2	2	0	0	4														
4	66	M	2003	3	0	0	3	3	0	0	3											4	2	0	2	0	2	0	2	0	199 clor (+)	2,5			
5	25	F	1981	–	–	–	–	–	–	–	–		–	–	–	–	–	–	–			5	2	0	2	2	3	0	3	3	121 clor (+)	22			
6	47	F	2001	3	3	0	3	3	3	0	3																								
7	1	M	1988	2	0	2	2	2	0	2	2																								
8	22	F	2003	0	1	1	1	1	1	1	1																								
9	47	M	2002	2	2	2	2	3	3	3	3																								
10	28	M	1979	1	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	2	2	2	0	24														
11	1	F	1990	0	0	0	0	3	0	0	0																								
12	51	M	2002	3	0	0	0	3	0	0	0																								
13	61	M	2002	3	3	3	3	3	3	3	3		–	–	–	–	–	–	–	–		13	3	1	1	1	3	1	1	1	45,9 clor (-)	2			
14	50	M	2001									14	0	0	0	0	1	0	1	1	2														

NOTA: (1). Intensidade da fluorescência: 0 = negativo, 1 = discreto, 2 = moderada e 3 = intensa. (2). clor (+) = doentes na vigência de cloroquina. (3). clor (-) = doentes sem cloroquina. (4). JDE = junção dermo-epidérmica. (5). Porfirinas totais na urina de 24 horas pelo método HPLC (parâmetros normais: mulheres < 159 µg/24hs e homens < 199 µg/24hs).

continua

Quadro 2 (Continuação) - Estudo da imunofluorescência direta dos doentes – número, nome, idade, sexo, data do início dos sintomas, intensidade da fluorescência de cada anticorpo e da fração C3 do complemento (0,1,2, e 3) e sua localização (junção dermo-epidérmica e/ou parede vascular), período (em anos) após o diagnóstico no qual foi realizada a biópsia nas fases B e C e a dosagem das porfirinas urinárias quando a imunofluorescência direta foi realizada na fase C

IFD SEM TRATAMENTO (Fase A)												IFD / REMISSÃO CLÍNICA (Fase B)								IFD / REMISSÃO CLÍNICA E BIOQUÍMICA (Fase C)												
Nº.	IDADE¹	SEXO	DATA²	JDE				VASCULAR				Nº.	JDE				VASCULAR				Período após o diagnóstico (anos)	Nº.	JDE				VASCULAR				Nível de Porphirinas Totais (µg/24hs)	Período após o diagnóstico (anos)
				IgG	IgM	IgA	C3	IgG	IgM	IgA	C3		IgG	IgM	IgA	C3	IgG	IgM	IgA	C3			IgG	IgM	IgA	C3						
(anos)			INÍCIO																													
15	47	M	2002	2	2	0	2	2	2	0	2																					
16	58	F	2003	0	2	0	0	2	2	0	0										16	0	2	0	0	3	0	0	0	<2,5 clor (+)	1,5	
17	31	M	1999																		17	0	0	0	0	2	0	2	2	103 clor (+)	4	
18	30	F	2004	0	0	0	0	0	0	0	0																					
19	48	M	1987																		19	0	3	0	0	3	0	0	0	114 clor (+)	16	
20	49	M	1990	0	0	0	0	0	0	0	0										20	0	0	0	0	2	0	0	0	104 clor (+)	13	
21	31	M	1996	0	0	0	2	0	0	0	2										21	0	0	0	0	0	0	0	0	72 clor (+)	7	
22	50	M	2001									22	0	1	0	1	3	0	3	0	2,5											
23	38	M	2002	3	0	3	0	3	0	3	0																					
24	64	M	2004	1	1	1	1	1	1	1	1																					
25	49	M	1991	0	0	0	0	2	2	2	2																					
26	34	M	1997	0	0	0	0	0	0	3	3	26	0	0	0	0	3	0	0	0	6											
27	56	M	2004	1	0	0	0	0	0	0	0																					
28	29	F	2003	0	0	0	0	0	0	0	0																					

Conclusão

NOTA: (1). Intensidade da fluorescência: 0 = negativo, 1 = discreto, 2 = moderada e 3 = intensa. (2). clor (+) = doentes na vigência de cloroquina. (3). clor (-) = doentes sem cloroquina. (4). JDE = junção dermo-epidérmica. (5). Porphirinas totais na urina de 24 horas pelo método HPLC (parâmetros normais: mulheres < 159 µg/24hs e homens < 199 µg/24hs).

A imunoglobulina, que predominou na parede dos vasos, foi a IgG em todas as fases, mas na JDE a IgG predominou somente na fase A.

Comparando-se a fase A (com doença ativa) com as fases B e C (que estão em remissão clínica) o número de casos com depósito de IgG na parede dos vasos apresentou aumento (de 65,2% na fase A para 85,7% e 87,5%, respectivamente) e não houve diminuição na intensidade da fluorescência. Já o número de casos com depósito de complemento (C3) nos vasos diminuiu de forma significativa (de 52,2% na fase A para 14,3% e 37,1%, respectivamente nas fases B e C) e houve diminuição na intensidade da fluorescência.

Tabela 8 – Porfíria cutânea tardia - Achados da imunofluorescência direta – Número de casos com depósito de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) e C3 na junção dermo-epidérmica e vasos

Diagnóstico Clínico	Nº. de casos	IgG		IgM		IgA		C3	
		JDE %	Vasos %	JDE %	Vasos %	JDE %	Vasos %	JDE %	Vasos %
Fase A: PCT ativa antes do tratamento	23	11 (47,8)	15 (65,2)	7 (30,4)	9 (39,1)	6 (26,1)	9 (39,1)	9 (39,1)	12 (52,2)
Fase B: PCT com remissão clínica e não bioquímica	7	2 (28,6)	6 (85,7)	3 (42,9)	2 (28,6)	1 (14,3)	4 (57,1)	1 (14,3)	1 (14,3)
Fase C: PCT com remissão clínica e bioquímica	8	3 (37,5)	7 (87,5)	3 (37,5)	1 (12,5)	3 (37,5)	4 (50,0)	2 (25,0)	3 (37,5)

Nota: JDE – Junção dermo-epidérmica

Figura 7 - Porfiria cutânea tardia - Imunofluorescência direta de lesão localizada no dorso da mão antes do tratamento, demonstrando fluorescência homogênea, intensa e contínua na junção dermo-epidérmica e na parede dos vasos para anti-IgG

Figura 8 – Porfiria cutânea tardia - Imunofluorescência direta de pele normal localizada no dorso da mão de doente com porfiria inativa, demonstrando fluorescência negativa na junção dermo-epidérmica e positiva na parede dos vasos para anti-IgG

5.6. IMUNOMAPEAMENTO

Estudamos as bolhas subepidérmicas utilizando a técnica de imunomapeamento antigênico da membrana basal. Trata-se de uma imunofluorescência indireta (já descrita anteriormente neste trabalho) que utiliza anticorpos direcionados contra o antígeno do penfigóide bolhoso, laminina, colágeno tipo IV e colágeno tipo VII, dessa forma permitindo determinar qual o nível de clivagem da bolha.

Tabela 9 – Porfiria cutânea tardia - Imunomapeamento antigênico da junção dermo-epidérmica e o nível de clivagem da bolha

DOENTE Nº.	ANTÍGENOS	NÍVEL DE CLIVAGEM DA BOLHA
6	Todos antígenos do lado epidérmico e dérmico	Sem nível de clivagem definido (bolha em regeneração)
7	Antígenos do penfigóide bolhoso e laminina foram negativos; Colágeno IV foi encontrado no lado epidérmico e o colágeno VII no lado epidérmico e dérmico	Sublâmina densa
16	Todos antígenos no lado epidérmico e dérmico	Sem nível de clivagem definido (bolha em regeneração)
18	Todos antígenos no lado epidérmico e dérmico	Sem nível de clivagem definido (bolha em regeneração)
23	Todos antígenos no lado epidérmico	Derme superior (abaixo da sublâmina densa)
24	Todos antígenos no lado dérmico da bolha	Intra-epidérmico (células basais)
25	Todos antígenos no lado dérmico da bolha	Intra-epidérmico (acima das células basais)

De nove exames realizados, o exame de imunomapeamento foi possível em sete doentes com PCT ativa (**Tabela 9**); dois foram inapropriados, pois não apresentavam área de clivagem. Em três casos todos os antígenos (antígeno do penfigóide bolhoso, a laminina, o colágeno tipo IV e o colágeno tipo VII) são encontrados nos dois lados da bolha e portanto não apresentavam nível de clivagem definido. Em dois casos todos os antígenos foram encontrados na base da bolha, portanto a clivagem foi intra-epidérmica; em um caso o colágeno IV foi encontrado no teto e o colágeno VII em ambos os lados da bolha, sendo, portanto a clivagem no nível da sublâmina densa e em outro doente todos os antígenos foram encontrados no teto da bolha, portanto a clivagem ocorreu abaixo da sublâmina densa (**Figura 9**).

Figura 9 – Porfiria cutânea tardia - Imunomapeamento antigênico da membrana basal com todos os antígenos (antígeno do penfigóide bolhoso (PB180), laminina, colágeno IV e colágeno VII) do lado epidérmico, portanto com o nível da clivagem na derme superior abaixo da sublâmina densa

5.7. TRATAMENTO

Todos os doentes foram tratados com difosfato de cloroquina, exceto um doente (Nº. 2) que foi submetido à flebotomia. Os doentes receberam inicialmente 250mg cloroquina duas vezes por semana. Com a remissão clínica a medicação foi diminuída para 250mg uma vez por semana. A medicação era suspensa quando o doente atingia a remissão bioquímica, porém freqüentemente foi necessário manter uma dose baixa de cloroquina (125 ou 250mg/semana) para manter a remissão bioquímica. Considerou-se que a remissão bioquímica foi alcançada quando as porfirinas totais na urina de 24 horas estavam abaixo de 159 µg/24hs para mulheres e de 199 µg/24hs para homens.

O tempo necessário para atingir a remissão clínica variou de dois a 21 meses em 13 doentes (com tempo médio de 8,4 meses e mediano de 6,5 meses) e para atingir a remissão bioquímica variou de cinco a 38 meses em 10 doentes (com tempo médio de 16,6 meses e mediano de 12 meses). Não foi possível obter o tempo necessário para atingir remissão clínica em cinco doentes (Nº. 1, 3, 10, 17 e 26) e bioquímica em três doentes (Nº. 3, 20 e 21), pois quando iniciamos este trabalho estes doentes já se encontravam em tratamento e estes dados não estavam disponíveis no prontuário. Nove doentes (Nº. 7, 9, 11, 12, 18, 23, 24, 25, e 27) estavam iniciando o tratamento.

Três doentes (Nº. 2, 3, 14) apresentavam recidiva clínica porque não foram capazes de interromper totalmente a ingestão de álcool.

Quatro doentes (Nº. 10, 14, 22 e 26) mantinham a remissão clínica com 125 a 250mg de cloroquina por semana, porém não atingiam a remissão bioquímica; todos apresentavam o álcool e a hepatite C como fatores desencadeantes.

Quatro doentes que atingiram a remissão bioquímica não a mantinham com a suspensão da cloroquina; um doente (Nº. 20) apresentava hepatite C, dois HIV (Nº. 17 e 21) e um outro (Nº. 5), provavelmente a forma familiar da PCT. Os dois doentes com HIV estavam em tratamento com cloroquina por quatro e sete anos, respectivamente, e haviam interrompido a ingestão de álcool. O doente com a forma familiar estava em tratamento há 23 anos e não apresentava fatores desencadeantes ou doenças associadas.

Um doente de 64 anos de idade (Nº. 19) desenvolveu carcinoma hepatocelular após 17 anos de doença, mas não apresentou recaída da PCT (clínica ou bioquímica). Este doente se mantém em remissão bioquímica sem o uso da cloroquina há dois anos.

No acompanhamento dos 28 doentes com PCT, nenhum efeito hepatotóxico ou alteração ocular (no exame de fundo de olho), resultante do tratamento com cloroquina, foi identificado.

6. DISCUSSÃO

As características clínicas dos doentes deste estudo assemelham-se aos da literatura.³⁶ Nos nossos doentes a doença ainda predominou nos homens (75,0%). Entre as mulheres os contraceptivos orais tiveram um papel importante e não se observou aumento do consumo de álcool. No passado a porfiria cutânea tardia (PCT) predominava nos homens, mas posteriormente houve um aumento da incidência nas mulheres.³⁶ Este aumento foi atribuído à ingestão de estrógenos (anticoncepcionais e reposição hormonal na menopausa) e ao aumento do consumo de álcool pelas mulheres nas últimas décadas.²⁸

Neste trabalho a idade em que se iniciou a doença foi mais precoce nas mulheres. A idade média foi de 30,3 anos (mediana de 29,0 anos) para as mulheres e de 44,5 anos (mediana de 49 anos) para os homens.

A manifestação que predominou nos doentes foi a fragilidade cutânea, sendo a única manifestação clínica em um dos doentes (Nº. 4). Neste, suspeitou-se da doença porque o irmão (Nº. 20) estava sendo tratado de PCT no Ambulatório de Fotobiologia.

As lesões bolhosas predominaram no dorso das mãos e seu surgimento estava mais relacionado ao trauma do que à exposição à radiação solar. O que reafirma esta observação é que as bolhas podem ser induzidas por fricção,⁶² mas não com tanta frequência por fototeste.²³⁶

A hipertricose acometia somente a face e estava presente em 82,1% dos doentes, sendo mais visível nas mulheres. Hiperpigmentação difusa ocorreu em 67,9% dos doentes, acometendo a pele exposta ao sol, como face, pescoço e face extensora dos membros superiores. A causa das

alterações pigmentares e da hipertricose ainda não foi elucidada. A hiperpigmentação e a hipertricose funcionariam como mecanismos de defesa, na tentativa de aumentar a fotoproteção do doente.

