

**SOCIEDADE PORTUGUESA
DE ALERGOLOGIA E
IMUNOLOGIA CLÍNICA****DIRECÇÃO****Presidente**

Dr. Celso Chieira

Vice-PresidentesProf. Dr. Segorbe Luís
Prof. Dr. A.G. Palma-Carlos
Prof. Dr. Mário Queirós**Secretário-Geral**Dr.^a Maria da Graça Castel-Branco**Secretário-Geral Adjunto**

Dr. Mário Loureiro

Tesoureiro

Dr. Rosado Pinto

ASSEMBLEIA GERAL**Presidente**

Dr. Pinto Mendes

Vice-Presidente

Dr. Libério Ribeiro

SecretárioDr.^a Ana Maria Todo-Bom**COMISSÃO VERIFICADORA DE
CONTAS**Dr. Figueiredo Pinto
Dr.^a Natália Ferreira
Dr. Carlos Loureiro

Foi com muita satisfação que acedemos ao honroso convite da Direcção da Revista Portuguesa de Imunoalergologia para escrever este Editorial.

Satisfação essa por podermos confirmar as excelentes relações entre a Direcção do Colégio da Ordem dos Médicos, a Direcção da Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica e do seu órgão oficial, cuja interligação e complementaridade tão necessárias são para a consolidação e prestígio da Especialidade.

Especialidade ainda jovem, a Imunoalergologia em Portugal, oriunda da Medicina Interna, Pediatria e Pneumologia, tem sofrido nos últimos anos, como de resto acontece em todo o mundo, um grande incremento ao nível dos conhecimentos e do apoio assistencial. Contudo, no nosso país, e numa estranha contradição, a uma maior procura de doentes, e a uma evidente incapacidade de resposta assistencial, aparece um reduzido quadro de Especialistas Hospitalares e um diminuto número de médicos em formação (4 vagas hospitalares para todo o país nos últimos 2 anos). Esta real contradição leva na prática a que, por exemplo, em organismos do Ministério da Saúde, incluindo Hospitais, se encontrem como responsáveis por sectores de Imunoalergologia, colegas de outras Especialidades, sem a qualificação adequada.

Paralelamente, verifica-se um aumento preocupante, quer do número de Laboratórios directamente ligados à venda de vacinas de imunoterapia específica, bem como um aumento de prescrições por médicos não ligados à Especialidade sem formação adequada e com os riscos graves que todos nós conhecemos, para a saúde pública, dado não haver legislação adequada no nosso país nesta área.

Todos estes pontos acima referidos, e como compete a um Colégio da Especialidade, foram enviadas exposições, em 1993 e 1994, ao actual Presidente do Conselho Nacional Executivo pela anterior Comissão Instaladora e cujas linhas orientadoras a actual Direcção do Colégio perfilha e continuará a prosseguir.

Também prioridades a curto prazo, são a alteração do regulamento do Regimento do Colégio de Imunoalergologia, de acordo com as realidades actuais, nomeadamente a titulação única e a alteração dos parâmetros de formação dos Internos da Especialidade, cujo projecto foi enviado para publicação em Setembro de 1993 pela anterior Comissão Instaladora, que foi transscrito na última edição da Revista Portuguesa de Imunoalergologia, e que poderá eventualmente ainda sofrer algumas alterações.

Finalmente é intenção desta Direcção fazer-se representar em todas as reuniões da União Europeia dos Médicos Especialistas defendendo os interesses da Imunoalergologia Portuguesa.

São ainda objectivos pressionar os órgãos directivos da Ordem dos Médicos, no sentido de defender os interesses da Especialidade, de fornecer aos membros do Colégio, bem como à Direcção da S.P.A.I.C., todos os elementos necessários à compreensão das deliberações mais importantes a tomar, e ainda estabelecer com os Colégios e Sociedades Científicas das Especialidades que nos estão mais próximas um espaço de diálogo que transforme intenções em propostas de trabalho e colaboração, tendo em vista os interesses comuns nesta área da Medicina.

Para que estes projectos se concretizem e se afirmem, precisamos da colaboração e apoio daqueles que a esta Especialidade estão ligados e em lugar de destaque, da Revista Portuguesa de Imunoalergologia, órgão científico de prestígio consolidado e cuja acção em prol da Imunoalergologia se tem afirmado da maior relevância.



DR. J. E. ROSADO PINTO

Linfócitos e a Reacção Alérgica Cutânea Tardia em Humanos

L. TABORDA BARATA*, S. R. DURHAM**

SUMÁRIO

Estudos imunológicos têm vindo a apontar para o facto de a reacção alérgica tardia induzida por alergenos poder representar um tipo específico de hipersensibilidade retardada na qual linfócitos T e eosinófilos detêm um papel importante. Estudos com a técnica de hibridização *in situ* demonstraram neste tipo de reacção uma sobreexpressão de mRNA para citoquinas do tipo Th2 (IL-4 e IL-5). As propriedades biológicas destas citoquinas incluem a regulação de IgE e a promoção de eosinofilia tecidual. Qual destes fenómenos será mais importante em termos de alergia ainda é um campo a explorar. A cinética de expressão destas citoquinas na reacção alérgica tardia na pele é semelhante à da resposta macroscópica, atingindo o máximo entre as 6 e as 24 horas após contacto com alergeno. A maior parte das citoquinas Th2 parece ter origem em células T. Corticosteróides (na mucosa nasal e brônquica e na pele) inibem a expressão de mRNA para IL-4 e/ou IL-5. Por outro lado, a imunoterapia parece aumentar a produção de citoquinas Th1, particularmente interferão-gama. Uma terapêutica mais orientada e específica destes aspectos celulares referidos (p.e. imunoterapia específica de células T, anticorpos monoclonais anti-IL-5, antagonistas dos receptores para IL-4 e/ou IL-5, receptores solúveis de IL-4 e/ou IL-5 ou mesmo interferão-gama ou IL-12 em administração tópica) poderá ser tão eficaz quanto os próprios corticosteróides e, possivelmente, ter menos efeitos secundários.

SUMMARY

LYMPHOCYTES AND THE HUMAN ALLERGEN-INDUCED LATE PHASE RESPONSE

Immunological studies have confirmed that human cutaneous allergen-induced late responses represent a specialized form of cell-mediated hypersensitivity in which T lymphocytes and eosinophils are prominent. "In situ" hybridization studies have shown preferential expression of mRNA for so-called "Th2-type" cytokines. The biological properties of these cytokines include IgE regulation and promotion of local tissue eosinophilia. Which is more important (IgE or eosinophils) is unknown. The time course of release of these cytokines parallels the evolution of the LPR, peaking at around 6 to 24 hours. The majority of Th2 cytokines appear to come from T cells. Corticosteroids (in the nose, lung and skin) inhibit the expression of mRNA for IL-4 and/or IL-5. In contrast, immunotherapy apparently upregulates Th1-type cytokines, particularly interferon-gamma. More precise therapy directed at these events (e.g. T cell-specific I. T., anti-IL-5 monoclonal antibodies, IL-4 and/or IL-5 receptor antagonists or soluble receptors, or even topical interferon-gamma or IL-12) may possibly be as effective as corticosteroids, with hopefully fewer side effects.

INTRODUCTION

This review will briefly describe the evolution of concepts concerning the pathophysiology of the allergic late phase reaction (LPR) in human skin and the possible role of T cells in this process. The study of the cutaneous LPR is of great interest since the skin provides a good model for studying basic molecular changes in allergic inflammation and, to a

* Clinical Research Fellow & Honorary Registrar JNICT grant recipient.

** Senior Lecturer & Honorary Consultant Physician

Dept. Allergy & Clin. Immunology

National Heart & Lung Institute,

Royal Brompton Hospital, London, UK

certain extent, may reflect the allergic situation that occurs in less accessible target organs such as the nose or bronchi.