Lesões esclerodermiformes foram observadas somente no doente N°.2 (3.6%) e as lesões surgiram após um ano de evolução da doença sem tratamento. Placas esclerodermiformes são pouco freqüentes; na literatura a sua freqüência varia de 1,6 a 18%^{36,118,140} e geralmente se desenvolvem após uma longa evolução da doença.^{140,141}

A onicólise ocorreu em dois doentes (7,1%). Esta alteração ungueal é freqüente em reações de fototoxicidade por medicamentos. O mecanismo que leva à separação da lâmina ungueal do leito é desconhecido.⁴

O álcool foi o fator desencadeante em 71,4% dos doentes, todos do sexo masculino, sendo que 53,6% apresentavam além do álcool a hepatite C associada. O etilismo há muito tempo é reconhecido como um importante fator desencadeante de PCT;⁷⁹ ele age em sinergismo com outros fatores em indivíduos predispostos.⁸¹ Alguns autores acreditam que o etilismo crônico talvez esteja associado à herança de mutações da hemocromatose, como a mutação C282Y, que predomina em países onde o álcool é o fator desencadeante mais comum de PCT.⁸⁵ Em um estudo brasileiro com 23 doentes observou-se maior freqüência da mutação C282Y comparada a um grupo controle de 278 indivíduos (17,4% versus 4%), e neste estudo a freqüência de etilismo era de 73,9% e de infecção pelo HCV de 65,2%, porcentagens estas semelhantes às do nosso estudo.¹²

A hepatite C ocorreu em 57,1% (16 de 28 doentes), sendo que 15

destes doentes (53,6%) apresentavam etilismo associado. A maioria dos doentes com HCV (13 de 16 doentes), ou seja, 81,2% tiveram o diagnóstico da infecção após o surgimento da PCT, sugerindo que esta pode ser a primeira manifestação da infecção pelo HCV, daí a necessidade de investigar HCV em todos os doentes com PCT como já foi relatado na literatura.¹¹⁸ O antecedente de etilismo na maioria dos doentes já os coloca em risco de desenvolver PCT, independentemente da presença ou não de HCV. O papel patogênico do HCV no desenvolvimento da PCT é desconhecido, mas o papel dos vírus hepatotrópicos no desencadeamento da PCT é relatado desde 1992.^{108,109} A prevalência de anticorpos anti-HCV varia de 8 a 90% na literatura e está relacionada a endemicidade na população.^{19,21,110} A maioria dos indivíduos com hepatite C não desenvolve PCT; evidentemente certos indivíduos estão predispostos a desenvolver a deficiência da UROD.¹¹⁷ Indivíduos infectados pelo HCV, mas sem PCT, podem apresentar aumento das porfirinas e diminuição da atividade da UROD no fígado; sugere-se que as reações imunológicas podem ser a ligação entre o vírus e a PCT.¹²⁵

Nossos doentes apresentavam sorologia positiva para hepatite B, ou seja, anti-HBc e anti-HBs positivos em 39,3% dos casos, mas todos com o antígeno (HBsAg) negativo. Na literatura foi descrito um pequeno aumento da prevalência de hepatite B, ocorrendo anti-HBs e anti-HBc positivos em 14 (41,2%) de 34 casos e HBsAg positivo em dois casos.¹²⁶

A associação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) ocorreu em 7,1% dos doentes (Nº. 17 e 21). O diagnóstico de HIV nestes casos foi concomitante ao da PCT, como na maioria dos casos relatados na literatura

mais recente;¹²⁹ portanto se deve sempre solicitar a sorologia para HIV nos doentes com PCT. Estes dois doentes apresentavam etilismo associado e eram negativos para HCV. Na literatura, geralmente outros fatores desencadeantes também estão associados ao HIV, como álcool, hepatite B e hepatite C.¹²⁹ Não se pode concluir que o HIV isoladamente contribui para o desenvolvimento da PCT.

Em 57,1% das doentes (quatro de sete) do sexo feminino o estrógeno foi o fator desencadeante; em três o estrógeno era o único fator desencadeante e em uma (Nº. 28) havia também história familiar de PCT (pai). Este último caso reafirma a idéia de que o estrógeno atuaria inibindo a UROD, que já se encontra geneticamente diminuída.⁴² Vários estudos demonstram que o uso de estrógenos, como contraceptivos ou para reposição hormonal pós-menopausa, pode desencadear a PCT^{36,88} e que geralmente é o único fator desencadeante em mais de 25% das mulheres com PCT.⁸⁹

Três doentes apresentavam a forma familiar da doença, pois manifestaram a doença em idade precoce e não apresentavam nenhum fator desencadeante, entre eles estava uma doente de 47 anos (Nº. 5), que manifestou a doença aos 25 anos de idade, e dois irmãos, um do sexo feminino (Nº. 11) de 16 anos e outro do sexo masculino (Nº. 7) de 17 anos, que manifestaram a doença desde um ano de idade. A doente Nº. 5 não apresentava história familiar. A forma familiar geralmente se manifesta em torno dos 20 anos de idade, mas a manifestação precoce com um ano de idade não é usual. Estes dois irmãos foram abordados inicialmente de forma

errônea como epidermólise bolhosa, deve-se, portanto lembrar da PCT como diferencial de doenças bolhosas na infância. Um diagnóstico diferencial importante para estes dois irmãos é a porfiria hepatoeritropoiética (PHE), pois esta apresenta manifestações semelhantes à PCT e inicia-se na infância.^{186,187} O diferencial foi feito com o teste de “screening” com a lâmpada de Wood do sangue, pois este é positivo devido à presença de PROTO.¹⁶⁴

Outros três doentes, dois irmãos (Nº. 4 e 20) e uma doente do sexo feminino (Nº. 28), apresentavam história familiar de PCT, mas com as características da PCT esporádica e fatores desencadeantes. Estes doentes apresentam provavelmente, a PCT classificada como tipo III.

A associação com o *diabetes mellitus* ocorreu em 17,9% (cinco doentes). Quatro doentes apresentavam diagnóstico de diabetes antes da PCT e apenas um doente teve o diagnóstico feito através do teste de tolerância a glicose (GTT). A incidência de *diabetes mellitus*³⁶ e a intolerância a glicose⁸¹ são relatadas com frequência na PCT, mas um estudo onde foram comparados doentes com PCT a um grupo controle, não encontrou diferenças no teste de tolerância a glicose nos dois grupos, mas apenas um aumento da excreção de insulina, o que ocorre também em outras doenças hepáticas.¹⁵⁹ Alguns autores associam a intolerância a glicose mais à presença do gene da hemocromatose do que à PCT em si.¹⁶⁰ Apesar das divergências existentes nos diferentes estudos e enquanto não surgir mais estudos controlados, a glicemia deve ser monitorada e nos casos em que a glicemia de jejum se encontra próximo ao nível superior dos

valores de referência, deve-se realizar o GTT, o que permite o diagnóstico precoce de *diabetes mellitus*.

A insuficiência renal crônica (IRC) estava associada à PCT em um doente (Nº. 13), ou seja, 3,6%. Este doente desenvolveu a PCT antes de iniciar a hemodiálise, e apresentava como fatores desencadeantes álcool e hepatite C, portanto neste caso não houve nexo causal entre a hemodiálise e a PCT. A associação da hemodiálise com a PCT já foi relatada em diversos trabalhos, mas geralmente a PCT se desenvolve após um longo período de hemodiálise.^{132,133,134,135}

O carcinoma hepatocelular (CHC) foi diagnosticado em um doente (Nº. 19). Este doente era do sexo masculino de 64 anos, apresentava PCT há 16 anos, associado a etilismo, HCV e *diabetes mellitus*. Isto confirma os dados encontrados na literatura de que a coexistência de fatores como hepatite viral, álcool e sobrecarga de ferro explicam a ocorrência de CHC em doentes com PCT.^{150,155} Este doente apresenta todos os fatores de risco para desenvolver o CHC: sexo masculino, acima de 50 anos, com PCT sintomática por 10 anos ou mais e cirrose.^{151,153} Este doente apresentou aumento da alfa-fetoproteína e está em tratamento com injeção intra-tumoral de álcool absoluto para necrosar o tumor e mantém-se em remissão bioquímica sem o uso da cloroquina há dois anos. A incidência de CHC na literatura varia de cinco a 16%,¹⁵³ mas como em necropsias a incidência é de 40 a 50%; isto indica que estes tumores são freqüentemente assintomáticos e não são detectados.^{153,154} Para detecção de malignidade hepática todos os nossos doentes são monitorados por ultra-som e dosagem

de alfa-fetoproteína sérica a cada seis meses. A sensibilidade de a ultrasonografia detectar um tumor hepático pequeno é de 80 a 90%.²⁴ Somente tumores maiores aumentam a concentração sérica de alfa-fetoproteína e a especificidade deste marcador é limitada.²⁴

A associação com mieloma múltiplo estava presente em um doente (Nº. 16). Doente do sexo feminino, cujo fator desencadeante foi a terapia com estrógeno para reposição hormonal. A doente apresentava o mieloma múltiplo controlado após um transplante de medula óssea autólogo e o uso de talidomida 100 mg por dia. A associação com mieloma múltiplo foi descrita na literatura em apenas um caso, mas neste a PCT surgiu na vigência da doença.²³⁷ A talidomida já foi descrita na literatura como uma opção terapêutica para a PCT na dosagem de 300mg por uma semana, depois 200mg por três semanas; a melhora das lesões ocorreu após dois meses e no acompanhamento de 16-28 meses não houve recidiva.²⁰² Apesar da doente estar na vigência de 100mg por dia de talidomida, para o controle do mieloma múltiplo, isto não a impediu de desenvolver a PCT. Desconhece-se o mecanismo pelo qual a talidomida age na PCT, talvez por que se trata de um fotoprotetor sistêmico. O que limita o uso desta medicação é a sua teratogenicidade e seus efeitos colaterais, como a neuropatia periférica.

A mielofibrose estava associada em um doente (Nº. 20), mas este apresentava como fatores desencadeantes o etilismo, a hepatite B e história familiar de PCT (irmão). A mielofibrose desenvolveu-se 10 anos após o diagnóstico de PCT. A associação com mielofibrose foi descrita em apenas

um caso na literatura ²³⁸ e esta provavelmente é casual. A associação com outros distúrbios hematológicos como leucemia mielóide crônica e leucemia linfóide crônica já foram descritos. ¹⁶³

Antes do tratamento os níveis de ferritina estavam elevados em 66,7% dos doentes testados (12 de 18) e os níveis de ferro sérico estavam elevados em 35,0% (sete de 20). Após um período variável de tratamento com cloroquina a ferritina estava elevada em 36,8% (sete de 19) e os níveis do ferro sérico estavam elevados em 15,8% (três de 19) dos doentes testados. Considerando somente os doentes com HCV, observamos um aumento da porcentagem de doentes com níveis elevados de ferritina, pois ocorre em 80,0% dos doentes (oito de 10), o que confirma os dados de literatura onde os doentes com HCV apresentam aumento da ferritina sérica.^{89,108} Após o tratamento com cloroquina dos doentes com HCV também se observou uma diminuição na ferritina, pois apenas 40% dos doentes (quatro de 10) a apresentavam num nível elevado. Alguns autores afirmam que os doentes com hepatite C crônica apresentam um benefício adicional com a flebotomia para a redução do ferro; isto melhoraria a inflamação hepática e a resposta ao tratamento com α -interferon. ¹¹⁵ Faltam estudos evolutivos de longo prazo do perfil do ferro nos dois tratamentos, ou seja, com cloroquina ou flebotomia, para chegar a alguma conclusão.

A investigação de hemocromatose não foi realizada, mas esta se faz necessária devido à freqüência dos relatos na literatura desta associação ^{12,19,85} e porque a flebotomia é o tratamento mais indicado para a redução

dos depósitos de ferro nos doentes homozigóticos para a mutação C282Y ou heterozigóticos compostos para as mutações C282Y e H63D.¹⁰⁷

A maioria dos doentes apresentava aumento das enzimas hepáticas, (TGO/AST em 65,4%, TGP/ALT em 70,4% e GGT em 81,5%); isto ocorria com mais freqüência entre os doentes com etilismo e/ou hepatite C, porém, eram mais discretas entre os que apresentavam o estrógeno como fator desencadeante. A GGT estava elevada em todos os doentes que tinham o álcool como fator desencadeante. A análise da evolução das enzimas hepáticas após o tratamento foi possível em 19 doentes; destes: 52,6% as enzimas se normalizaram, 21% permaneciam elevadas, 5,3% apenas duas enzimas (TGO e GGT) estavam elevadas e em 21% somente a GGT estava elevada. A elevação persistente das enzimas hepáticas foi mais freqüente nos doentes com hepatite C e álcool como fatores desencadeantes.

O fator antinúcleo (FAN) era positivo em três de 23 doentes testados (13,0%), todos de título baixo (1/40), sendo dois com o padrão pontilhado e um com padrão nucleolar. Na literatura um estudo mostrou o FAN positivo em 26 (38%) de 40 doentes, geralmente de título baixo e de padrão pontilhado.³⁶ A associação com lupus eritematoso já foi descrita em vários artigos.^{36,161,162} Em um estudo da auto-imunidade dos doentes com PCT associada ao HCV, identificaram o aumento de vários autoanticorpos: FAN (fator anti-núcleo), ASMA (anti-músculo liso), anti-KLM1 (*anti-liver-kidney-microsomal*), fator reumatóide, crioglobulinas mistas e consumo de complemento, sugerindo que os doentes com hepatite C teriam um aumento

da resposta auto-imune no fígado e os autoanticorpos funcionariam como inibidores da atividade catalítica da UROD.⁵²

O padrão de excreção das porfirinas urinárias permite o diagnóstico de PCT. Com o método HPLC (*“High-Performance” Liquid-Chromatographic*) podemos dosar as diferentes frações de porfirinas presentes na urina e utilizamos a relação URO:COPRO no diagnóstico. A relação URO:COPRO > que 3:1 é característica da PCT. Na maioria dos doentes a uroporfirina (URO) excede a coproporfirina (COPRO) na urina de 24 horas e a média da relação URO:COPRO foi de 5,5:1. Este padrão ajuda a distinguir a PCT da porfíria variegata (PV), onde o total de porfirinas excretadas na urina é consideravelmente menor que na PCT e a relação URO:COPRO é geralmente menor que um.⁴ A PV apresenta características cutâneas indistinguíveis da PCT; entretanto, além da dosagem de porfirinas na urina (HPLC), a história familiar e a história de crises agudas com sintomas neuroviscerais também ajudam no diferencial.