TLYMPHOCYTES IN NORMAL HUMAN SKIN

T cells are an important component of human skin. Although a few intraepidermal T cells can be detected by immunocytochemistry (ICC),¹ most T lymphocytes are located in the dermis,² where they have a preferential perivascular location, forming the dermal perivascular unit - D.P.U.³ (Fig. 1) Most of these T lymphocytes are CD4+³, express α and β chains of the T cell receptor (TCR), and have a "memory"-related phenotype.⁴ It is known that migration of peripheral blood T cells into target organs is directed by the interaction between adhesion molecules on the lymphocyte surface (homing receptors) and their ligands on vascular endothelium (addressins). In normal human skin, 43% of T cells express the cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA), as defined by the monoclonal antibody HECA-452, whereas in non-cutaneous tissues the percentage of HECA-452+ T cells averages 5%,⁵ and 16% in peripheral blood T cells.⁶ CLA interacts with E-selectin (CD62E), expressed on cytokine-activated endothelial cells,⁶ thus being one of the mechanisms that allows T cells migration into the skin.

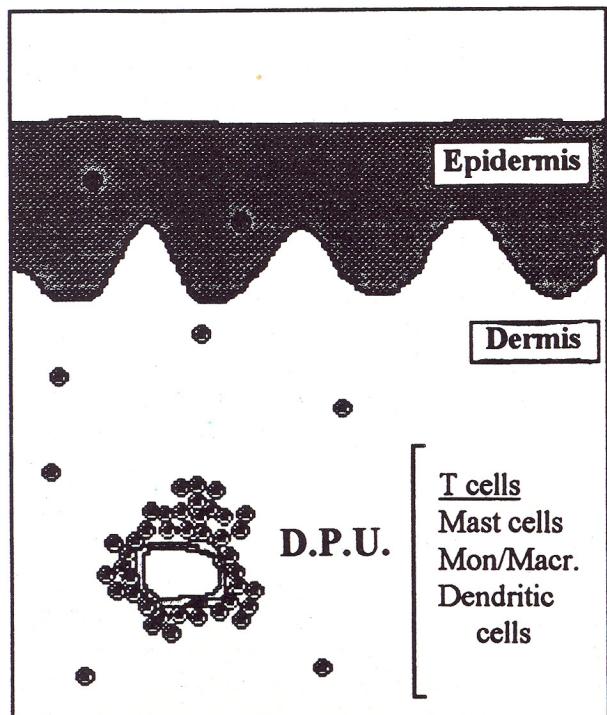


Figure 1

THE HUMAN CUTANEOUS ALLERGIC LATE-PHASE REACTION

Early studies

Charles Blackley (1873) was the first to describe the phenomenon of the allergic late phase reaction in the skin.⁷ Being a hay fever sufferer, he induced a reaction in his forearm by abrading the skin and placing a grass pollen solution onto it. He developed an itching weal within minutes, which later developed into a swollen and indurated area that attained its maximum in 6 hours and which subsided in 48 hours - the late phase reaction (LPR).

Cooke, in 1922, injected himself with a horse dander-containing solution to which he was allergic. He then described the macroscopic features of the early phase reaction (EPR), consisting of a weal and flare response, and the later, more indurated lesion that was still present 24 hours after allergen challenge (the LPR).⁸ Kline and collaborators took the next step in 1932, by analysing the histological reaction underlying the LPR.⁹ These authors described the cellular infiltrate (eosinophils, neutrophils, basophils) and mentioned the presence of a mononuclear cell infiltrate. At this time, the only way to discriminate between different cell types was through routine staining, which did not allow the differentiation between monocytes and lymphocytes in tissues.

Although the LPR gained some attention after 1922, particularly in terms of histopathological description, the underlying pathophysiological mechanisms remained unknown. A growing interest in the possible classification of the LPR in one of the types of hypersensitivity described by Gell and Coombs¹⁰ motivated some investigators to dissect the inflammatory reaction further. Noticing that most patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) or with extrinsic allergic alveolitis (EAA) developed a dual "allergic" reaction (EPR and LPR) to *Aspergillus* antigens, Pepys et al. began in 1969 a systematic study of the cutaneous LPR. They collected biopsies for immunocytochemistry (ICC) after intradermal challenge.¹¹ These authors found high levels of IgG- and C3a/C5a-bearing immune complexes at the sites of inflammatory reactions. This suggested that the LPR might be a type III hypersensitivity, similar to the Arthus reaction. The fact, however, that the patients used for this study suffered from ABPA or EAA, made the interpretation of the LPR results very difficult since these diseases are associated with a type III pathology. The idea that the LPR might be caused by such a mechanism was, however, once

again put forward by Taylor and Shivalkar (1971), who found a relatively abundant complement deposition in arterioles, in the cutaneous LPR of allergic patients.¹²

IgE and the LPR

It was not until the discovery of IgE¹³ and its role in the early phase reaction of cutaneous hypersensitivity to allergens¹⁴, that new steps in clarification of the mechanisms underlying the LPR were taken. In 1973, Dolovich et al. supplied the first indication that IgE might indeed be an important factor for the development of the LPR.¹⁵ Following injection of anti-IgE polyclonal antibodies (or their F (ab')₂ fragments) intradermally, they were able to detect LPR that were macroscopically and microscopically similar to those induced by allergen. These authors also described the absence of complement or Ig deposition and were the first to identify the presence of lymphocytes at the inflammatory sites in addition to infiltration by eosinophils.

In 1976, Solley et al. confirmed the importance of IgE for the induction of the LPR, thereby implicating mast cells and basophils in the pathogenesis of this process. They were able to transfer the late cutaneous response (as well as the early response) using serum from an allergic donor to a non-allergic recipient. Passive transfer was lost when the serum was treated in various ways (heat, passing over a chromatographic column containing anti-IgE, etc.) which removed IgE antibody from donor serum. These authors also stressed that lymphocytes were an important cellular component of the inflammatory infiltrate.¹⁶ Again, no significant complement or Ig deposition was found.

The idea that the LPR could be a form of type III hypersensitivity was gradually being cast away, since most authors could not find Ig or complement deposition. Frew and Kay, in 1991, studying post-challenge skin biopsies from twenty-four atopic patients with sensitivity to common aeroallergens again could not detect significant complement or Ig deposition.¹⁷

Cellular infiltration in the LPR

Following development of a wide range of polyclonal and monoclonal antibodies, attention was focused on cells that infiltrated the LPR. In an attempt to investigate the relationship between the different cells described in the LPR (namely eosinophils, neutrophils and mononuclear cells),

Frew and Kay investigated the cutaneous LPR in atopic patients. Skin biopsies were collected at 6, 24 and 48 hours after allergen challenge. Increased numbers of T lymphocytes, most of which were CD4+, were detected by immunocytochemistry at the site of the LPR, at all time points. A small percentage of the infiltrating cells expressed interleukin-2 receptor (IL-2R+ or CD25+ cells), an indication of cell activation. Activated eosinophils were also detected in most biopsy specimens. At 24 hours after allergen challenge, there was a strong correlation between the number of CD4+ cells and activated eosinophils, which suggested an interaction between T cells and eosinophils, in the evolution of the cutaneous LPR.¹⁸ In view of the fact that the IL-2 receptor (CD25) can be expressed by activated T-and non-T cells, Hamid et al performed double staining ICC for a pan-T cell marker (CD3) and CD25.¹⁹ The results obtained showed that most CD25+ cells were also CD3+, suggesting that most activated LPR-infiltrating cells were indeed T lymphocytes. Although only about 10% of CD3+ cells were also CD25+, the potent biological actions of these cells suggest that even small numbers of activated T cells can intervene in the modulation of inflammatory processes.²⁰

T cells expressing the γ and δ chains of the TCR are present in the human dermis and epidermis,¹ but their relevance to the cutaneous LPR is unknown at present.