A elevação de ISOCOPRO nas fezes é característica na PCT. O conteúdo de porfirinas nas fezes consiste primariamente em ISOCOPRO, 7-carboxil porfirina, e pequenas quantidades de URO e COPRO.⁴ O método HPLC pode ser utilizado para detectar as porfirinas fecais.^{166,239} A análise das porfirinas fecais dá suporte ao diagnóstico da PCT e exclui a PV ou CPH coexistindo com a PCT (a porfíria dupla).⁴ Outro exame é o teste qualitativo do plasma com espectrometria de fluorescência; a concentração de porfirina plasmática está aumentada principalmente por uroporfirina.²⁴⁰ O plasma é colocado num espectrofotômetro de fluorescência que emite uma luz com

comprimento de onda de 410nm; isto leva à emissão de fluorescência característica com um pico máximo entre 618 a 620nm e esta característica ocorre na PCT, CPH e PEC.²⁴¹ Foram excluídos do nosso estudo, dois doentes com insuficiência renal crônica (IRC) em hemodiálise anúricos pois nestes doentes a análise das porfirinas no plasma ou nas fezes, cujos exames não estavam disponíveis no nosso serviço, seriam as únicas formas de diferenciar a “verdadeira” PCT da pseudoporfiria.^{184,185} A histopatologia e a imunofluorescência direta também não ajudam no diagnóstico diferencial pois são idênticas nas duas doenças.

Outros diagnósticos diferenciais são a coproporfiria hereditária (CPH), porfiria hepatoeritropoiética (PHE), porfiria eritropoiética congênita (PEC ou doença de Günther), epidermólise bolhosa adquirida (EBA) e esclerodermia.⁴ Cada uma destas doenças pode ser diferenciada baseando-se no quadro clínico, histopatologia, imunofluorescência e estudo das porfirinas.

Na microscopia óptica com a coloração de hematoxilina-eosina, antes do tratamento (Fase A), encontrou-se bolhas subepidérmicas em 86,9% dos doentes e os vasos da derme superficial com paredes espessadas por depósito de material PAS-positivo e diastase-resistente em 95,6%. Nas biópsias dos doentes com remissão clínica (Fase B e C), observou-se epiderme normal ou com alterações discretas (hiperqueratose, hipergranulose, acantose), elastose solar e o material hialino, PAS-positivo e diastase-resistente espessando a parede dos vasos, manteve-se em 92,9% dos doentes (13 de 14). Em cinco doentes, foi possível comparar o

espessamento da parede vascular antes do tratamento e após a remissão bioquímica. Todos apresentavam espessamento antes do tratamento e na remissão bioquímica: quatro doentes mantiveram o espessamento, mas este era mais leve, e um não apresentava espessamento da parede (Tabela 7). Os doentes que mantiveram espessamento leve da parede do vaso tiveram a segunda biópsia realizada após 18 meses, 28 meses, 10 anos e 16 meses, respectivamente. O que se apresentou sem espessamento do vaso teve a biópsia realizada após 6 anos. Desconhece-se a duração do período em que dois doentes estavam em remissão bioquímica quando realizaram a segunda biópsia (após 10 e seis anos); contudo os outros três doentes tiveram a segunda biópsia realizada logo que entraram em remissão bioquímica. Parece haver uma diminuição deste depósito após a remissão bioquímica, mas há falta de uma casuística maior e um longo período de acompanhamento após a remissão bioquímica para que possamos chegar a alguma conclusão. Na literatura um estudo de cinco doentes com PCT, em tratamento com cloroquina por 6 a 17 meses (média 11,8 meses), realizaram três biópsias (antes do tratamento, na remissão bioquímica e seis a 12 meses depois da remissão bioquímica) e não houve diferenças no espessamento dos vasos nas diferentes biópsias, tanto na microscopia óptica quanto na microscopia eletrônica, sugerindo que esta alteração seria crônica e irreversível. Entretanto, estes autores não compararam as biópsias, antes e depois do tratamento, do mesmo doente e esta diminuição da hialinização da parede dos vasos poderia ser porque os doentes com a PCT inativa apresentavam alterações vasculares mais discretas na fase

ativa ou porque o período de remissão era longo e as alterações vasculares melhoraram durante este período.¹⁴

A lipóido proteinose (*hialinose cutis et mucosae*) é um diferencial histopatológico, pois apresenta depósito de material hialino em torno dos vasos dérmicos, mas diferente da PCT apresenta depósito em torno das glândulas sudoríparas e em feixes homogêneos na derme dispostos perpendicularmente à superfície da pele.¹⁶⁹

Não se identificou depósito de hemossiderina na derme das biópsias submetidas à coloração de Perls. Na hemocromatose onde há níveis mais elevados do ferro sérico e ferritina, raramente são observados macrófagos com grânulos de hemossiderina na derme e a hiperchromia que acomete as áreas expostas destes doentes se deve ao depósito de melanina.²⁴²

Doentes com PCT ou pseudoporfiria desenvolvem bolhas que podem ser distinguidas de outras doenças bolhosas pela imunofluorescência direta (IFD).¹⁶ Na IFD da PCT há depósito de IgG, IgA, IgM e/ou complemento (C3) no interior e na parede dos vasos e na junção dermo-epidérmica (JDE) de indivíduos afetados.^{13,62,64} Na PCT a fluorescência que se estende da parede à luz do vaso é característica, ao passo que na vasculite o padrão da fluorescência é diferente, pois ocorre na parede do vaso sem se estender à luz.

Na imunofluorescência direta os resultados obtidos no nosso estudo revelam que antes do tratamento (Fase A) 57,9% apresentavam a intensidade da fluorescência na parede dos vasos tão intensa quanto à da JDE e apenas 31,6% apresentava fluorescência mais intensa na parede dos

vasos do que na JDE (Quadro 2). Quanto aos doentes com remissão clínica (Fase B) 42,9% demonstravam a intensidade da fluorescência na parede dos vasos tão notável quanto à da JDE e 57,1% demonstravam a fluorescência mais intensa na parede dos vasos do que na JDE. Já os doentes com PCT inativa (Fase C) 28,6% demonstravam a intensidade da fluorescência dos vasos equivalente à da JDE e 71,4% demonstravam fluorescência mais intensa na parede dos vasos do que na JDE (Quadro 2). Portanto, à medida que o doente evolui de porfiria ativa para remissão clínica e posteriormente para remissão bioquímica, a fluorescência passa a predominar mais na parede dos vasos do que na JDE. O que se pode concluir com base nestes dados é que as porfirinas que levam à lesão endotelial fazem com que na fase ativa (Fase A) o vazamento de imunoglobulinas (Igs) e complemento (C3) seja maior e, portanto a fluorescência na JDE é mais freqüente. Já na remissão clínica (Fase B) e na remissão bioquímica (Fase C) há uma diminuição da fluorescência na JDE, provavelmente porque o vazamento das Igs e de C3 é menor e fica mais restrito à área perivascular. Um estudo prévio demonstrou a IgG, e o complemento de forma esporádica, na parede dos vasos e na JDE da pele lesada de doentes com PCT ativa, além de fluorescência de menor intensidade na pele exposta e ausência de alterações na pele protegida da luz de doentes com PCT inativa, indicando que a luz e as porfirinas eram essenciais para produzir a lesão.¹³ Vários autores consideram que estes depósitos não são resultado de um fenômeno imunológico, pois não se identificaram autoanticorpos circulantes contra antígenos vasculares ou

perivasculares. Supõe-se que os depósitos de imunoglobulinas (Igs) sejam resultado da difusão pela parede vascular de Igs circulantes e seu enclausuramento no material hialinizado perivascular.^{62,140} Quanto aos depósitos na JDE provavelmente possuem a mesma origem, já que não foram identificados anticorpos circulantes contra a JDE, e as Igs são equivalentes às encontrados nos vasos.⁶²

Os doentes com remissão clínica (Fase B) e com remissão bioquímica (Fase C) mantêm, na pele exposta, o depósito de IgG na parede vascular e na JDE e não se observou diminuição na intensidade da fluorescência em relação à observada na PCT ativa. O mesmo não ocorre com o depósito de C3, que apresenta diminuição importante nas fases B e C; o número de casos com depósito de complemento (C3) nos vasos diminuiu (de 52,2% na fase A, para 14,3% e 37,5%, nas fases B e C, respectivamente) e a intensidade da fluorescência também diminuiu. Possivelmente o complemento está envolvido na patogênese da lesão. Acredita-se que as porfirinas e a luz ativam a via alternativa da cascata do complemento, independente de reações imunológicas, levando à lesão endotelial.⁶⁴ Presume-se que a ativação do complemento, mediada pelas porfirinas após a radiação da luz, resultaria da geração de fatores reatores do oxigênio, mais provavelmente o oxigênio *singlet*.^{57,69} São várias as evidências de que o complemento estaria envolvido: (1). A radiação *in vitro* do soro de doentes com PCT resulta na ativação do complemento.^{65,66,67} (2). A fotossensibilidade induzida por porfirinas, em modelos animais, está associada à ativação do complemento e está suprimida em animais com

depleção do complemento ou deficiência congênita de C5.⁶⁸ (3). Atividade quimiotática induzida pelo C5 foi observada após a exposição da pele de doentes com PCT à irradiação na banda de Soret.^{57,69} Não se estabeleceu de forma clara se a lesão endotelial segue à ativação da cascata do complemento ou se os dois ocorrem de forma independente.⁶²

Em um estudo da imunofluorescência, antes e após o tratamento com cloroquina em quatro doentes, a IgG estava presente na parede vascular de três doentes e o complemento em um doente antes do tratamento. Após a remissão, o depósito de IgG é menos intenso (dois), aumentado (um) ou negativo (um). Seis a doze meses após a remissão bioquímica, depósitos intensos de IgG foram encontrados em dois doentes, sendo que num deles nenhum depósito de IgG havia sido observado antes do tratamento.¹⁴ Em outro estudo, a IgG foi mais intensa na parede dos vasos do que na JDE na maioria e, poucas vezes, a fluorescência foi da mesma intensidade na parede dos vasos e na JDE. Sete de 10 doentes com PCT inativa apresentavam depósito de IgG nos vasos e na JDE, mas a fluorescência era de menor intensidade. Neste estudo o depósito do complemento foi pouco freqüente, e a imunofluorescência indireta (IFI) foi negativa para anticorpos circulantes contra a parede vascular ou a JDE.¹³

Apesar das alterações histopatológicas e da imunofluorescência sugerirem que o foco primário da lesão cutânea é a parede vascular, a patogênese da fragilidade cutânea e da formação de bolhas ainda não pôde ser definitivamente elucidada. As imunoglobulinas depositadas na JDE não podem ser responsabilizadas pela fragilidade, pois também ocorrem na PPE

e esta não apresenta bolha.⁶² Outra evidência de que as imunoglobulinas não são responsáveis pela fragilidade e pela formação das bolhas é a sua presença na JDE de pele clinicamente normal em pacientes com PCT inativa, ou seja, com remissão clínica e bioquímica. Provavelmente a lesão da JDE pelas porfirinas e a radiação solar sejam as responsáveis pela formação das bolhas.²⁴³ As alterações na microscopia eletrônica da JDE são encontradas somente nos doentes com PCT e PV;¹³ esta diferença pode estar relacionada à concentração e solubilidade das porfirinas envolvidas. Na PPE as protoporfirinas estão presentes em grandes quantidades dentro dos vasos sanguíneos e como não são hidrossolúveis não se difundem facilmente para fora do vaso. Isto explica porque nesta condição a lesão vascular é mais acentuada do que as alterações na JDE.¹³

Na PCT as bolhas resultam de clivagem variável, ora na lâmina lúcida,^{16,17,175} ora na derme papilar^{14,62,176} ou ainda no nível dos queratinócitos basais que mostram alterações degenerativas.¹⁷⁴ Em alguns doentes os três tipos de clivagem podem ser observados em diferentes biópsias, ou até na mesma biópsia.¹⁷⁴ Alguns autores acreditam que a bolha se origina inicialmente na zona juncional e depois com estímulo adicional rapidamente se torna uma bolha de clivagem dérmica; isto explicaria a ocorrência de cicatriz.¹⁷⁵ Outros autores apresentam a hipótese de que o doente (com PCT) tem a pele exposta tão rígida que não tolera fricção ou trauma. Reforçando esta hipótese, experimentalmente observaram, nos doentes com PCT ativa, que a pele exposta com aspecto clínico normal apresentava na microscopia eletrônica a formação da clivagem. Esta

clivagem forma-se abaixo da lâmina basal nas camadas superficiais da derme e as reduplicações da membrana basal resultam, provavelmente, de múltiplos episódios de clivagem microscópica e sua subsequente regeneração.⁶² Outro estudo do evento morfológico de formação da bolha, com a microscopia eletrônica, demonstrou que o fenômeno é condicionado pela formação de vacúolos limitados por membrana; estes são observados na derme superficial, em torno dos vasos e imediatamente abaixo da lâmina basal.¹⁷⁶ A irradiação das porfirinas localizadas nos lisossomos levam as enzimas lisossomais a escapar para o citoplasma e a célula sofre apoptose. Os vacúolos formados pela citólise das células dérmicas e a ruptura das membranas vacuolares causam a clivagem dermo-epidérmica. A lesão lisossomal também pode comprometer as células endoteliais e os queratinócitos da camada basal. Outra sugestão destes autores, que explicaria o desenvolvimento da bolha, seria a formação de pseudópodes das células da camada basal protraindo pelos espaços na membrana basal para a derme.¹⁷⁶ Este fenômeno degenerativo das células basais explicaria porque alguns autores afirmam que a bolha pode ocorrer acima da membrana basal.^{16,17,174,175}