Memory T lymphocytes in the cutaneous LPR

Leukocytes express a membrane glycoprotein (CD45) which may modulate the transduction of activating signals.^{21,22} Expression of different isoforms of the restricted epitopes of CD45 allows the subdivision of T lymphocytes into two subtypes: CD45RA+ and CD45R0+. CD45R0+ T cells are considered to be "memory" T cells, since they express higher levels of adhesion molecules,²³ respond better to recall antigens,²⁴ and have a preferential recirculation pattern to target organs rather than to lymph nodes.²⁵ It therefore became important to characterise the subtype of T cells in the skin and whether the subtypes changed during allergen challenge. Bos et al showed, in 1989, that most CD4+ T cells in normal skin were CD45R0+,⁴ and Frew et al. demonstrated, in 1991, that CD45R0+/CD4+ cells were significantly increased 6 and 24h after intradermal allergen challenge in atopic patients.²⁶

T cells and cytokines in the cutaneous LPR

Activated T cells, particularly CD45R0+ cells, are capable of secreting a wide range of cytokines, which allow them to perform different functions. In 1987, Mosmann et al showed that murine T cells could be divided into two types according to their cytokine secretory pattern, *in vitro*. Thelper 1 (Th1) cells produced IL-2 and IFN γ but not IL-4. In contrast, Th2 cells could produce IL-4 but not IFN γ or IL-2.²⁷ It was later shown that "*in vitro*" Th1 and Th2 cells have a wider range of cytokine-secreting capacities. Th2 cells can, for instance, also secrete IL-5.²⁸ Wieringa et al²⁹ and Romagnani et al³⁰ then extended these observations to humans, showing that atopic patients apparently have clonotypic imbalances between allergen-specific Th1 and Th2 cells, with a predominance of the latter subtype *in vitro*.

In humans, both Th1 and Th2 cells can secrete IL-3 and GM-CSF,²⁸ IL-13³¹ and IL-10,³² although the levels detected in the supernatants of *in vitro* cultures of each type of cell have been variable.

In order to investigate whether T cell-derived cytokines might be involved in the LPR, Kay et al used "*in situ*" hybridization to study cytokine mRNA in skin biopsies collected 24h after allergen challenge. These authors were the first to show that in the cutaneous LPR most of the lymphocytes present express mRNA for IL-3, IL-4 and GM-CSF, and not for IL-2 or IFN γ .³³ Indeed significant correlations were seen between IL-5 mRNA+ cells and IL-3, IL-4 and GM-CSF mRNA+ cells, at 24 hours. This indicates that most T cells infiltrating the LPR have a Th2-type of cytokine pattern and suggests that these T cells may modulate the involvement of other cells in the allergic process through the cytokines secreted (Table 1). IL-3 and GM-CSF, for instance, can act as histamine releasing factors for basophils.³⁴ IL-5, on the other hand, is known to be moderately chemotactic for eosinophils,³⁵ to promote the differentiation of mature eosinophils from precursor cells,^{36,37} to prolong eosinophil survival,³⁸ to enhance eosinophil adhesion to

endothelial cells³⁹ and to prime eosinophils for increased functional activity.⁴⁰ In addition, in a murine *in vivo* model, intradermal injection of Th2 clones into naive syngeneic mice induced an inflammatory swelling that peaked at 6 hours.⁴¹ This reaction was abrogated by administration of anti-IL-4 monoclonal antibodies (mAb), thereby suggesting that IL-4 may also be of relevance for the inflammation in the LPR. In fact, IL-4 can act *in vitro* as a T cell growth factor⁴² and is capable of inducing the expression of the adhesion molecule vascular cell adhesion molecule - 1 (VCAM-1; CD106) on endothelial cells.⁴³ This may allow eosinophils and T cells, which express the ligand for VCAM-1 (VLA-4 or very late activation antigen 4; CD49d) to migrate into sites of allergic inflammation.

Finally, IL-4 and the recently described IL-13, secreted by Th2 cells induce isotype switching in favour of IgE secretion *in vitro*.^{44,45}

Although some of these cytokines may be produced by other cells such as mast cells or basophils (IL-4,⁴⁶ IL-5,⁴⁷) or eosinophils (IL-3, GM-CSF,⁴⁸

TABLE 1

Cytokine	Target cells	<i>In vitro</i> actions
IL-3/IL-5/ GM-CSF	Eosinophils	<ul style="list-style-type: none"> - growth, maturation and differentiation - priming, activation and mediator release - enhanced viability - terminal differentiation (IL-5) - activation and histamine release - IgE-dependent IL-4 production - increased integrin expression (CD18) - co-factor for IgE synthesis (IL-5)
	Basophils	<ul style="list-style-type: none"> - activation and histamine release - IgE-dependent IL-4 production - increased integrin expression (CD18) - co-factor for IgE synthesis (IL-5)
	B cells	<ul style="list-style-type: none"> - terminal differentiation (IL-5) - activation and histamine release - IgE-dependent IL-4 production - increased integrin expression (CD18) - co-factor for IgE synthesis (IL-5)
IL-4	T cells	<ul style="list-style-type: none"> - differentiation towards Th2-type cells - T cell growth factor - B cell growth factor - Ig switch to IgE - increases HLA-II and CD23 expression - increases IL-6 production - increases HLA-II and CD23 expression - increases VCAM-1 expression
	B cells	<ul style="list-style-type: none"> - terminal differentiation - amplification of IgE production - co-factor for early steps of activation
IL-6	Monocytes	<ul style="list-style-type: none"> - terminal differentiation - amplification of IgE production - co-factor for early steps of activation
	Endothelial cells	<ul style="list-style-type: none"> - terminal differentiation - amplification of IgE production - co-factor for early steps of activation
IL-10	B cells	<ul style="list-style-type: none"> - growth factor - inhibits HLA-II expression (and APC function) - inhibits cytokine secretion
	Macrophages	<ul style="list-style-type: none"> - growth factor - inhibits HLA-II expression (and APC function) - inhibits cytokine secretion
IL-13	B cells	<ul style="list-style-type: none"> - Ig switch to IgE - increases HLA-II and CD23 expression - growth factor
	Mon./Macrophages	<ul style="list-style-type: none"> - increases HLA-II and CD23 expression
RANTES	Eosinophils Basophils T cells	<ul style="list-style-type: none"> - chemoattraction and activation - histamine release - chemoattractant for "memory" T cells

IL-5⁴⁹), the fact that atopic patients generally have high levels of IgE specific for one or relatively few allergens suggests that an imbalance at the level of allergen-specific cells (particularly T cells) may be critical for the development of allergic responses.

T cell migration into LPR sites

The process of T cell migration into the skin is enhanced in inflammatory situations. For example, the percentage of HECA-452+ T cells (CLA+) in cutaneous inflammation, the percentage hardly ever increases above 5%. Since CLA is preferentially expressed on "memory" T cells and has been shown to interact with E-selectin on activated endothelial cells,⁶ this suggests that T cell: endothelial cell interactions are important for homing of T cells into specific target organs, by being decisive in the first step of transendothelial migration. Since E-selectin is also expressed in other organs, other specific interactions may also be involved. To our knowledge, expression of HECA-452 has not been studied in the LPR infiltrate.

Other interactions between T cells and the endothelium (through selectins and integrins) may be involved in the early steps of T cell transendothelial migration into normal and, particularly, inflamed skin. Integrin-mediated interactions are an important second step in migration into tissues. T cells express CD11/CD18 (particularly LFA-1), which binds the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and ICAM-2 (CD102) on endothelial cells.^{50,51} Another integrin, the very late activation antigen-4 (VLA-4; CD49d) interacts with the vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1; CD106), thereby enabling T cells to traverse the endothelium.⁵² Inflammation in the skin upregulates the expression of adhesion molecules on the local endothelium,⁵³ thereby amplifying infiltration of cells into the tissue.

T cell interactions with other cells and the extracellular matrix in cutaneous LPR

T cells possess surface molecules that bind ligands expressed on extracellular matrix (ECM) proteins in the skin. These interactions are important for the intra-tissue migration and preferential localization of T cells in the dermis. As shown in Fig. 2, several integrins on T cells bind epitopes on collagen and fibronectin.⁵⁴ Interestingly, the perivascular ECM in the dermis appears to have the highest fibronectin content in adult human skin.⁵⁴

In addition, T cells can also establish direct contact with cells that can act as antigen-presenting cells (APC), such as Langerhans cells and keratinocytes,^{55,56} namely through interactions between LFA-1, the T cell receptor and CD2 (on T cells) and ICAM-1, HLA-DR and LFA-3, respectively (on keratinocytes).⁵⁷

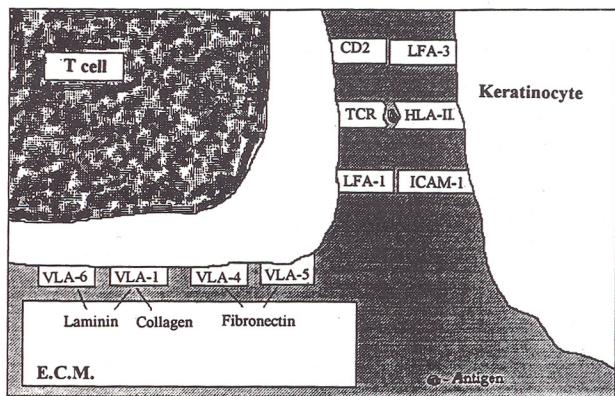


Fig. 2

Cell-mediated type of hypersensitivity and cutaneous LPR

The role of type IV hypersensitivity, as defined by Gell and Coombs,¹⁰ in cutaneous LPR is unclear at present. In order to assess the importance (or otherwise) of the cellular infiltration in the LPR, Gaga et al compared the LPR with a typical cell-mediated hypersensitivity lesion (Type IV - classical delayed type hypersensitivity/DTH), as reflected by intradermal injection of protein purified derivative (PPD).⁵⁸ Biopsies were taken at 24 and 48 hours and were analysed by immunocytochemistry. In general cell numbers in the LPR were 2-4 times less than those evoked by PPD. T cells were prominent in both the LPR and DTH. Most of these T cells were CD4+ (helper) lymphocytes. Eosinophil activation was observed in LPR and, to a much lesser extent, also in the DTH. These findings suggested that the LPR was, to some extent, a form of cell-mediated hypersensitivity although the observed T cell kinetics were different from those seen with the classical DTH.

In order to better dissect the different cellular kinetics between DTH and LPR and to evaluate whether these were associated with different patterns of cytokine release, Tsicopoulos et al studied the kinetics of both processes with further detail and

assessed both cellular infiltration and cytokine release.⁵⁹ Again, it was found that both DTH and LPR have an important infiltration of CD3+ T cells, most of which are CD4+. In DTH the maximal numbers were observed at 48 hours, whereas in the LPR, the infiltrate paralleled the clinical response and was maximal at 6 hours. Eosinophils and neutrophils also infiltrated the LPR with the same type of kinetics, but did not significantly increase in DTH. In addition, whereas both the LPR and the DTH seemed to have a release peak of the Th1-type of cytokines at 48 hours, only the LPR showed an earlier (6h) peak of the Th2-type of cytokines, which may be involved in the pathophysiology of this process.

Allergen-specificity of T cells in the cutaneous LPR

Although activated T cells have been shown to be present in the cutaneous LPR and to express mRNA for cytokines that may be crucial for the pathogenesis of this response, the proportion of infiltrating T cells which are allergen-specific is unknown. Allergen-specific T cell cloning frequency and T cell clone culture studies have given an indication of the presence of allergen-specific T cells in the lesional skin of patients with atopic dermatitis,⁶⁰ with allergic contact dermatitis⁶¹ and in peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid from asthmatic patients.^{62,63} The frequency of allergen-specific T cells in the cutaneous LPR has not, however, been determined. We are about to address this problem by attempting to clone T cells from skin biopsies in an allergen-specific fashion.

Modulation of the LPR: influence on macroscopic and cellular characteristics

We are presently trying to modulate the intensity of the cutaneous LPR in an attempt to correlate differences found in the macroscopic size of the lesion with changes in the underlying histological features. To do that, we are performing time-course and dose-response experiments with repetitive cutaneous allergen challenge and intradermal injection of recombinant human cytokines (IL-4, IL-5 and IFN γ). We are studying biopsies from the LPR by single and double immunocytochemistry, to evaluate cell phenotype and intracellular cytokine product, "in situ" hybridization to study cytokine mRNA expression at a cellular level and reverse-transcription followed by polymerase chain reaction amplification (RT-PCR), to study overall levels of cytokine mRNA expression in skin biopsies. This

will allow us to gain further insight into the pathophysiology of the allergen-induced LPR and will eventually allow the use of a more focused therapy. Indeed, many groups apart from us have reported several therapeutic approaches that have been shown to interfere with the activation and/or proliferation of T cells "*in vitro*". In addition, some also affect the infiltration and activation of T lymphocytes in the cutaneous late phase reactions.

Corticosteroids

Corticosteroids (CS) are capable of interfering with T cell activation *in vitro*. Indeed, CS inhibit the transcription of the IL-2 and IFN γ ,⁶⁴ IL-4⁶⁵ and IL-5 genes.⁶⁶ *In vivo*, CS have been shown to be potent inhibitors of the cutaneous LPR.⁶⁷ Prednisolone, for instance, given in a single dose of 20 mg was shown to significantly reduce the macroscopic magnitude of the cutaneous LPR and to inhibit the infiltration of CD45+ (total leukocytes) and CD25+ cells. In addition, it also inhibited, although not attaining statistical significance, the percentage of CD3+, CD4+ and CD8+ cells in the LPR.⁶⁸ This study showed that a single dose of CS may inhibit the activation of T cells present in the LPR, although it may not alter the total number of T lymphocytes. Our preliminary data from a double-blind, placebo-controlled cross-over study where we performed a five-day course of prednisolone (20 mg/day) showed a significant decrease on eosinophil infiltration and activation and a moderate, although non-significant, reduction in the numbers of infiltrating T cells. In addition, prednisolone treatment was also associated with a significant decrease in allergen-induced expression of IL-5 mRNA (a reduction in the expression of IL-4 mRNA was practically significant, p=0.054, Mann-Whitney U test). These results confirm those of Robinson et al in the lung, where prednisolone was shown to inhibit expression of mRNA for IL-4 and IL-5,⁶⁹ and those of Masuyama et al who reported that topical administration of fluticasone propionate inhibits IL-4 mRNA expression in the nasal LPR.⁷⁰

Cyclosporin A and FK506

Besides having inhibitory effects on eosinophil and neutrophil cytokine release,⁴⁸ cyclosporin A (CyA) and FK506 may abrogate T cell activation and proliferation *in vitro*, by inhibiting transcription of the IL-2 gene.^{71,72} In addition, these drugs have been reported to inhibit the transcription of other

early activation genes such as IL-3, IL-4, GM-CSF and IFN γ , and to downregulate the expression of the IL-2 receptor α -chain, at posttranscriptional level.⁷³ The effect in the cutaneous LPR has not been studied.

Anti-histamines

The effects of antihistamines on the cutaneous LPR are controversial. Kontou-Fili et al reported that cetirizine significantly inhibited cutaneous reactions even 6 hours after cutaneous challenge with histamine.⁷⁴ Effects of anti-histamines on the allergen-induced LPR have, however, shown a high degree of variability. Although a few studies showed that some of these drugs (e.g. chlorpheniramine, astemizole) do not inhibit the size of the allergen-induced LPR,^{74,75} our own experience and that of others, using modern potent H1-selective drugs is that for example clemastine and cetirizine may have a slight to moderate effect.^{68,76,77} Curiously, H-2 antihistamines (cimetidine) given together with H-1 antihistamines (chlorpheniramine) were shown to significantly inhibit the macroscopic size of the LPR.⁷⁵ There is evidence to suggest that H-2 antihistamines can counteract *in vitro* histamine-induced downregulation of the Th1-type of cytokines (IL-2 and IFN γ)⁷⁹ and upregulation of ICAM-1 on epidermal keratinocytes.⁸⁰ These effects of H-2 antihistamines may be important for an eventual action *in vivo*.

Immunocytochemical studies performed on skin biopsies from the LPR have not shown a significant inhibitory effect of cetirizine (20 mg, single dose) on the allergen-induced T cell infiltration or activation in the LPR.⁶⁸

Immunotherapy (I.T.)

It has long been known that I.T. can suppress the cutaneous allergen-induced LPR.^{81,82} Most of the results in the effects of I.T. on T lymphocytes have, however, most often been obtained from studies of circulating T cells.