No nosso estudo utilizamos o imunomapeamento antigênico para determinar o nível da clivagem da bolha em sete doentes. Em três doentes não foi possível identificar o nível de clivagem, pois apresentavam todos os antígenos do lado epidérmico e dérmico da bolha, tratando-se provavelmente de bolhas em regeneração; em dois doentes a clivagem foi intraepidérmica; em um doente a clivagem foi na sublâmina densa; e em um

outro doente a clivagem ocorreu abaixo da sublâmina densa. Não foi encontrado, portanto, um único nível de clivagem, concordando com as descobertas de diversos autores que encontraram nível de clivagem variável na microscopia eletrônica.^{14,16,17,174,175,176} Apenas dois estudos utilizaram o imunomapeamento da JDE para determinar o nível de clivagem da bolha. Um estudo de cinco bolhas grandes, no qual quatro foram juncionais e uma foi de clivagem dérmica¹⁷ e outro estudo com cinco casos de PCT e dois de pseudoporfiria onde observaram a clivagem na lâmina lúcida (juncional) nos sete casos.¹⁶ Neste último estudo os autores acreditam que a clivagem na lâmina lúcida seria causada pelo acúmulo de uroporfirinas na pele (camada córnea, camada de células escamosas, derme e capilares) que absorvem a luz (~400nm), levando à lesão do endotélio, com depósito de Igs e aumento dos níveis de C3a e C5a. Eles afirmam que estes depósitos apareceriam antes da formação da bolha e seriam autoanticorpos dirigidos contra o endotélio vascular lesado. Diferente da opinião da maioria dos autores, eles supõem que a exposição à luz possa liberar interleucinas 1 e 2, lesar o endotélio vascular causando a liberação de proteases e que as Igs seriam autoanticorpos que se ligam aos componentes da célula endotelial lesada; a bolha e o infiltrado inflamatório tardio seriam eventos secundários e terciários.¹⁶

Alguns autores acreditam que a diferença entre o nível de clivagem encontrada na microscopia eletrônica e no imunomapeamento se deve a um problema de amostragem, ou seja, ao tamanho das bolhas. Na microscopia eletrônica foi descrita clivagem na derme superior, pois nesta são

necessárias vesículas pequenas e recentes. As vesículas pequenas seriam de clivagem dérmica e as bolhas grandes seriam juncionais.^{62,14} A vantagem do imunomapeamento sobre a microscopia eletrônica é que permite a análise de uma área maior da clivagem, ou seja, de uma bolha inteira e maior.¹⁷ A bolha juncional não pode ser considerada uma característica morfológica específica decorrente de mecanismo patológico específico, pois pode ser um fenômeno secundário resultante da formação da bolha dérmica, cujo conteúdo fluido extravasa e separa a lâmina basal ao nível da lâmina lúcida, pois esta região atua como um *locus minoris resistentiae*.¹⁷

Diferente dos demais estudos que utilizaram o imunomapeamento da JDE para estudar o nível de clivagem da bolha, nós não obtivemos nenhum caso de clivagem ao nível da lâmina lúcida. Os nossos achados estão mais de acordo com os da microscopia eletrônica, onde os níveis de clivagem foram variáveis. Provavelmente o mecanismo que define o nível de clivagem é a condição da lesão fotodinâmica dos lisossomos em acometer os queratinócitos basais e/ou as células dérmicas. Concluimos que ainda resta muito, a saber, da fisiopatologia das lesões cutâneas na PCT.

O tratamento de escolha para a PCT foi a cloroquina; seu uso já foi enfatizado em vários trabalhos.^{146,208,211,213,214,215,216,218} No acompanhamento destes 28 doentes, nenhum efeito hepatotóxico da cloroquina foi observado, mesmo nas doses de 250 a 500mg por semana por um longo período, que variava de um a 23 anos. A medicação era suspensa quando o doente atingia a remissão bioquímica, porém freqüentemente foi necessário manter uma dose baixa de cloroquina (125 ou 250mg/semana) para manter a

remissão bioquímica. O tempo médio necessário para atingir a remissão clínica foi de 8,4 meses (mediano 6,5 meses) e para atingir a remissão bioquímica foi de 16,6 meses (mediano 12 meses). Estes dados não são conflitantes com os da literatura, onde as bolhas e a fragilidade cutânea melhoravam em aproximadamente seis meses, e a excreção de porfirinas se normalizava em seis a 15 meses.^{199,200,208,213} A remissão clínica não foi observada em três doentes, possivelmente pela continuidade do consumo de álcool. Quatro doentes mantinham remissão clínica com 125 a 250mg de cloroquina por semana, porém não atingiam a remissão bioquímica. Como o etilismo estava associado nestes doentes, possivelmente uma exposição ocasional à bebida alcoólica seja a causa ou então devido à presença do HCV positivo em três casos. Quatro doentes com remissão bioquímica não a mantinham com a interrupção da cloroquina: um doente apresentava hepatite C, dois HIV e um outro a forma familiar.

7. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, podemos concluir o exposto abaixo:

1. A porfiria cutânea tardia predominou no sexo masculino (75%) e neste grupo predominou a ingestão de álcool como fator desencadeante (95,2%). Já no sexo feminino o fator desencadeante predominante foi o estímulo estrogênico (57,1%).
2. A hepatite C esteve presente em 57,1% dos doentes com porfiria cutânea tardia (93,75% do sexo masculino e 6,25% do sexo feminino), e esteve associada à ingestão de álcool em 53,6% dos doentes.
3. Antes do tratamento, 95,6% dos doentes apresentavam espessamento dos vasos por depósito de material hialino PAS-positivo diastase-resistente. Na remissão bioquímica (cinco doentes) este depósito se manteve em 80%, mas com intensidade mais leve e foi negativo em 20%.
4. A imunofluorescência direta é um dado laboratorial complementar de importância no diagnóstico e diferencial da porfiria cutânea tardia, pois apresenta fluorescência característica se estendendo da parede à luz do vaso e na junção dermo-epidérmica.
5. Na remissão clínica (associada ou não à remissão bioquímica) o depósito de imunoglobulinas nos vasos e na junção dermo-

epidérmica se manteve e o depósito da fração C3 do complemento apresentou diminuição importante.

6. Na porfiria cutânea tardia, o depósito de imunoglobulinas na imunofluorescência direta não fornece dados para a mensuração da atividade da doença, porém a diminuição de C3 na remissão bioquímica pode ser utilizada para esta finalidade.
7. À medida que o doente evolui de porfiria ativa para remissão clínica e posteriormente remissão bioquímica, a intensidade da fluorescência, que no início era tão evidente na JDE quanto na parede dos vasos, passou a predominar nos vasos.
8. No imunomapeamento antigênico da junção dermo-epidérmica da bolha identificou-se vários níveis de clivagem.
9. A resposta ao tratamento com difosfato de cloroquina na dose de 250 mg duas vezes por semana foi adequada. Em alguns casos doses baixas de cloroquina (125 a 250 mg por semana) foram necessárias para manter a remissão bioquímica.
10. No tratamento e acompanhamento dos 28 doentes com porfiria cutânea tardia, nenhum efeito hepatotóxico ou alteração ocular resultante do tratamento com cloroquina foi identificado.

8. ANEXOS

Anexo A **HOSPITAL DAS CLÍNICAS****DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO****CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº: APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA → Estudo da Imunofluorescência na Porfíria Cutanea Tardia. Pacientes do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
2. PESQUISADOR: Fatima Mendonça Jorge Vieira
CARGO/FUNÇÃO: médica INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: 79303
UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Dermatologia
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- SEM RISCO ☐ RISCO MÍNIMO (x) RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐
- (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 2 anos.

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. Objetivo da pesquisa: Estudar quais as modificações que ocorrem na pele após o controle da doença.
2. Exames a serem realizados e seus propósitos: 1. Tirar um pequeno pedaço da pele, de 5mm de tamanho, para fazer o exame que estamos estudando, a imunofluorescência direta. Este exame pode nos ajudar a avaliar se a doença está controlada. 2. Exame de sangue para avaliar se tem outras doenças além da porfiria. 3. Exame de urina e de fezes para estudar as porfirinas, que é a substância que está aumentada na sua doença.
3. Desconfortos e riscos que podem ocorrer são mínimos. Pode sangrar um pouco ou infeccionar, mas isto pode ser tratado.
4. Benefícios que podem ser obtidos: Contribuir para um melhor conhecimento da doença, possibilitando o surgimento de novos caminhos que possam melhorar o tratamento da doença, e trazer mais qualidade de vida à pessoa que tem esta doença.
5. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo: Não se aplica.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. O(a) paciente tem acesso, a qualquer tempo, às informações sobre os procedimentos, os riscos e os benefícios relacionados a esta pesquisa, inclusive para tirar dúvidas.
 2. O(a) paciente tem liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência ao seu tratamento.
 3. Terá salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
 4. Terá direito à assistência no HCFMUSP, se tiver eventuais danos à saúde, decorrentes desta pesquisa.
-

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Dra. Fatima Mendonça Jorge Vieira

End.: Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 5º. Andar, PAMB - Dermatologia CEP: 05403-000

Tel.: (11) 3069-6398

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, de de 2004.

Assinatura do sujeito da pesquisa
ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

Anexo B

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

DIRETORIA CLÍNICA**Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa*****APROVAÇÃO***

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 26.08.04, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **461/04**, intitulado: "Estudo da imunofluorescência na porfiria cutânea tardia. Paciente do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo" apresentado pelo Departamento de **DERMATOLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Pesquisador(a) Responsável: **Prof. Dr. José Eduardo Costa Martins**

Pesquisador(a) Executante: **Dra. Fatima Mendonça Jorge Vieira**

CAPPesq, 26 de Agosto de 2004.

PROF. DR. CLÁUDIO LEONE

**Vice-Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa**

Anexo C

TESTES DE “SCREENING” USANDO A LÂMPADA DE WOOD

1. Porfirinas urinárias (Método de Rimington)

A urina normalmente contém uroporfirinas e coproporfirinas e o nosso objetivo é detectar seu excesso. A uroporfirina é instável, portanto a urina deve ser fresca, guardada protegida da luz, refrigerada e testada o mais rápido possível.

Princípio do teste. Na PCT mais grave a quantidade de porfirina na urina logo que coletada pode ser alta suficiente para ser visível sem necessidade de acidificação. Entretanto, a fluorescência está comumente quelada. Para sobrepor isto a urina é acidificada, após a qual as uroporfirinas e coproporfirinas são extraídas no amil álcool onde as porfirinas fluorescem livremente; outros materiais fluorescentes e quelantes ficam na camada aquosa.

Reagentes e materiais. (1) Um tubo de ensaio ou de centrífuga. (2) Amil álcool. (3) Ácido acético glacial. (4) Lâmpada ultravioleta de vapor de mercúrio com vidro ou filtro da luz de Wood (o comprimento de onda precisa conter radiação entre 350-420nm, isto é, radiação ultravioleta (RUV) de comprimento de onda longa e luz violeta, mas nenhuma luz vermelha).

Método. (1) Acrescentar a 2 ml de urina, 5 gotas de ácido acético glacial e 0,5 ml de amil álcool. (2) Misturar bem, centrifugar para separação rápida ou deixar pousar para a separação das camadas. (3) Examinar a

camada superior (amil álcool) procurando uma fluorescência rósea-avermelhada no escuro embaixo da RUV.

Interpretação. Urina normal é negativa. Fluorescência rosa ou vermelha na camada superior denota excesso de porfirina. Um resultado positivo pode ocorrer em qualquer tipo de porfiria exceto na protoporfiria eritropoiética. Na porfiria aguda intermitente ou porfiria variegata, um resultado positivo pode ocorrer devido à transformação espontânea de porfobilinogênio em porfirina.

2. Porfirinas fecais (Método de Rimington)

O objetivo do teste é detectar o excesso de porfirinas (coproporfirinas e protoporfirinas), mas as fezes podem conter normalmente, pigmentos de clorofila provenientes da dieta (vermelho fluorescente), e pequenas quantidades de COPRO e protoporfirinas. A coproporfirina nas fezes é relativamente estável se a mostra for guardada sob refrigeração, mas a protoporfirina é instável mesmo a 0-4 °C. Daí a necessidade das amostras serem recém colhidas.

Princípio. Coproporfirina e protoporfirina são extraídos de fezes acidificadas dentro do éter; as porfirinas são depois colocadas em HCl 5%, onde seu excesso é indicado por fluorescência forte avermelhada. Pigmentos de clorofila permanecem na camada de éter.

Reagentes e materiais. (1) Dois tubos de ensaio, (2) Bastão de vidro para mexer. (3) Ácido acético glacial. (4) HCl, aproximadamente 5% (120ml

de ácido concentrado diluído em 1 litro de água destilada). (5) Éter (grau anestésico). (6) Lâmpada com filtro RUV (ver teste da urina).

Método. (1) Colocar um pedaço de fezes do tamanho de uma semente de cereja (0,5g) em um tubo de ensaio, adicionar cerca de 0,5 ml de ácido acético e misturar com o bastão formando uma pasta. (2) Acrescentar cerca de 2 ml de éter e misturar bem. (3) Esperar o resíduo se separar do éter. Colocar o líquido decantado dentro de um segundo tubo, acrescentar cerca de metade do seu volume de HCl 5% e misturar. (4) Quando a camada de HCl e éter se separarem, examinar a camada inferior (ácida) no tubo e procurar por uma fluorescência rósea-avermelhada na luz de Wood.

Interpretação. (1) Fezes normais são negativas ou com fluorescência avermelhada fraca na camada inferior (ácida). (2) Se a coproporfirina, protoporfirina ou ambos, estão presentes em excesso, a fluorescência na camada ácida é forte. O teste pode ser positivo em qualquer tipo de porfíria, mas tem significado diagnóstico na porfíria variegata. (3) Fluorescência avermelhada na camada superior (éter) não tem significado diagnóstico.

3. Porfirinas no sangue (Método de Rimington-Doyle)

O objetivo deste teste é detectar o excesso de porfirinas nos eritrócitos. PROTO, COPRO, ou uroporfirinas, em excesso são detectadas nos glóbulos vermelhos, se a dosagem estiver acima de 500µg/100ml. As porfirinas séricas nunca são altas suficientes para dar uma reação falsa positiva. A estabilidade das porfirinas nos glóbulos vermelhos é imprevisível,

portanto a amostra deve ser analisada o mais rapidamente possível. O sangue deve ser coletado com anticoagulante, pois se ocorrer hemólise a amostra estará inapropriada para um exame quantitativo.

Princípios. Porfirina é extraída do sangue em etil-acetato acidificado e depois de HCl. Fluorescência avermelhada no ácido indica excesso de porfirina.

Materiais. (1) misturar etil acetato (4vols) e ácido acético glacial (1vol). (2) 5% HCl (ver teste das fezes). (3) Dois tubos de ensaio. (4) Bastão de vidro para misturar. (5) Lâmpada de RUV filtrada.

Método. (1) Em cerca de 2,5 ml da mistura de etil acetato-ácido acético acrescentar quatro gotas de sangue (0,2ml). Misturar bem com o bastão e quebrar o coagulo em uma suspensão. (2) Aguardar a suspensão se separar e colocar o fluido decantado em um segundo tubo. (3) Acrescentar 0,5 ml de HCl ao fluido e misturar bem. (4) Quando as duas camadas se separarem, ver a camada (ácida) inferior e procurar por fluorescência rósea-avermelhada com RUV no escuro.

Interpretação. (1) No sangue normal, a fluorescência na camada (ácida) inferior é indetectável. Excesso de porfirina produz uma fluorescência fraca rósea-avermelhada na camada ácida inferior. É positiva na protoporfiria eritropoiética e na doença de Günther.

Anexo D**FOTOBIOLOGIA – DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA DO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FMUSP****NOME:** _____**REG HC:** _____ **SEXO:** _____ **PROFISSÃO:** _____**DATA NASCIMENTO:** ____ / ____ / ____ **IDADE:** _____.**ENDEREÇO:** __________ **Nº.:** _____ **APT.:** _____ **BAIRRO:** _____**CIDADE:** _____ **EST.:** _____ **CEP:** _____ - _____.**TEL.:** (____) _____ (RES) / (____) _____ (COM).**DATA DA PRIMEIRA CONSULTA:** ____ / ____ / ____.**QD:** _____ **HÁ** _____.**ED DE ENTRADA:** (BOLHAS / FRAGILIDADE CUTÂNEA / HIPERTRICOSE / HIPERPIGMENTAÇÃO
/ ALTERAÇÕES ESCLERODERMIFORMES / CALCIFICAÇÕES DISTRÓFICAS ?) →

ANTECEDENTES PESSOAIS (Doenças prévias ou associadas):

ANTECEDENTES FAMILIARES: (Familiares com os mesmos sintomas?)

HISTÓRIA PREGRESSA (HPMA):

- MEDICAÇÕES EM USO? _____

- ETILISMO? _____

- TABAGISTA? _____

- EXPOSIÇÃO A ORGANOFOBOSFORADOS? _____

(2-4-DICLOROFENOL, 2,4,5-TRICLOROFENOL E HEXACLOROBENZENO)

- TRATAMENTO HORMONAL (Mulheres)? _____

- TERAPIA COM FERRO? _____

- TRANSFUSÃO SANGUÍNEA PRÉVIA? _____

- HEPATITE? _____

- HOBBY? _____

DIAGNÓSTICO: _____

MEDICAÇÃO / TRATAMENTO: _____

DATA INÍCIO DO TRATAMENTO: ____ / ____ / ____ .

EVOLUÇÃO: _____

EXAMES INICIAIS / EVOLUÇÃO

DATA	___ / ___ / ___	___ / ___ / ___	___ / ___ / ___
EXAMES			
Anátomo-patológico – N°. Local da biópsia? Lesão ou pele são? Diagnóstico: PAS?			
Imunofluorescência direta – N°. Local da biópsia? Lesão ou pele são? Fluorescência: - Distribuição (Contínua, granular ou homogênea) - Intensidade (Intensa, moderada, ou fraca) ZMB: • Anti-IgG ----- • Anti-IgM----- • Anti-IgA----- • Anti-C3 ----- Perivascular: • Anti-IgG ----- • Anti-IgM----- • Anti-IgA----- • Anti-C3 -----	ZMB: Perivascular: (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-)	ZMB: Perivascular: (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-)	ZMB: Perivascular: (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-) (+) / (-)
Imunomapeamento N°.: Local biópsia: Lado da fluorescência? • PB180 • Laminina • Colágeno IV • Colágeno VII Nível clivagem →			
ESTÁ NA VIGÊNCIA DE QUAL TRATAMENTO? Dose? Há quanto tempo?			

DATA	__ / __ / __	__ / __ / __	__ / __ / __
EXAMES			
PORFIRINAS NA URINA 24HS Porfirinas totais _____ Uroporfirina <50 mg _____ Heptaporfirina _____ Hexaporfirina _____ Pentaporfirina _____ Coproporfirinas _____	→	→	→
PORFIRINAS NO SANGUE (Não disponível)			
PORFIRINAS NAS FEZES (Não disponível)			
Teste “screening” lâmpada de Wood – URINA	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa
Teste “screening” lâmpada de Wood – FEZES	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa
Teste “screening” lâmpada de Wood – SANGUE	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa	☐ Fraca ☐ Moderada ☐ Intensa
HEPATITE C			
HEPATITE B: Anti-HBc total Anti-HBs Ag-HBs			
HEPATITE A (IgG / IgM)			
ANTI-HIV (1 e 2)			
FAN			

DATA			
EXAMES	__ / __ / __	__ / __ / __	__ / __ / __
GLICEMIA			
GTT (Teste tolerância à glicose)			
HEMOGRAMA			
Hemoglobina _____	→	→	→
Hematócrito _____	→	→	→
Leucócitos _____	→	→	→
Neutrófilos (%) _____	→	→	→
Eosinófilos (%) _____	→	→	→
Linfócitos (%) _____	→	→	→
Plaquetas _____	→	→	→
DHL			
Ferritina			
Ferro sérico			
Saturação de Ferro			
Cap. ligação Ferro			
Uréia			
Creatinina			
Fosfatase Alcalina			
Bilirrubina total	→	→	→
Bilirrubina direta	→	→	→
Bilirrubina Indireta	→	→	→
TGO / AST			
TGP / ALT			
GGT			
Coagulograma TP	→	→	→
TT	→	→	→
TTPA	→	→	→
Eletroforese/Proteína			
• Albumina			
• Proteínas tot			
• Gamaglobulina			
• Alfa 1 / Alfa 2 / beta			

DATA OUTROS EXAMES	__ / __ / __	__ / __ / __	__ / __ / __
Alfa-fetoproteína (<10ng/ml)	__ / __ / __	__ / __ / __	__ / __ / __
USG Abdomen	__ / __ / __	__ / __ / __	__ / __ / __
Exame de fundo de olho	__ / __ / __	__ / __ / __	__ / __ / __

9. REFERÊNCIAS

* Esta dissertação está de acordo com:

Adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valeria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

1. Rich MW. Porphyria cutanea tarda. Don't forget to look at the urine. *Postgrad med.* 1999;105(4)
(www.postgradmed.com/issues/1999)
2. Sassa S, Kappas A. Molecular aspects of the inherited porphyrias. *J Intern Med.* 2000;247(2):169-78.
3. James MF, Hift RJ. Porphyrins. *Br J Anaesth.* 2000; 85(1):143-53.
4. Bickers DR, Pathak MA. The porphyrias. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, *et al.* *Dermatology in General medicine.* 4th ed. New York: McGraw-Hill; 1995. p.1854-93.
5. Waldenström J. Studien über Porphyrie. *Acta Med Scand.* 1937;82 (suppl):84-90.
6. Elder GH. The cutaneous porphyrias. In: Hawk JLM, Arnold. *Photodermatology.* New York: Oxford University Press Inc; 1999. p.171-97.
7. Nordmann Y, Puy H, Deybach JC. The porphyrias. *J Hepatol.* 1999;30(Suppl 1):12-6
8. Murphy GM. The cutaneous porphyrias: a review. *Br J Dermatol.* 1999;140:573-81.
9. Mascaro JM. The porphyrias. *Dermatology.* 1994;189(suppl 2):45.
10. Mascaro JM. The Porphyrias: A Brief Overview Based On 25 Years of Experience (1969-1994) by the Department of Dermatology of the Hospital Clinic and Faculty of Medicine of Barcelona, Spain. *J Dermatol.* 1995;22:823-28.

11. Elder GH, Roberts AG. Uroporphyrinogen decarboxylase. *J Bioenerg Biomembr.* 1995; 27(2):207-14.
12. Martinelli AL, Zago MA, Roselino AM, Filho AB, Villanova MG, Secaf M, Tavella MH, Ramalho LN, Zucoloto S, Franco RF. Porphyrria cutanea tarda in Brazilian patients: association with hemochromatosis C282Y mutation and hepatic C virus infection. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(12):3516-21.
13. Epstein JH, Tuffanelli DL, Epstein WL. Cutaneous changes in the porphyrias: A microscopic study. *Arch Dermatol.* 1973;107:689-98.
14. Timonen K, Niemi KM, Mustajoki P. Skin morphology in porphyria cutanea tarda does not improve despite clinical remission. *Clin Exp Dermatol.* 1991;16:355-8.
15. Blaszczyk M, Daoud S, Chorzelski T, Jablonska S, Sulej J. Immunological and biochemical findings in patients with porphyria cutanea tarda. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 1981;29(6):757-62.
16. Dabski C, Beutner EH. Studies of laminin and type IV collagen in blisters of porphyria cutanea tarda and drug-induced pseudoporphyria. *J Am Acad Dermatol.* 1991;25:28-32.
17. Klein GF, Hintner H, Schuler G, Fritsch P. Junctional blisters in acquired bullous disorders of the dermal-epidermal junction zone: role of the lamina lucida as the mechanical *locus minoris resistentiae*. *Br J Dermatol.* 1983;109(5):499-508.
18. Kushner JP, Barbuto AJ, Lee GR. An inherited enzymatic defect in porphyria cutanea tarda: Decreased uroporphyrinogen decarboxylase activity. *J Clin Invest.* 1976;58:1089-97.

-
19. Elder GH, Worwood M. Mutations in the hemochromatosis (HFE) gene, porphyria cutanea tarda and iron overload. *Hepatology*. 1998;27:289-91.
 20. Held JL, Sassa S, Attalah K, Harber LC. Erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase activity in porphyria cutanea tarda: A study of 40 consecutive patients. *J Invest Dermatol*. 1989;93:332-4.
 21. Elder GH. Porphyria cutanea tarda. *Semin Liver Dis*. 1998;18(1):67-75.
 22. Elder GH, Urquhart AJ, De Salamanca RE, Munoz JJ, Bonkovsky H. Immunoreactive uroporphyrinogen decarboxylase in the liver in porphyria cutanea tarda. *Lancet*. 1985;2:229-32.
 23. Garey JR, Franklin KF, Brown DA, Harrison LM, Metcalf KM, Kushner JP. Analysis of uroporphyrinogen decarboxylase complementary DNAs in sporadic porphyria cutanea tarda. *Gastroenterology*. 1993;105:165-9.
 24. Thunell S, Harper P: Porphyrins, porphyrin metabolism, porphyrias. III. Diagnosis, care and monitoring in porphyria cutanea tarda - Suggestions for a handling programme. *Scand J Clin Lab Invest*. 2000;60:561-79.
 25. Kószó F, Morvay M, Dobozy A, Simon N. Erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase activity in 80 unrelated patients with porphyria cutanea tarda. *Br J Dermatol*. 1992;126:446-49.
 26. DeVerneuil H, Aitkne G, Nordmann Y. Familial and sporadic porphyria cutanea tarda: Two different diseases. *Hum Genet*. 1978;44:145-51.

-
27. Doss MO, Frank M, Braun-Falco O. Porphyria cutanea tarda: erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase activity in 471 consecutive patients. *Curr Probl Dermatol*. 1991;20:97-105.
 28. Bygum A, Christiansen L, Peterson NE, *et al*. Familial and Sporadic Porphyria Cutanea Tarda: Clinical, Biochemical and Genetic Features with Emphasis on Iron Status. *Acta Derm Venereol*. 2003;83:115-20.
 29. Brady JJ, Jackson HA, Roberts AG, Morgan RR, Whatley SD, Rowlands GL, *et al*. Co-inheritance of mutations in the uroporphyrinogen decarboxylase and hemochromatosis genes accelerates the onset of porphyria cutanea tarda. *J Invest Dermatol*. 2000;115:868-74.
 30. Phillips JD, Parker TL, Schubert HL, Whitby FG, Hill CP, Kushner JP. Functional consequences of naturally occurring mutations in human uroporphyrinogen decarboxylase. *Blood*. 2001;98(12):3179-85.
 31. Roberts AG, Elder GH, Newcombe RG, *et al*. Heterogeneity of familial porphyria cutanea tarda. *J Med Genet*. 1988;25:669-76.
 32. D'Alessandro Gandolfo L, Griso D, Macri A, Biolcati G, Topi GC. Familial porphyria cutanea tarda with normal erythrocytic urodecarboxylase: An exception to the rule? *Dermatologica*. 1989;178:206-8.
 33. Cripps DJ, Peters HA, Gocmen A, Dogramici I. Porphyria turcica due to hexachlorobenzene – a 20 to 30 year follow-up study on 204 patients. *Br J Dermatol*. 1984;111:413-22.

34. Pazderova-Vejlupková J, Nemcova M, Pícková J, Jirásek L, Lukás E. The development and prognosis of chronic intoxication by tetrachlorodibenzo-p-dioxin in men. *Archives of Environmental Health*. 1981;36(1):5-11.
35. Siersema PD, Rademakers LHPM, Cleton MI, Kate FJW, *et al* The difference in liver pathology between sporadic and familial form of porphyria cutanea tarda: the role of iron. *J Hepatol*. 1995;23:259-67.
36. Grossman ME, Bickers DR, Poh-Fitzpatrick MB, *et al*. Porphyria Cutanea Tarda- Clinical Features and Laboratory Findings in 40 Patients. *Am J Med*. 1979;67:277-86.
37. Weimar VM, Weimar GW, Ceilley RI. Estrogen-induced porphyria cutanea tarda complicating treatment of prostatic carcinoma. *J Urol*. 1978;120:643-4.
38. Harber LC, Bickers DR. Photosensitivity diseases: principles of diagnosis and treatment. Philadelphia: Saunders; 1981. p.189-223.
39. Martasek P, Kordak V, Zonbek V, *et al*. Epidemiology of porphyria cutanea tarda in Czechoslovakia and Mongolia. *Bolletino dell'Instituto Dermatologica S Gallicano*. 1987;8:330-1.
40. Murphy GM. The cutaneous porphyrias. A review of diagnosis and management. *J Acad Dermatovenereol*. 1993;2:11-17.
41. Kappas A, Sassa S, Galbraith RA, *et al*. The porphyrias. In: C. R. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, *et al*. *The Molecular and Metabolic Basis of Inherited Disease*. 7th ed. New York: Mc Graw-Hill; 1995. p.2103-59.