In 1979, Canonica et al analysed peripheral blood T lymphocytes by flow cytometry and described a relative deficiency of CD8+ T cells in atopic patients. Further, these authors showed that clinically successful I.T. induced an increase in the relative percentage of CD8+ T cells.⁸³

Rocklin et al, in 1980, extended these observations by demonstrating that I.T. suppressed allergen-induced proliferation of peripheral blood T cells and that this was associated with an increase in

CD8+ T cells which functionally suppressed allergen-specific T lymphocyte proliferation *in vitro*.⁸⁴

In 1984, Hsieh showed that allergen-induced proliferation of peripheral blood CD4+ T cells was lower and that of CD8+ T cells was higher after I.T., as compared to pre-I.T. values.⁸⁵ In addition, it was also shown that T cells produced and responded less to IL-2 after I.T..⁸⁶ These reports suggest that I.T. may induce the appearance of CD8+ T cells that have the capacity to downregulate the response to specific allergens, either through cytolysis of antigen-presenting cells or through the release of cytokines such as IFN γ .⁸⁷

Varney et al studied a group of 40 adult seasonal rhinitic patients in order to evaluate the influence of grass pollen I.T. on the cellular infiltration and cytokine mRNA expression during allergen-induced cutaneous LPR.⁸⁸ Clinical improvement was accompanied by a decrease (64%) in the size of the LPR. Biopsies were taken 24 hours after allergen-challenge and used for ICC and *in situ* hybridization for IL-2, IFN γ , IL-3, IL-4, IL-5 and GM-CSF mRNA. Clinically successful I.T. was associated with a reduction in the total number of leucocytes (CD45+) and T lymphocytes (CD3+). There was a decrease in CD4+ T cells and a trend for a decrease in the number of eosinophils. Surprisingly, a higher percentage of activated cells (CD25+ or HLA-DR+) was also observed. Interestingly, there were significant increases in IL-2 and IFN γ mRNA and probably a decrease (non significant) in the median cell counts for IL-3, IL-4, IL-5 and GM-CSF after I.T.. Finally, there was a positive correlation between IL-2 mRNA+ and CD25+ cells. Since most CD25+ T cells in the LPR have been shown to be T cells (CD3+),¹⁹ these results suggest that I.T. may upregulate the expression of a Th1 pattern of cytokines that may be involved in the induction of allergen-specific T cell tolerance.

More specifically targeted I.T. will provide further insight into mechanisms underlying the LPR. This may involve the administration of allergen-derived peptide sequences that are only recognized by T cells, in the context of MHC class II presentation on APC, and not by IgE.⁸⁹ In one study, T cell epitopes from the cat allergen *Fel d I* were administered to mice. Allergen-specific T cell tolerance could be obtained in this way.⁹⁰ These epitopes - IPC-1 and IPC-2, have also been given to patients allergic to cat dander, and preliminary results show that this form of I.T. may have a lower occurrence of

severe anaphylactic reactions. Curiously, some of the patients developed a cutaneous LPR 6 to 8 hours after intradermal injection of the peptides.⁹¹ This is an additional reason to suggest that T lymphocytes are indeed crucial for the pathogenesis of the cutaneous LPR.

REFERENCES

1. Bos JD, Teunissen MB, Cairo I et al. T cell receptor gamma delta bearing cells in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 37-42.
2. Bos JD, Zonneveld I, Das PK, Krieg SR, Van der Loos CM, Kapsenberg ML. The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1987; 88:569-73.
3. Bos JD, Das PK, Kapsenberg ML. Lymphocyte subsets of the skin immune system (SIS). In Caputo R, ed *Immunodermatology*, Rome: CIC Edizioni Internazionali 1987; 67-70.
4. Bos JD, Hagenaars C, Das PK, Krieg SR, Voorn WJ, Kapsenberg ML. Predominance of "memory" T cells (CD4+, CDw29+) over "naive" T cells (CD4+, CD45R+) in both normal and diseased human skin. *Arch Dermatol Res* 1989; 281: 24-30.
5. Bos JD, De Boer OJ, Tibbosch E, Das PK, Pals ST. Skin-homing T lymphocytes: detection of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) by HECA-452 in normal human skin. *Arch Dermatol Res* 1992; 285: 179-83.
6. Picker LJ, Kishimoto TK, Smith CW, Warnock RA, Butcher EC. ELAM-1 is an adhesion molecule for skin-homing T cells. *Nature* 1991; 349: 796-9.
7. Blackley CH. Experimental researches on the causes and nature of catarrhus aestivus (hay fever or hay asthma). London; Bailliere Tindall and Cox 1873: 84-6.
8. Cooke RA. Studies in specific hypersensitiveness. IX. On the phenomenon of hypersensitization (the clinically lessened sensitiveness of allergy). *J Immunol* 1922; 7: 219-24.
9. Kline BS, Cohen MB, Rudolph JA. Histologic changes in allergic and nonallergic wheals. *J Allergy* 1932; 3: 351-55.
10. Coombs RRA, Gell PGH. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Coombs RRA, Gell PGH, eds *Clinical Aspects of Immunology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1968: 317-37.
11. Pepys J. Immunopathology of allergic lung disease. *Clin Allergy* 1973; 3: 1-22.
12. Taylor G, Shivalkar PR. "Arthus-type" reactivity in the nasal airways and skin in pollen sensitive subjects. *Clin Allergy* 1971; 1: 407-14.
13. Bennich H, Ishizaka K, Johansson SGO, Rowe DS, Stanworth DR, Terry WD. Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin. *Immunocytochemistry* 1968; 5: 327-8.
14. Ishizaka K, Ishizaka T. Induction of erythema-wheal reactions by soluble antigen gammaE-antibody complexes in humans. *J Immunol* 1968; 101: 68-78.
15. Dolovich J, Hargreave FE, Chalmers R, Shier KJ, Gauldie J, Bienenstock J. Late cutaneous allergic responses in isolated IgE-dependent reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1973; 52: 38-46.
16. Solley GO, Gleich GJ, Jordon RE, Schroeter AL. The late phase of the immediate wheal and flare skin reaction. Its dependence upon IgE antibodies. *J Clin Invest* 1976; 58: 408-20.
17. Frew AJ, Kay AB. Failure to detect deposition of complement and immunoglobulin in allergen-induced late-phase skin reaction in atopic subjects. *Clin Exp Immunol* 1991; 85: 70-4.
18. Frew AJ, Kay AB. The relationship between infiltrating CD4+ lymphocytes, activated eosinophils, and the magnitude of the allergen-induced late phase cutaneous reaction in man. *J Immunol* 1988; 141: 4158-64.
19. Hamid Q, Barkan J, Robinson DS, Durham SR, Kay AB. Co-expression of CD25 and CD3 in atopic allergy and asthma. *Immunology* 1992; 75: 659-63.
20. Tomkinson BE, Wagner DK, Nelson DL, Sullivan JL. Activated lymphocytes during acute Epstein-Barr virus infection. *J Immunol* 1987; 139: 3802-7.
21. Thomas ML, Lefrancois L. Differential expression of the leukocyte-common antigen family. *Immunol Today* 1988; 9: 320-6.
22. Ostergaard HL, Trowbridge IS. Coclustering CD45 with CD8 alters the phosphorylation and kinase activity of p56^{lck}. *J Exp Med* 1990; 172: 347-50.
23. Akbar AN, Salmos M, Janossy G. The synergy between naive and memory T cells during activation. *Immunol Today* 1991; 12: 184-8.
24. Sanders ME, Makgoba MW, Shaw S. Human naive and memory T cells: reinterpretation of helper-inducer and suppressor-inducer subjects. *Immunol Today* 1988; 9: 195-9.
25. Mackay CR. Homing of naive, memory and effector lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 1993; 5: 423-7.
26. Frew AJ, Kay AB. UCHL1+ (CD45R0+) "memory" T cells predominate in the CD4+ cellular infiltrate associated with allergen-induced late-phase skin reactions in atopic subjects. *Clin Exp Immunol* 1991; 84: 270-4.
27. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57.
28. Cherwinski HM, Schumacher JH, Brown KD, Mosmann TR. Two types of mouse helper T cell clone. III. Further differences in lymphokine synthesis between Th1 and Th2 clones revealed by RNA hybridization, functionally monospecific bioassays and monoclonal antibodies. *J Exp Med* 1987; 166: 1229-44.
29. Wierenga EA, Snoek M, De Groot C et al. Evidence for compartmentalisation of functional subsets of CD4+ T-lymphocytes in atopic patients. *J Immunol* 1990; 144: 4651-6.
30. Parronchi P, Macchia D, Piccini M-P et al. Allergen and bacterial antigen-specific T-cell clones established from atopic donors show a different profile of cytokine production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4538-42.
31. Zurawski G, De Vries JE. Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunol Today* 1994; 15: 19-26.
32. Del Prete G, De Carli M, Almerigogna F, Giudizi MG, Biagiotti R, Romagnani S. Human IL-10 is produced by both Type 1 helper (Th1) and Type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J Immunol* 1993; 150: 353-60.
33. Kay AB, Ying S, Varney V et al. Messenger RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin 3 (IL-3), IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects. *J Exp Med* 1991; 173: 775-8.
34. Haak-Frendscho M, Arai N, Arai K, Baeza ML, Finn A, Kaplan AP. Human recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin 3 cause basophil histamine release. *J Clin Invest* 1988; 82: 17-20.