-
42. Sixel-Dietrich F, Doss M. Hereditary uroporphyrinogen-decarboxylase deficiency predisposing porphyria cutanea tarda (chronic hepatic porphyria) in females after oral contraceptive medication. *Arch Dermatol Res.* 1985;278(1):13-6.
 43. Elder GH. Porphyria cutanea tarda: a multifactorial disease. *Rec Adv Dermatol.* 1990;8:55-69.
 44. De Matteis F. Role of iron in the hydrogen peroxide-dependent oxidation of hexahydroporphyrins (porphyrinogens): a possible mechanism for the exacerbation by iron of hepatic uroporphyrin. *Molecular Pharmacology.* 1988;33:463-9.
 45. Constantin D, Francis JE, Akhtar A, Clothier B, Smith AG. Uroporphyrin induced by 5-aminolevulinic acid in Ahr^d SWR mice. *Biochem Pharmacol.* 1996;52:1407-13.
 46. De Matteis F. Drug induced abnormalities of liver heme biosynthesis. In: Meeks RG, Harrison SD, Bull RJ. *Hepatotoxicology.* Boston: CRC Press; 1991. p.437-79.
 47. Lundvall O. The effect of phlebotomy therapy in porphyria cutanea tarda. Its relations to the phlebotomy-induced reduction of iron stores. *Acta Med Scand.* 1971;189:33-49.
 48. Lundvall O. The effect of replenishment of iron stores after phlebotomy in porphyria cutanea tarda. *Acta Med Scand.* 1971;189:51-63.
 49. Francis JE, Smith AG. Oxidation of uroporphyrinogens by hydroxyl radicals: evidence for nonporphyrin products as potential inhibitors of uroporphyrinogen decarboxylase. *Febs Lett.* 1988;233:311-4.

-
50. Lambrecht RW, Sinclair PR, Gorman N *et al.* Uroporphyrinogen oxidation catalyzed by reconstituted cytochrome P450IA2. Arch Biochem Biophys. 1992;254:504-10.
 51. Sweeney GD. Porphyria cutanea tarda, or the uroporphyrinogen decarboxylase deficiency diseases. Clin Biochem. 1986;19:3-14.
 52. Ferri C, Baicchi U, LaCivita L, Greco F, Longombardo G, Mazzoni A, *et al.* Hepatitis C virus-related autoimmunity in patients with porphyria cutanea tarda. Eur J Clin Invest. 1993;23:851-5.
 53. Meyer-Betz F. Untersuchungen über die biologische (photodynamische) Wirkung des Hämatoporphyrins und anderer Derivate des Blut- und Gallenfarbstoffs. Deutsch Arch Klin Med. 1913;112:476-503.
 54. Poh-Fitzpatrick MB, Sosin AE, Bemis J. Porphyrin levels in plasma and erythrocytes of chronic hemodialysis patients. J Am Acad Dermatol. 1982;7:100-4.
 55. Magnus IA. Cutaneous porphyrias. Clin Hematol. 1980;9:273-302.
 56. Spikes JD. Photobiology of porphyrins. In: Doiron DR, Gomer CJ. Porphyrin Localization and Treatment of Tumors. New York: Liss; 1984. p.19-39.
 57. Lim HW, Poh-Fitzpatrick MB, Gigli I. Activation of the complement system in patients with porphyrias after irradiation in vivo. J Clin Invest. 1984;74:1961-5.

-
58. Lim HW, Gigli I, Wasserman SI. Differential effects of protoporphyrin and uroporphyrin on murine mast cells. *J Invest Dermatol.* 1987;88(3):281-6.
 59. Dixit R, Mukhtar H, Bickers DR. Destruction of microsomal cytochrome P-450 by reactive oxygen species generated during photosensitization of hematoporphyrin derivative. *Photochem Photobiol.* 1983;37(2):173-6.
 60. Mathews-Roth MM, Pathak MA, Fitzpatrick TB, Harber LC, Kass EH. Beta-carotene as an oral photoprotective agent in erythropoietic protoporphyria. *JAMA.* 1974;228(8):1004-8.
 61. Athar M, Elmetts CA, Bickers DR, Mukhtar H. A novel mechanism for the generation of superoxide anions in hematoporphyrin derivative-mediated cutaneous photosensitization. Activation of the xanthine oxidase pathway. *J Clin Invest.* 1989; 83:1137-43.
 63. Epstein JH, Tuffanelli DL, Epstein WL. Cutaneous changes in the porphyrias: A microscopic study. *Arch Dermatol.* 1973;107:689-98.
 62. Wolff K, Hönigsmann H, Rauschmeier W, Schuler G, Pechlaner R. Microscopic and fine structural aspects of porphyrias. *Acta Derm Venereol (Stockh).* 1982;100(Suppl):17-28.
 64. Cormane RH, Szabò E, Hoo TT. Histopathology of skin in acquired and hereditary porphyria cutanea tarda. *Br J Dermatol.* 1971;85:531-9.
 65. Lim HW, Perez HD, Poh-Fitzpatrick M, Goldstein IM, and Gigli I. Generation of chemotactic activity in serum from patients with erythropoietic protoporphyria and porphyria cutanea tarda. *N Engl J Med.* 1981;304(4):212-6.

-
66. Torinuki W, Miura T, Tagami H. Activation of complement by 405-nm light in serum from porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol Res.* 1985;277(3):174-8.
 67. Pigatto PD, Polenghi MM, Altomare GF, *et al.* Complement cleavage products in phototoxic reaction of porphyria cutanea tarda. *Br J Dermatol.* 1986;114:567-73.
 68. Lim HW, Gigli I. Role of complement in porphyrin-induced photosensitivity. *J Invest Dermatol.* 1981;76(1):4-9.
 69. Meurer M, Schulte C, Weiler A, Goerz G. Photodynamic action of uroporphyrin on the complement system in porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol Res.* 1985;277(4):293-8.
 70. Schnait FG, Wolff K, Konrad K. Erythropoietic protoporphyria-submicroscopic events during the acute photosensitivity flare. *Br J Dermatol.* 1975;92:545-57.
 71. Hönigsmann H, Gschnaiat F, Konrad K, Stingl G, Wolff K. Mouse model for protoporphyria. III. Experimental production of chronic erythropoietic protoporphyria-like skin lesions. *J Invest Dermatol.* 1976;66(3):188-95.
 72. Varigos G, Schiltz JR, Bickers DR. Uroporphyrin I stimulation of collagen biosynthesis in human skin fibroblasts. A unique dark effect of porphyrin. *J Clin Invest.* 1982;69:129-35.
 73. Torinuki W, Kudoh K, Tagami H. Increased mast cell numbers in the sclerotic skin of Porphyria cutanea tarda. *Dermatologica.* 1989;178:75-8.

-
74. Hugli TE. Structure and function of the anaphylatoxins. Springer Semin Immunopathol. 1984;7:193-219.
 75. Russel JD, Russel SB, Trupin KM. The effect of histamine on the growth of cultured fibroblasts isolated from normal and keloid tissue. J Cell Physiol. 1977;93:389-94.
 76. Henderson BW, Donovan JM. Release of prostaglandin E₂ from cells by photodynamic treatment *in vitro*. Cancer Res. 1989;49:6896-900.
 77. Sandberg S, Romslo I, Hovding G, Bjorndal T. Porphyrin-induced photodamage as related to the subcellular localization of the porphyrins. Acta Derm Venereol Suppl. 1982;100:75-80.
 78. Herrmann G, Wlaschek M, Bolsen K, Prenzel K, Goerz G, Scharffetter-Kochanek K. Photosensitization of uroporphyrin augments the ultraviolet A-induced synthesis of matrix metalloproteinases in human dermal fibroblasts. J Invest Dermatol. 1996;107(3):398-403.
 79. Brunsting LA, Mason HL, Aldrich RA. Adult form of chronic porphyria with cutaneous manifestations. Report of seventeen additional cases. J Am Med Assoc. 1951;146(13):1207-12.
 80. Bruguera M. Liver involvement in porphyria. Seminars Dermatol. 1986;5:178-85.
 81. Lundvall O, Weinfeld A, Lundin P. Iron storage in porphyria cutanea tarda. Acta Med Scand. 1970;188:37-53.
 82. Dehlin O, Enerbäck L, Lundvall O. Porphyria cutanea tarda: a genetic disease? A biochemical and fluorescence microscopical study in four families. Acta Med Scand. 1973;194:265-70.

-
83. Doss M, Look D, Henning H, *et al.* Hepatic porphyrins and urinary porphyrins and porphyrin precursors in liver cirrhosis. *Klin Wochenschr.* 1972;50:1025-32.
 84. Chapman RW, Morgan MY, Laulicht M, Hoffbrand AV, Sherlock S. Hepatic iron stores and markers of iron overload in alcoholics and patients with hemochromatosis. *Dig Dis Sci.* 1982;27(10):909-16.
 85. Sampietro M, Fiorelli G, Fargion S. Iron overload in porphyria cutanea tarda. *Haematologica.* 1999;84(3):248-53.
 86. Kodama T, Kondo M, Urata G, Satoh H, Ohtake H, Iwasaki Y, *et al.* Changes in aminolevulinate synthase and aminolevulinate dehydratase activity in cirrhotic liver. *Gastroenterology.* 1983;84(2):236-41.
 87. Thunell S, Floderus Y, Henrichson A, Moore M, Meissner P, Sinclair J. Alcoholic beverages in acute porphyria. *J Stud Alcohol.* 1992;53:272-6.
 88. Roengk HH Jr, Gottlob ME. Estrogen-induced porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol.* 1970;102:260-6.
 89. Bulaj ZJ, Phillips JD, Ajioka RS, Franklin MR, Griffen LM, Guinee DJ, Edwards CQ, Kushner JP. Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. *Blood.* 2000;95(5):1565-71.
 90. Haberman HF, Rosenberg F, Menon IA. Porphyria cutanea tarda: comparison of cases precipitated by alcohol and estrogens. *Can Med Assoc J.* 1975;113:653-5.

-
91. Goerz G, Hammer G. Porphyria cutanea tarda and pregnancy. *Dermatológica*. 1983;166(6):316-8.
 92. Levere RD. Stilbestrol-induced porphyria: Increase in hepatic δ -aminolevulinic acid synthetase. *Blood*. 1966;28(4):569-72.
 93. Rifkind AB, Gillette PN, Song CS, *et al*. Induction of hepatic delta-aminolevulinic acid synthetase by oral contraceptive steroids. *J Clin Endocrinol Metab*. 1970;30:330-5.
 94. Loret de Mola JR, Muise KL, Duchon MA. Porphyria cutanea tarda and pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*. 1996;51(8):493-7.
 95. Rajka G. Pregnancy and porphyria cutanea tarda. *Acta Derm Venereol*. 1984;64(5):444-5.
 96. Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ. *Drugs in pregnancy and lactation*. 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994.
 97. Ochner RK, Schmid R. Acquired porphyria in man and rat due to hexachlorobenzene intoxication. *Nature*. 1961;189:499.
 98. Cripps DJ, Gocmen A, Peters HA. Porphyria turcica. Twenty years after hexachlorobenzene intoxication. *Arch Dermatol*. 1980;116:46-50.
 99. Elder GH, Sheppard DM. Immunoreactive uroporphyrinogen decarboxylase is unchanged in porphyria caused by TCDD and hexachlorobenzene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1982;109:113-20.
 100. Altomare G, Capella GL. Occupational porphyria cutanea tarda due to exposure to symmetrical triazine herbicides. *Eur J Dermatol*. 1995;5:66-8.

-
101. Smith AG, Clothier B, Carthew P, Childs NL, Sinclair PR, Nebert DW, Dalton TP. Protection of the Cyp1a2(–/–) null mouse against uroporphyrin and hepatic injury following exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2001;173:89-98.
 102. Edwards CQ, Griffen LM, Goldgar DE, *et al*. HLA-linked hemochromatosis alleles in sporadic porphyria cutanea tarda. *Gastroenterology*. 1989;98:972-81.
 103. Fargion S, Fracanzani AL, Romano R, Cappellini MD, *et al*. Genetic hemochromatosis in Italian patients with porphyria cutanea tarda: possible explanation for iron overload. *J Hepatol*. 1996;24(5):564-9.
 104. Kushner JP, Steinmuller DP, Lee GR. The role of iron in the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. II. Inhibition of uroporphyrinogen decarboxylase. *J Clin Invest*. 1975;56:661-7.
 105. Cortés J, Oliva H, Paradinas FJ, Hernandez-Guío C. The pathology of the liver in porphyria cutanea tarda. *Histopathology*. 1980;4:471-85.
 106. Sampietro M, Piperno A, Lupica L, Arosio C, Vergani A, Corbetta N, *et al*. High prevalence of the His63Asp HFE mutation in Italian patients with porphyria cutanea tarda. *Hepatology*. 1998;27(1):181-4.
 107. McCrossin I. Porphyria cutanea tarda in south-east New South Wales. *Austral J Dermatol*. 2002;43:285-8.
 108. Fargion S, Piperno A, Cappellini MD, Sampietro M, Fracanzani AL, Romano R, *et al*. Hepatitis C virus and porphyria cutanea tarda: Evidence of a strong association. *Hepatology*. 1992;16(6):1322-6.

-
109. Murphy A, Dooley S, Hillary IB, Murphy GM. HCV infection in porphyria cutanea tarda. *Lancet*. 1993;341:1534-5.
 110. Quecedo L, Costa J, de Salamanca RE. The role of the hepatitis C virus in the liver disease of porphyria cutanea tarda. *Med Clin (Barc)*. 1996;106(9):321-4.
 111. Lacour JPH, Bodokh I, Castanet J, Bekri S, Ortonne JP. Porphyria cutanea tarda and antibodies to hepatitis C virus. *Br J Dermatol*. 1993;128:121-3.
 112. DeCastro M, Sánchez J, Herrera JF, Cháves A, Durán R, Garcia-Buey L, *et al*. Hepatitis C virus antibodies and liver disease in patients with porphyria cutanea tarda. *Hepatology*. 1993;17(4):551-7.
 113. Dabrowska E, Jablonska-Kaszewska I, Falkiewicz B. High prevalence of hepatitis C virus infection in patients with porphyria cutanea tarda in Poland. *Clin Exp Dermatol*. 1998;23:95-6.
 114. Cribier B, Petiau P, Keller F, Schmitt C, Vetter D, Held E, Grosshans E. Porphyria cutanea tarda and hepatitis C viral infection. *Arch Dermatol*. 1995;131:801-4.
 115. Bonkovsky HL, Poh-Fitzpatrick M, Pimstone N, Obando J, *et al*. Porphyria cutanea tarda, hepatitis C, and HFE gene mutations in North America. *Hepatology*. 1998;27(6):1661-9.
 116. O'Reilly FM, Darby C, Fogarty J, Tormey W, Kay EW, *et al*. Screening of patients with iron overload to identify hemochromatosis and porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol*. 1997;133(9):1098-101.

-
- 117.** Cribier B, Rey D, Uhl G, Le Coz C, Hirth C, *et al.* Abnormal urinary coproporphyrin levels in patients infected by hepatitis C virus with or without HIV. *Arch Dermatol.* 1996;132:1448-52.
- 118.** Sarkany RPE. The management of porphyria cutanea tarda. *Clin Exp Dermatol.* 2001;26:225-32.
- 119.** Herrero C, Vicente A, Bruguera M, *et al.* Is hepatitis C infection a trigger of porphyria cutanea tarda? *Lancet.* 1993;341:788-9.
- 120.** Stölzel U, Schuppan D, Tillmann HL, Manns MP, Tannapfel A, Doss MO, *et al.* Autoantibodies in porphyria cutanea tarda: a controlled study. *J Hepatol.* 2000;33(5):858-9.
- 121.** Ma Y, Fracanzani AL, Sampietro M, Mattioli M, Cheeseman P, Williams R *et al.* Autoantibodies to human cytosol: a marker of sporadic porphyria cutanea tarda. *Clin Exp Immunol.* 2001;126:47-53.
- 122.** Mackie FD, Peakman M, Yun M *et al.* Primary and secondary liver/kidney microsomal autoantibody response following infection with hepatitis C virus. *Gastroenterology.* 1994;106:1672-5.
- 123.** Gregorio GV, Pensati P, Iorio R, Vegnente A, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoantibody prevalence in children with liver disease due to chronic hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin Exp Immunol.* 1998;112:471-6
- 124.** Lenzi M, Bellentani S, Saccoccio G *et al.* Prevalence of non-organ-specific autoantibodies and chronic liver disease in the general population: a nested case-control study of the Dinyssos cohort. *Gut.* 1999;45:435-41.

-
- 125.** Brudieux E, de Ledinghen V, Moran MJ, Fontanellas A, *et al.* Hepatic porphyrin concentration and uroporphyrinogen decarboxylase activity in hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat.* 2001;8(1):41-7.
- 126.** Navas S, Bosch P, Castillo I, Marriott E, Carreno V. Porphyria cutanea tarda and hepatitis C virus and B virus infection: a retrospective study. *Hepatology.* 1995;21:279-84.
- 127.** Wissel PS, Sordillo P, Anderson KE, Sassa S, *et al.* Porphyria cutanea tarda associated with the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Hematol.* 1987;25:107-13.
- 128.** Castanet J, Lacour JP, Bodokh I, Bekri S, Ortonne JP. Porphyria cutanea tarda in association with human immunodeficiency virus infection: is it related to hepatitis C virus infection? *Arch Dermatol.* 1994;130:664-5.
- 129.** Mansourati FF, Stone VE, Mayer KH. Porphyria cutanea tarda and HIV/AIDS: a review of pathogenesis, clinical manifestations and management. *Int J STD AIDS.* 1999;10(1):51-6.
- 130.** Chuang TY, Brashear R, Lewis C. Porphyria cutanea tarda and hepatitis C virus: A case-control study and meta-analysis of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 1999;41:31-6.
- 131.** Nomura N, Zolla-Pazner S, Simberkoff M, Kim M, Sassa S, Lim HW. Abnormal serum porphyrin in patients with acquired immunodeficiency syndrome with or without hepatitis C virus infection. *Arch Dermatol.* 1996;132:906-10.

-
- 132.** Stevens BR, Fleischer AB Jr, Piering F, Crosby DL. Porphyria cutanea tarda in the setting of renal failure: response to renal transplantation. *Arch Dermatol.* 1993;129:337-9.
- 133.** Garcia Parrilla J, Ortega R, Pena ML, Rodicio JL, Salamanca RE, Olmos A, Elder GH. Porphyria cutanea tarda during maintenance haemodialysis. *Br Med J.* 1980;280(6228):1358.
- 134.** Elder GH, Path MRC, Lee GB, Tovey JA. Decreased activity of hepatic uroporphyrinogen decarboxylase in sporadic porphyria cutanea tarda. *N Engl J Med.* 1978;299:274-8.
- 135.** Burnett JW, Lamon JM, Levin J. Haemophilia, hepatitis and porphyria. *Br J Dermatol.* 1977;97:453-5.
- 136.** Mascaro JM, Herrero C, Lecha M, *et al.* Uroporphyrinogen-decarboxylase deficiencies: Porphyria cutanea tarda and related conditions. *Semin Dermatol.* 1986; 5:115-24.
- 137.** Boffa MJ, Reed P, Weinkove C, Ead RD. Hypertrichosis as the presenting feature of porphyria cutanea tarda. *Clin Exp Dermatol.* 1995;20:62-4.
- 138.** Cam C, Nigogosyan G. Acquired toxic porphyria cutanea tarda due to hexachlorobenzene. Report of 348 cases caused by this fungicide. *JAMA.* 1963;183(2):88-91.
- 139.** Castanet J, Lacour JP, Perrin C, Guidoni JF, Ortonne JP. Sclerodermatous changes revealing porphyria cutanea tarda. *Acta Derm Venereol.* 1994;74(4):310-1.

-
- 140.** Krajnc I, Vizjak A, Hvala A, Jurcic V, Rozman B. The significance of histologic analysis of skin lesions in porphyria cutanea tarda. Light microscopy, electron microscopy, immunohistochemical and immunofluorescence analysis. *Wien Klin Wochenschr.* 1998;110(18):651-4.
- 141.** Doyle JA, Friedman SJ. Porphyria and scleroderma: A clinical and laboratorial review of 12 patients. *Australas J Dermatol.* 1983;24:109-14.
- 142.** Mascaro JM. Porphyria cutanea tarda: Clinical manifestations. *Curr Probl Dermatol.* 1991;20:79-90.
- 143.** Sigal M, Nahum HD, Crickx B, Bilet S, Mourier-Massicot CH, Belaich S. Porphyria cutanea tarda and scleroderma – Chance association or related disease: A case report. *Clin Exp Dermatol.* 1990;15:285-8.
- 144.** Enriquez de Salamanca R, Cocero E, Jimenez LC, Franco C, Valls MV. Electrophysiological abnormalities in porphyria cutanea tarda. *Clin Exp Dermatol.* 1985;10:438-43.
- 145.** Piñol-Aguadé J, Mascaro JM, Galy-Mascaro C, Apdevila JM. Sur quelques manifestations cutanées et oculaires peu connues des porphyries. *Ann Dermatol Syph.* 1969;96(3):265-70.
- 146.** Liu AC. Hepatotoxic reaction to chloroquine phosphate in a patient with previously unrecognized porphyria cutanea tarda. *West J Med.* 1995;162:548-51.

-
- 147.** Fakan F and Chlumska A. Demonstration of needle-shaped hepatic inclusions in porphyria cutanea tarda using the ferric ferricyanide reduction test. *Virchows Archives A Pathol Anat Histopathol.* 1987;411:365-8.
- 148.** James KA, Cortes JM, Paradinas FJ. Demonstration of cytoplasmic needle-like inclusions in hepatocytes with porphyria cutanea tarda. *J Clin Pathol.* 1980;33:899-900.
- 149.** Lefkowitz JH, Grossman ME. Hepatic pathology in porphyria cutanea tarda. *Liver.* 1983;3(1):19-29.
- 150.** Fracanzani AL, Taioli E, Sampietro M, Fatta E, Bertelli C, Fiorelli G, Fargion S. Liver cancer risk is increased in patients with porphyria cutanea tarda in comparison to matched control patients with chronic liver disease. *J Hepatol.* 2001;35(4):498-503.
- 151.** Salata H, Cortes JM, Enriquez de Salamanca R, Oliva H, Castro A, Kusak E, Carreno V, Hernandez Guio C. Porphyria cutanea tarda and hepatocellular carcinoma. Frequency of occurrence and related factors. *J Hepatol.* 1985;1(5):477-87.
- 152.** Bengtsson NO, Hardell L. Porphyrias, porphyrins and hepatocellular cancer. *Br J Cancer.* 1986;54:115-7.
- 153.** Lim HW, Mascaro JM. The porphyries and hepatocelular carcinoma. *Dermatol Clin.* 1995;13:135-42.
- 154.** Berman J, Braun A. Incidence of hepatoma in porphyria cutanea tarda. *Rev Czech Med.* 1962;8:290-5.

-
- 155.** Moreno FJ, Santoyo J, Bondia JA, Suarez MA, Jimenez M, Fernandez JL *et al.* Hepatocellular carcinoma associated to porphyria cutanea tarda and hepatitis C virus infection without cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig.* 1998;90(1):48-50.
- 156.** Stölzel U, Köstler E, Koszka C, Stöffler-Meilicke M, Schuppan D, Somasundaram R, Doss MO, Habermehl KO, Riecken EO. Low prevalence of hepatitis C virus infection in porphyria cutanea tarda in Germany. *Hepatology.* 1995;21(6):1500-3.
- 157.** Magnin PH, del C Batlle AM, de Xifra EA, Lenczner M, Parera VE, Stella AM. Acquired and inherited porphyria: clinical and biochemical features. *Int J Dermatol.* 1982;21(3):142-7.
- 158.** Siersema PD, ten Kate FJW, Mulder PGH, Wilson JHP. Hepatocellular carcinoma in porphyria cutanea tarda: frequency and factors related to its occurrence. *Liver.* 1992;12:56-61.
- 159.** Lisi P, Santeusano F, Lombardi G, Compagnucci P. Carbohydrate metabolism in porphyria cutanea tarda. *Dermatológica.* 1983;166(6):287-93.
- 160.** van Ginneken EE, Lutterman JA, Netten PM. Diabetes mellitus in connection with hereditary disease. *Ned Tijdschr Geneesk.* 1997;141:1230-4.
- 161.** Clemmensen O, Thomsen K. Porphyria cutanea tarda and systemic lupus erythematosus. *Arch Dermatol.* 1982;118(3):160-2.
- 162.** O'Reilly FM, O'Loughlin S, Murphy GM. Discoid Lupus Erythematosus and porphyria cutanea tarda. *J R Soc Med.* 1996;89:523-4.

-
- 163.** Guyotat D, Nicolas JF, Augey F, Fiere D, Thivolet J. Porphyria cutanea tarda after allogenic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Am J Hematol.* 1990;34:69-70.
- 164.** Magnus IA. *Dermatological Photobiology. Clinical and Experimental Aspects. Appendix II - Clinical Screening tests for excess porphyrins.* London: Blackwell Scientific Publications; 1976. p.253-5.
- 165.** Miller V, Malina L. High-performance liquid chromatographic analysis of biologically important porphyrins. *J Chromatogr.* 1978;145:290-4.
- 166.** Lim CK, Peters TJ. Urine and faecal porphyrin profiles by reversed-phase high-performance liquid chromatography in the porphyrias. *Clin Chim Acta.* 1984;139:55-63.
- 167.** Doss MO, Sassa S. The porphyrias. In: Noe DA, Rock RC. *Laboratory Medicine. The selection and Interpretation of Clinical Laboratory Studies.* Baltimore: Williams and Wilkins; 1994. p.535-53, p.902-3.
- 168.** To-Figueras J, Ozalla D, Mateu CH. Long-standing changes in the urinary profile of porphyrin isomers after clinical remission of porphyria cutanea tarda. *Ann Clin Lab Sci.* 2003;33(3):251-6.
- 169.** Lever WF, Schaumberg-Lever G. *Histopatologia da pele.* Tradução de Nelson Gomes de Oliveira. 7ª ed. São Paulo: Manole; 1991. p.419-22.
- 170.** Murphy GM, Hawk JLM, Magnus IA. Late-onset erythropoietic protoporphyria with unusual cutaneous features. *Arch Dermatol.* 1985;121:1309-12.

-
- 171.** Wick G, Hönigsmann H, Timpl R. Immunofluorescence demonstration of type IV collagen and a noncollagenous glycoprotein in thickened vascular basal membranes in protoporphyria. *J Invest Dermatol.* 1979;73(5):335-8.
- 172.** Ryan EA. Histochemistry of the skin in erythropoietic protoporphyria. *Br J Dermatol.* 1966;78:501-18.
- 173.** Baart de la Faille-Kuyp EH, Cormane RH. The occurrence of certain serum factors in the dermal-epidermal junction and vessel walls of the skin in lupus erythematosus and other (skin) diseases. *Acta Derm Venereol (Stockh).* 1968;48(6):578-88.
- 174.** Perrot H, Schmitt D, Thivolet J, Leung J, Germain D. Étude ultrastructurale de la bulle dans les porphyries cutanées hépatiques. *Bull Soc Fr Derm Syph.* 1972;79:12-8.
- 175.** Nagato N, Nonaka S, Ohgami T, Murayama F, Yamashita K, Irifune H, *et al.* Mechanism of blister formation in porphyria cutanea tarda. *J Dermatol (Tokyo).* 1987;14:551-5.
- 176.** Caputo R, Berti E, Gasparini G, Monti M. The morphologic events of blister formation in porphyria cutanea tarda. *Int J Dermatol.* 1983;22(8):467-72.
- 177.** Yaoita H, Foidart JM, Katz SI. Localization of the collagenous component in skin basement membrane. *J Invest Dermatol.* 1978;70:191-3.