35. Wang AJ, Dunnette S, Gleich GJ, Collins JV, Kay AB. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma. Relationship to bronchial hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 62-9.
36. Sanderson CJ, Warren DJ, Strath M. Identification of a lymphokine that stimulates eosinophil differentiation in vitro. Its relationship to interleukin-3 and functional properties of eosinophils produced in cultures. *J Exp Med* 1985; 162: 60-74.
37. Campbell HD, Tucker WQJ, Short Y et al. Molecular cloning, nucleotide sequence and expression of the gene encoding human eosinophil differentiation factor (interleukin-5). *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 6629-33.
38. Rothenberg ME, Petersen J, Stevens RL et al. IL-5 dependent conversion of normodense human eosinophils to the hypodense phenotype uses 3T3 fibroblasts for enhanced viability, accelerated hypodensity and sustained antibody-dependent cytotoxicity. *J Immunol* 1989; 143: 2311-6.
39. Walsh GM, Hartnell A, Mermod J-J, Kay AB, Wardlaw AJ. Human eosinophil, but not neutrophil adherence to IL-1 stimulated HUVEC is a4b1 (VLA-4) dependent. *J Immunol* 1991; 146: 3419-23.
40. Lopez AF, Sanderson CJ, Gamble JR, Campbell HD, Young IG, Vadas MA. Recombinant human interleukin-5 is a selective activator of eosinophil function. *J Exp Med* 1988; 167: 219-24.
41. Muller KM, Jaunin F, Masouye I, Saurat J-H, Hauser C. Th2 cells mediate IL-4-dependent local tissue inflammation. *J Immunol* 1993; 150: 5576-84.
42. Spits H, Yssel H, Takebe Y et al. Recombinant interleukin-4 promotes the growth of human T cells. *J Immunol* 1987; 139: 1142-7.
43. Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J et al. IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J Immunol* 1992; 148: 1086-92.
44. Pene J, Rousset F, Briere F et al. IgE production by human B cells is induced by IL-4 and suppressed by interferons γ , α and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8166-70.
45. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG et al. Interleukin 13 induces interleukin-4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3730-4.
46. Seder RA, Paul WE, Ben-Sasson SZ et al. Production of interleukin-4 and other cytokines following stimulation of mast cell lines and in vivo mast cells/basophils. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 94: 137-40.
47. Bradding P, Feather IH, Wilson S et al. Immunolocalization of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitic subjects. The mast cell as a source of IL-4, IL-5 and IL-6 in human allergic mucosal inflammation. *J Immunol* 1993; 151: 3853-65.
48. Kita H, Ohnishi T, Okubo Y, Weiler D, Abrams JS, Gleich GJ. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and interleukin 3 release from human peripheral blood eosinophils and neutrophils. *J Exp Med* 1991; 174: 745-8.
49. Desreuxaux P, Janin A, Dubucquoi S et al. Synthesis of interleukin-5 by activated eosinophils in patients with eosinophilic heart diseases. *Blood* 1993; 82: 1553-60.
50. Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK, Dinarello CA, Springer TA. Induction by IL-1 and interferon- γ : tissue distribution, biochemistry, function of a natural adhesion molecule (ICAM-1). *J. Immunol* 1986; 137: 245-54.
51. Nortamo P, Li R, Renkonen R et al. The expression of human intercellular adhesion molecule-2 is refractory to inflammatory cytokines. *Eur J Immunol* 1991; 21: 2629-32.
52. Gruber N, Gopal TV, Wilson D, Beall LD, Polte T, Newman W. T cell bind to cytokine-activated endothelial cells via a novel, inducible sialoglycoprotein and endothelial leukocyte adhesion molecule-1. *J Immunol* 1990; 145: 819-30.
53. Parish WE. Inflammation. In Champion ER, Burton JL, Ebling FJG, eds Rook, Wilkinson, Ebling Textbook of Dermatology. Oxford. Blackwell Scientific Publications 1992: 234-7.
54. Couchman JR, Austria MR, Woods A. Fibronectin-cell interactions. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 7S-14S.
55. Bjercke S, Elgo J, Braathen L, Thorsby E. Enriched epidermal Langerhans cells are potent antigen-presenting cells for T cells. *J Invest Dermatol* 1984; 83: 286-9.
56. Nickoloff BJ, Mitra RS, Green J, Shimizu Y, Thompson C, Turka LA. Activated keratinocytes present bacterial-derived superantigens to T lymphocytes: relevance to psoriasis. *J Dermatol Sci* 1993; 6: 127-33.
57. Nickoloff BJ, Mitra RS, Green J et al. Accessory cell function of keratinocytes for superantigens: dependence on lymphocyte function-associated antigen-1/intercellular adhesion molecule-1 interaction. *J Immunol* 1993; 150: 2148-59.
58. Gaga M, Frew AJ, Varney V, Kay AB. Eosinophil activation and T lymphocyte infiltration in allergen-induced late-phase skin reactions and classical delayed-type hypersensitivity. *J Immunol* 1991; 147: 816-22.
59. Tsicopoulos A, Hamid Q, Jacobson MR et al. Kinetics of cell infiltration and cytokine messenger RNA expression after intradermal challenge with allergen and tuberculin in the same atopic individuals. Submitted to *J Allergy Clin Immunol*.
60. Van der Heijden F, Wierenga EA, Bos JD, Kapsenberg ML. High frequency of IL-4-producing CD4+ allergen-specific T lymphocytes in atopic dermatitis lesional skin. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 389-94.
61. Kapsenberg ML, Res P, Bos JD, Schootemijer A, Teunissen MBM, Van Schooten W. Nickel-specific T lymphocyte clones derived from allergic nickel-contact dermatitis lesions in man: heterogeneity based on requirements of dendritic antigen-presenting cell subsets. *Eur J Immunol* 1987; 17: 861-5.
62. O'Hehir RE, Young DB, Kay AB, Lamb JR. Cloned human T lymphocytes reactive with *Dermatophagoides farinae* (house dust mite): a comparison of T- and B-cell antigen recognition. *Immunology* 1987; 62: 635-40.
63. Hol BEA, Krouwels FH, Bruinier B et al. Cloning of T lymphocytes from bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7: 523-30.
64. Arya SK, Wong-Staal F, Gallo RC. Dexamethasone-mediated inhibition of human T cell growth factor and gamma-interferon mRNA. *J Immunol* 1984; 133: 273-6.
65. Wu CY, Fargeas C, Nakajima T, Delespesse G. Glucocorticoids suppress the production of interleukin-4 by human lymphocytes. *Eur J Immunol* 1991; 21: 2645-7.
66. Rolfe FG, Hughes JM, Armour CL, Sewell WA. Inhibition of interleukin-5 gene expression by dexamethasone. *Immunology* 1992; 77: 494-9.
67. Poothullil J, Umemoto L, Dolovich J, Hargreave FE, Day RP. Inhibition by prednisone of late cutaneous allergic responses induced by anti-serum to human IgE. *J Allergy Clin Immunol* 1976; 57: 164-7.
68. Varney V, Gaga M, Frew AJ, De Vos C, Kay AB. The effect of a single oral dose of prednisolone or cetirizine on inflammatory cells infiltrating allergen-induced cutaneous late-phase reactions in atopic subjects. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 43-9.
69. Robinson D, Hamid Q, Ying S et al. Prednisolone treatment in asthma is associated with modulation of bronchoalveolar lavage cell interleukin-4, interleukin-5, and interferon- γ cytokine gene expression. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 401-6.

70. **Masuyama K, Jacobson MR, Rak S et al.** Topical glucocorticosteroid (fluticasone propionate) inhibits cytokine mRNA expression for interleukin-4 (IL-4) in the nasal mucosa in allergic rhinitis. *Immunology* 1994 (em publicação).
71. **Henderson DJ, Naya I, Bundick RV, Smith GM, Schmidt JA.** Comparison of the effects of FK506, cyclosporin A and rapamycin on IL-2 production. *Immunology* 1991; 73: 316-21.
72. **Tocci MJ, Sigal NH.** Recent advances in the mechanism of action of cyclosporin and FK506. *Curr Opin Nephrol Hypert* 1992; 1: 236-40.
73. **Tocci MJ, Matkovich DA, Collier KA et al.** The immunosuppressant FK506 selectively inhibits expression of early T cell activation genes. *J Immunol* 1989; 143: 718-26.
74. **Kontou-Fili K, Paleologos G, Herakleous M.** Suppression of histamine-induced skin reactions by loratadine and cetirizine diHCl. *Eur J Clin Pharmacol* 1989; 36: 617-9.
75. **Smith JA, Mansfield LE, DeShazo RD et al.** An evaluation of the pharmacologic inhibition of the immediate and late cutaneous reaction to allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 65: 118-21.
76. **Bierman CW, Maxwell D, Rytina E et al.** Effect of H1-receptor blockade on late cutaneous reactions to antigen: a double-blind, controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 1013-9.
77. **Aas K.** Effects on ketotifen and clemastine on passive transfer of reaginic reaction. *Allergy* 1979; 34: 121-4.
78. **Michel L, De Vos C, Rihoux J-P et al.** Inhibitory effect of oral cetirizine on in vivo antigen-induced histamine and PAF-acether release and eosinophil recruitment in human skin. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 101-9.
79. **Dohlsten M, Sjogren HO, Carlsson R.** Histamine acts directly on human T cells to inhibit interleukin-2 and interferon-gamma production. *Cell Immunol* 1987; 109: 65-74.
80. **Mitra RS, Shimizu Y, Nickoloff BJ.** Histamine and *cis*-urocanic acid augment tumor necrosis factor-alpha mediated induction of keratinocyte intercellular adhesion molecule-1 expression. *J Cell Physiol* 1993; 156: 348-57.
81. **Pienkowksi MM, Norman PS, Lichtenstein LM.** Suppression of late-phase skin reactions by immunotherapy with ragweed extract. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 729-34.
82. **Fling JA, Ruff ME, Parker WA et al.** Suppression of the late cutaneous response by immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83: 101-9.
83. **Canonica GW, Mingau MC, Milioli G et al.** Imbalances of T cell subpopulations in patients with atopic diseases and effect of specific immunotherapy. *J Immunology* 1979; 123: 2669-72.
84. **Rocklin RE, Sheffer AL, Greineder DK, Melmon KL.** Generation of antigen-specific suppressor cells during allergy desensitization. *New Engl J Med* 1980; 302: 1213-9.
85. **Hsieh K-H.** Changes of lymphoproliferative responses of T cells subsets to allergen and mitogen after hyposensitization in asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74: 34-40.
86. **Hsieh K-H.** Altered interleukin-2 (IL-2) production and responsiveness after hyposensitization to house dust. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 188-94.
87. **Salgame P, Abrams JS, Clayberger C et al.** Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones. *Science* 1991; 254: 279-82.
88. **Varney VA, Hamid QA, Gaga M et al.** Influence of grass pollen immunotherapy on cellular infiltration and cytokine mRNA expression during allergen-induced late-phase cutaneous responses. *J Clin Invest* 1993; 92: 644-51.
89. **O'Hehir RE, Lamb JR.** The cellular and molecular basis of the human T cell response to *Dermatophagoides spp* (house dust mite). *Parasite Immunol* 1991; 13: 109-19.
90. **Briner TJ, Kuo M-C, Keating KM, Rogers BL.** Peripheral T-cell tolerance induced in naive and primed mice by subcutaneous injection of peptides from the major cat allergen Fel d I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7608-12.
91. **Norman PS.** Modern concepts of immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 1993; 5: 968-73.

Hepatites Medicamentosas por Hipersensibilidade

VASCO A. J. MARIA e RUI M. M. VICTORINO

RESUMO

As hepatopatias medicamentosas, apesar de pouco frequentes constituem um problema clínico importante pelas dificuldades de diagnóstico e pelas implicações terapêuticas e epidemiológicas. Os autores apresentam a sua experiência na avaliação clínica e imunológica de uma série de 79 casos de hepatite medicamentosa.

O tempo de latência médio (entre o início da tomada do fármaco e o aparecimento da hepatopatia) observado nesta série foi de 21 dias. O quadro clínico-laboratorial caracterizou-se pela existência de icterícia e febre numa percentagem elevada de casos, sendo frequentes as alterações laboratoriais marcadas. Os fármacos mais vezes envolvidos nas hepatopatias pertenciam sobretudo aos grupos farmacológicos dos antimicrobianos e dos psicotrópicos. O tempo de remissão médio (entre a suspensão do fármaco e a normalização laboratorial) foi de cerca de 55 dias. A utilização do teste de transformação blástica (TTB) revelou-se útil na detecção de sensibilização linfocitária aos fármacos, particularmente na identificação do fármaco responsável pela hepatopatia em casos de polinedicação. As modificações metodológicas do TTB, consistindo na adição de um inibidor das prostaglandinas ao sistema de cultura in vitro e na utilização de metabolitos ou抗原s do fármaco preparados ex-vivo, permitiram aumentar significativamente a capacidade de detecção de sensibilização linfocitária aos fármacos.

PALAVRAS-CHAVE: Hepatites medicamentosas, teste de transformação blástica, hipersensibilidade a medicamentos, diagnóstico de hepatites, reacções adversas a medicamentos.

SUMMARY:

The authors present their experience in the clinical and immunological evaluation of a series of 79 cases of drug-induced liver injury.

The mean latency time (between drug intake and the onset of clinical picture) was 21 days. Jaundice and fever were the most frequent clinical symptoms. Marked elevations of hepatic enzymes were seen in a significant number of cases. Antimicrobials and psychotropics were the most frequently involved pharmacologic groups. The mean remission time (between drug withdrawal and normalization of laboratory values) was 55 days.

Lymphocyte transformation test (LTT) proved useful in the detection of lymphocyte sensitization to drugs, particularly in the identification of the offending drug in cases of exposure to multiple drugs. The use of modifications to LTT (addition of a prostaglandin inhibitor to the culture system and the use of ex-vivo prepared drug antigens) increased the ability to detect lymphocyte sensitization to drugs in this series of 79 cases of drug-induced liver injury.

KEY-WORDS: Drug-induced hepatitis, lymphocyte transformation test, drug hypersensitivity, hepatitis diagnosis, adverse drug reactions.

1 - INTRODUÇÃO

Importância do problema

As Hepatopatias Medicamentosas constituem uma pequena mas significativa percentagem das reacções adversas medicamentosas. Num estudo por nós realizado numa população de cerca de 3 000 utentes de um centro de saúde da periferia de Lisboa, as hepatites medicamentosas correspondem a 1% das reacções adversas detectadas.¹ Em algumas séries internacionais, cerca de 2 a 5% das icterícias internadas têm uma etiologia medicamentosa, enquanto que cerca de 10% das hepatites agudas

internadas têm esta mesma etiologia,² sendo estes valores significativamente mais elevados nos grupos etários mais altos. Em relação às hepatites fulminantes internadas em serviços de cuidados intensivos, a causa medicamentosa representa cerca de 25% dos casos.³

A importância deste problema na prática clínica decorre não só dos valores acima referidos mas também da dificuldade no diagnóstico e das implicações da ausência ou atraso do mesmo. De facto, a dificuldade ou mesmo a impossibilidade de chegar a um diagnóstico seguro de hepatite medicamentosa tem implicações importantes. Por um lado, situações de hepatite medicamentosa não reconhecidas podem evoluir para formas mais graves de doença, como por exemplo, hepatite crónica ou mesmo cirrose, se o estímulo não for interrompido. Por outro lado, a identificação do fármaco responsável, particularmente quando o doente está sujeito a múltiplos fármacos, é importante por razões terapêuticas e epidemiológicas.