-
- 178.** Hintner H, Stingl G, Schuler G, Fritsch P, Stanley J, Katz SI, Wolff K. Immunofluorescence mapping of antigenic determinants within the dermal-epidermal junction in mechanobullous diseases. *J Invest Dermatol.* 1981;76(2):113-8.
- 179.** Foidart JM, Bere EW, Yaar M, Rennard SI, Gullino M, Martin GR, Katz SI. Distribution and immunoelectron microscopic localization of laminin, a noncollagenous basement membrane glycoprotein. *Lab Invest.* 1980;42(3):336-42.
- 180.** Murray J, Stingl G, Kleinman H, *et al.* Epidermal cells adhere preferentially to type IV (basement membrane) collagen. *J Cell Biol.* 1979;80:197-202.
- 181.** Foidart J, Bere E, Gullino M, *et al.* Nature localization and function of type IV collagen and laminina in basement membranes (Abstract). *Clin Res.* 1987;27:241 (Abstract em MEDLINE 1987).
- 182.** Burgeson RE, Christiano AM. The Dermal-epidermal Junction. *Curr Opin Cell Biol.* 1998;9:651-8.
- 183.** Gammon WR, Briggaman RA, Inman AO, *et al.* Differentiating anti-lamina lucida and anti-sublamina densa anti-BMZ antitibodies by indirect immunofluorescence on 1.0 M sodium chloride-separated skin. *J Invest Dermatol.* 1984;82:139-44.
- 184.** Hrabovsky SL, Elmetts CA. Pathogenesis, characteristics, diagnosis, and treatment of pseudoporphyria. *Curr Opin Dermatol.* 1996;3:105-10.
- 185.** Poh-Fitzpatrick MB. Porphyria, pseudoporphyria, pseudo-pseudoporphyria...? *Arch Dermatol.* 1986;122:403-4.

-
- 186.** Roberts AG, Elder GH, De Salamanca R, Herrero C, Lecha M, Mascaro JM. A mutation (G281E) of the human uroporphyrinogen decarboxylase gene causes both hepatoerythropoietic porphyria and overt familial porphyria cutanea tarda: Biochemical and genetic studies on Spanish patients. *J Invest Dermatol.* 1995;104:500-2.
- 187.** Moran-Jimenez MJ, Ged C, Romana M, *et al.* Uroporphyrinogen decarboxylase complete gene sequence and molecular study of three families with hepatoerythropoietic porphyria. *Am J Hum Genet.* 1996;58:712-21.
- 188.** Ramsay CA. Drug induced pseudoporphyria. *J Rheumatol.* 1991;18:799-800.
- 189.** Varma S, Lanigan SW. Pseudoporphyria caused by nabumetone. *Br J Dermatol.* 1998;138:549-50.
- 190.** Gilchrest B, Rowe JW, Mihm MC Jr. Bullous dermatosis of hemodialysis. *Ann Intern Med.* 1975;83:480-3.
- 191.** Anderson CD, Gibson IM, Rossi E. Actinic damage in the skin of patients on haemodialysis for chronic renal failure. *Photodermatol.* 1988;5:15-24.
- 192.** Korting GW. Über Porphyria-cutanea tarda-artige Hautveränderungen bei Langzeithämodialysepatienten. *Dermatologica.* 1975;150:58-61.
- 193.** Siersema PD, de Rooij FW, Edixhoven-Bosdijk A, Weimar W, Wilson JHP. Heme synthesis in chronic renal failure: The effects of hemodialysis, peritoneal dialysis and erythropoietin treatment. *Nephron.* 1995;71:297-302.

-
- 194.** Gebril M, Weinkove C, Ead R, McDonald K, Morton R. Plasma porphyrins in chronic renal failure. *Nephron*. 1990;55:159-63.
- 195.** Day RS, Eales L. Porphyrins in chronic renal failure. *Nephron*. 1980;26:90-5.
- 196.** Albitar S, Bourgeon B, Chuet C. Porphyria cutanea tarda, hepatitis C infection, and iron overload in a patient on hemodialysis. *Am J Med*. 1999;106(2):266-7.
- 197.** Ramsay CA, Magnus IA, Turnbull A, Baker H. The treatment of porphyria cutanea tarda by venesection. *Q J Med*. 1974;43(169):1-24.
- 198.** Rocchi E, Gibertini P, Cassanelli M *et al*. Iron removal therapy in porphyria cutanea tarda: Phlebotomy versus slow subcutaneous desferrioxamine infusion. *Br J Dermatol*. 1986;114:621-9.
- 199.** Ashton RE, Hawk JLM, Magnus IA. Low-dose oral chloroquine in the treatment of porphyria cutanea tarda. *Br J Dermatol*. 1981;111:609-13.
- 200.** Kordač V, Jirsa M, Kotal JP, Kalab M, *et al*. Agents affecting porphyrin formation and secretion: implications for porphyria cutanea tarda treatment. *Semin Hematol*. 1989;26:16-23.
- 201.** Stathers GM. Porphyrin-binding effect of cholestyramine. Results of in vitro and in vivo studies. *Lancet*. 1966;2:780-3.
- 202.** Monastirli A, Georgiou S, Bolsen K, Pasmuzzi E, *et al*. Treatment of porphyria cutanea tarda with oral thalidomide. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 1999;12(6):305-11.

-
- 203.** Ippen H. Allgemeinsymptome der späten Hautporphyrie (Porphyria Cutanea Tarda) als Hinweise für deren Behandlung. Deutsche Méd Wochenschr. 1961; 86:127-33.
- 204.** Rocchi E, Gibertini P, Cassanelli M, Pietrangelo A, Borghi A, Ventura E. Serum ferritin in the assessment of liver iron overload and iron removal therapy in porphyria cutanea tarda. J Lab Clin Méd. 1986;107(1):36-42.
- 205.** Vautier G, Murray M, Olnyk JK. Hereditary haemochromatosis: detection and management. Med J Aust. 2001;175:418-21.
- 206.** Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. N Engl J Méd. 1974;290:1213-6.
- 207.** Ratnaike S, Blake D, Campbell D, Cowen P, Varigos G. Plasma ferritin levels as a guide to the treatment of porphyria cutanea tarda by venesection. Australas J Dermatol. 1988;29:3-8.
- 208.** Malina L, Chlumsky J. A comparative study of the results of phlebotomy therapy and low-dose chloroquine treatment in porphyria cutanea tarda. Acta Derm Venereol. 1981;61(4):346-50.
- 209.** Cainelli T, di Padova C, Marchesi L, *et al.* Hydroxychloroquine versus phlebotomy in treatment of porphyria cutanea tarda. Br J Dermatol. 1983;108:593-600.
- 210.** Malkinson FD, Levitt L. Hydroxychloroquine treatment of porphyria cutanea tarda. Arch Dermatol. 1980;116:1147-50.
- 211.** London ID. Porphyria cutanea tarda: Report of a case successfully treated with chloroquine. Arch Dermatol. 1957;75:801-3.

-
- 212.** Kordac V, Papezová R, Semrádová M. Chloroquine in the treatment of porphyria cutanea tarda. *N Eng J Med.* 1977;296(16):949.
- 213.** Valls V, Ena J, Enriquez de Salamanca R. Low-dose oral chloroquine in patients with porphyria cutanea tarda and low-moderate iron overload. *J Dermatol Sci.* 1994;7(3):169-75.
- 214.** Freeseemann A, Frank M, Sieg I, Doss MO. Treatment of porphyria cutanea tarda by the effect of chloroquine on the liver. *Skin Pharmacol.* 1995;8:156-61.
- 215.** Chlumska A, Chlumska J, Malina L. Liver changes in porphyria cutanea tarda patients treated with chloroquine. *Br J Dermatol.* 1980;102:261-6.
- 216.** Taljaard JJF, Shanley BC, Stewart-Wynne EG, Deppe WM, Joubert SM. Studies on low dose chloroquine therapy and the action of chloroquine in symptomatic porphyria. *Br J Dermatol.* 1972;87:261-9.
- 217.** Goerz G, Bolsen K, Merk H. Influence of chloroquine on the porphyrin metabolism. *Arch Dermatol Res.* 1985;277(2):114-7.
- 218.** Scholnick PL, Epstein JH, Marver HS. The molecular basis of the action of chloroquine in porphyria cutanea tarda. *J Invest Dermatol.* 1973;61:226-32.
- 219.** Seubert S, Seubert A, Stella AM, Guzman H, Batlle A. Ergebnisse bei der Behandlung der Porphyria cutanea tarda mit Aderlass und Resorchin. *Z Hautkr.* 1990;65:223-5.

-
- 220.** Sinclair PR, Gorman N, Shedlofsky SI, Honsinger CP, Sinclair JF *et al.* Ascorbic acid deficiency in porphyria cutanea tarda. J Lab Clin Med. 1997; 130(2):197-201.
- 221.** Sinclair PR, Gorman N, Walton HS, Bement WJ, Jacobs JM, Sinclair JF. Ascorbic acid inhibition of cytochrome P450-catalyzed uroporphyrin accumulation. Arch Biochem Biophys. 1993;304:464-70.
- 222.** Herbert V, Shaw S, Jayatilleke E. Vitamin C-driven free radical generation from iron. J Nutr. 1996;126:1213S-20S.
- 223.** Horie Y, Tanaka K, Okano J, Ohgi N, *et al.* Cimetidine in the treatment of porphyria cutanea tarda. Intern Med. 1996;35(9):717-9.
- 224.** Okano J, Horie Y, Kawasaki H, Kondo M. Interferon treatment of porphyria cutanea tarda associated with chronic hepatitis type C. Hepatogastroenterology. 1997;44(14):525-8.
- 225.** Takikawa H, Yamazaki R, Shoji S, Miyake K, Yamanaka M. Normalization of urinary porphyrin level and disappearance of skin lesions after successful interferon therapy in a case of chronic hepatitis C complicated with porphyria cutanea tarda. J Hepatol. 1995;22:249-50.
- 226.** Sheikh MY, Wright RA, Burruss JB. Dramatic resolution of skin lesions associated with porphyria cutanea tarda after interferon-alpha therapy in a case of chronic hepatitis C. Dig Dis Sci. 1998;43(3):529-33.
- 227.** Roeckel IE. Commentary: iron metabolism in Hepatitis C infection. Ann Clin Lab Sci. 2000;30:163-5.

-
- 228.** Zappacosta AR, Perras ST, Bell A. Weekly subcutaneous recombinant human erythropoietin corrects anemia of progressive renal failure. *Am J Med.* 1991;91(3):229-32.
- 229.** Fontanellas A, Herrero JA, Coronel F, Santos JL, Morán JM, Barrientos A, Enriques De Salamanca R. Effects of recombinant human erythropoietin on porphyrin metabolism in uremic patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 1996;7:774-9.
- 230.** Sarkell B, Patterson JW. Treatment of porphyria cutanea tarda of end stage renal disease with erythropoietin. *J Am Acad Dermatol.* 1993;29(3):499-500.
- 231.** Poux JM, Demontis R, Cadranel JF, Ghazali A *et al.* Porphyria cutanea tarda in a dialyzed patient with hepatitis C virus infection: dramatic efficacy of small repeated phlebotomies. *Am J Méd.* 1997;103(2):163-4.
- 232.** Erslev AJ, Besarab A. Erythropoietin in the pathogenesis and treatment of the anemia of chronic renal failure. *Kidney Int.* 1997;51:622-30.
- 233.** Shieh S, Cohen JL, Lim HW. Management of porphyria cutanea tarda in the setting of chronic renal failure: A case report and review. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42:642-52.
- 234.** Ewing S, Crosby DL. Renal Transplantation for Porphyria Cutanea Tarda. *N Engl J Med.* 1997;336(11):811.
- 235.** Gross U, Hoffmann GF, Doss MO. Erythropoietic and hepatic porphyrias. *J Inherit Metab Dis.* 2000;23(7): 641-61.

-
- 236.** Rimington C, Magnus IA, Ryan EA, Cripps DJ. Porphyria and photosensitivity. *Q J Med.* 1967;36:29.
- 237.** Maier JM, Ungaro PC. Porphyria cutanea tarda in association with multiple myeloma. *N C Med J.* 1984;45(10):638-9.
- 238.** Au WY, Tam SCF, Ho KM, Kwong YL. Hypertrichosis due to porphyria cutanea tarda associated with blastic transformation of myelofibrosis. *Br J Dermatol.* 1999;141:931-55.
- 239.** Lai CK, Lam CW, Chan YW. High-performance thin-layer chromatography of free porphyrins for diagnosis of porphyria. *Clin Chem* 1994;40(11Pt 1):2026-9.
- 240.** Seubert S, Seubert A, Rumpf KW, Kiffe H. A porphyria cutanea tarda-like distribution pattern of porphyrins in plasma, hemodialysate, hemofiltrate and urine of patients on chronic hemodialysis. *J Invest Dermatol.* 1985;85(2):107-9.
- 241.** Gibbs NK, Traynor N, Ferguson J. Biochemical diagnosis of the cutaneous porphyrias: five years experience of plasma spectrofluorimetry [Abstract]. *Br J Dermatol.* 1995;133:18. (Abstract em MEDLINE 1995)
- 242.** Bickers DR, Pathak MA. The hepatobiliary system and the skin. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, *et al.* *Dermatology in General medicine.* 4th ed. New York: McGraw-Hill; 1995. p.2031-32.
- 243.** Lim H. Pathophysiology of cutaneous lesions in porphyrias. *Semin Hematol.* 1989;26:114-9.