Classificação das Hepatopatias Medicamentosas

As hepatopatias medicamentosas podem classificar-se em dois tipos principais (Quadro I). As hepatopatias do tipo I são dependentes da dose e portanto, previsíveis, atingindo a maior parte dos indivíduos expostos. As hepatopatias do tipo II são independentes da dose e imprevisíveis, atingindo apenas indivíduos com susceptibilidade aumentada; podem ser mediadas por mecanismo de idiossincrasia metabólica (via metabólica anómala com produção de metabolitos reactivos) ou por hipersensibilidade imunológica.

QUADRO I

CLASSIFICAÇÃO DAS HEPATOPATIAS MEDICAMENTOSAS

- **Tipo I - Previsível, dependente da dose**
Existem modelos animais
- **Tipo II - Imprevisível, independente da dose**
Não existem modelos animais
 - * Idiossincrasia metabólica
 - * Hipersensibilidade (imunológica)

Diagnóstico das Hepatopatias medicamentosas

O diagnóstico das hepatopatias do tipo I não levanta em geral problemas, sendo suficiente a história de exposição a um fármaco reconhecido como hepatotóxico em determinadas doses.

Em relação às hepatopatias do tipo II, o diagnóstico é habitualmente um diagnóstico de exclusão (Quadro II), exigindo um grau de suspeição elevado, a colheita de uma história farmacológica precisa e detalhada e o estabelecimento de uma relação temporal consistente entre o início da tomada do fármaco e o aparecimento do quadro clínico. É fundamental a exclusão de causas alternativas para a lesão hepática, nomeadamente as etiologias viral, alcoólica e obstrutiva. Alguns autores consideram que num caso de suspeita de hepatopatia induzida por fármacos, um teste de reexposição ao fármaco positivo constitui a melhor evidência a favor da etiologia medicamentosa. No entanto, estes testes não são recomendáveis, a não ser em situações muito particulares, em virtude dos riscos que comportam, nomeadamente de hepatite fulminante.^{4,5}

QUADRO II

DIAGNÓSTICO DAS HEPATOPATIAS MEDICAMENTOSAS

- Índice de Suspeita elevado
- Listar pormenorizadamente todos os fármacos tomados
- Estabelecer a relação temporal entre a tomada do fármaco e o início da hepatopatia
- Considerar causas alternativas (vírus, álcool, doenças das vias biliares)
- Excluir doença hepática pré-existente
- Observar efeito da suspensão dos fármacos suspeitos
- Biópsia hepática (se suspeita de doença hepática pré-existente ou ausência de melhoria após suspensão)
- Testes de provação: NÃO RECOMENDÁVEIS
- Testes Imunológicos e ou Metabólicos (complexidade técnica, valorização difícil, utilização eventual em casos seleccionados).

Um aspecto particularmente difícil é o que se prende com o diagnóstico diferencial entre hepatopatias por idiossincrasia metabólica e por hipersensibilidade imunológica. Apesar de alguns casos clínico-laboratoriais poderem sugerir um ou outro mecanismo (Quadro III), em muitas situações é difícil ou mesmo impossível esta diferenciação.

QUADRO III

CARACTERÍSTICAS DAS HEPATOPATIAS MEDICAMENTOSAS POR IDIOSINCASIA METABÓLICA E POR HIPERSENSIBILIDADE

	IDIOS. METABÓLICA	HIPER- -SENSIBILIDADE
Dependência da Dose	Não (Sim)	Não
Tempo de latência	Variável	1-5 semanas
Manif. clín. sugestivas	—	Rash, febre, artralgias
Resposta à reexposição	Retardada	Rápida (horas/dias)
Aspectos histológicos sugestivos	—	Infiltrados eosinófilos Granulomas

2. HEPATITES POR HIPERSENSIBILIDADE

Possíveis Mecanismos envolvidos

Como referimos anteriormente, nos casos de hepatopatia do tipo II, a lesão hepática pode resultar de um mecanismo de hipersensibilidade imunológica.

A susceptibilidade individual, no caso da idiosincrasia metabólica, seria conferida quer por via anómala de metabolização do fármaco, quer por defeitos no processo de destoxificação do mesmo, levando à acumulação de metabolitos altamente reactivos, com efeito lesivo dos hepatocitos.⁶ Em relação à hipersensibilidade imunológica, a susceptibilidade individual dependeria de factores imunogenéticos, condicionando hiperreactividade do sistema imunológico (hipersensibilidade) e ou vulnerabilidade do mesmo a eventuais efeitos imunorregulatórios do fármaco.^{7,8}

A metabolização hepática dos fármacos a nível do sistema oxidativo microsómico, cujo enzima principal é o citocromo P450, origina moléculas intermediárias altamente reactivas, capazes de estabelecer ligações covalentes com macromoléculas celulares. Em alguns casos a lesão hepática resultaria da agressão directa desses metabolitos a diferentes estruturas celulares,⁹ outros casos a ligação dos metabolitos a proteínas celulares torna-las-ia imunogénicas,^{9,10} originando-se lesão por hipersensibilidade imunológica. A interecção entre os dois tipos de mecanismos, idiosincrasia metabólica e

hipersensibilidade imunológica, é assim possível em muitos casos,^{7,8} dificultando ainda mais a diferenciação entre mecanismos envolvidos no caso individual.

As hepatopatias por hipersensibilidade imunológica parecem constituir uma percentagem muito significativa das hepatopatias medicamentosas. Os mecanismos imunológicos envolvidos na gênese da lesão hepática são provavelmente de diversos tipos,^{10,11} nomeadamente citotoxicidade mediada por anticorpos e complemento, citotoxicidade mediada por anticorpos e células "Killer" (ADCC) e citotoxicidade por linfócitos T que reconheceriam o neo-antígenio constituído ou induzido pelo fármaco na superfície celular, em associação com moléculas do complexo maior de histocompatibilidade.

Utilização do Teste de Transformação Blástica no Diagnóstico das hepatopatias Medicamentosas do tipo II.

Como referimos anteriormente, o diagnóstico das hepatopatias medicamentosas é habitualmente um diagnóstico de presunção. Reconhece-se assim a necessidade de identificar e utilizar processos que permitam afirmar com maior segurança o diagnóstico e, por outro lado, identificar o fármaco responsável pela lesão hepática, particularmente em casos de polimedicação.

Vários testes imunológicos têm sido usados com este objectivo, nomeadamente o teste da inibição da migração dos leucocitos (TIML) e o teste de transformação blástica (TTB), em casos de hepatopatia medicamentosa em que supostamente intervêm mecanismos imunológicos.

O TTB baseia-se no facto de linfocitos previamente sensibilizados a um fármaco proliferarem em cultura quando reexpostos a esse fármaco, podendo avaliar-se essa proliferação através da medição da incorporação de um isótopo radioactivo no DNA celular. Contudo, têm sido identificados alguns problemas na utilização do TTB, nomeadamente tem sido apontada uma baixa sensibilidade do teste, já que os resultados são frequentemente negativos em situações em que a probabilidade da etiologia medicamentosa é considerada elevada por critérios clínicos.^{12,13} De entre as várias hipóteses que temos vindo a investigar para explicar esta baixa sensibilidade do teste, tem sido dada particular atenção a duas: 1) a possibilidade de a sensibilização linfocitária se fazer para os metabolitos e não para o próprio fármaco; 2) a eventual existência no sistema de cultura "in vitro" de factores supressores, nomea-

damente celulares, que mediariam a sua ação através da produção de prostaglandinas, como foi demonstrado noutros contextos.¹⁴

É a nossa experiência na avaliação clínica de uma série de 79 casos de hepatopatia medicamentosa e da utilização do TTB com diferentes abordagens que apresentamos de seguida.

3 - APRESENTAÇÃO DE UMA SÉRIE DE 79 CASOS DE HEPATOPATIA MEDICAMENTOSA

Caracterização clínica

O nosso estudo clínico e imunológico refere-se a uma série de 79 casos de hepatopatia medicamentosa, cujo diagnóstico foi estabelecido com base em critérios clínicos.¹⁵ Os doentes estudados apresentavam uma idade média de cerca de 44 anos, sendo 34 do sexo masculino e 45 do sexo feminino. A média de medicamentos tomados na altura do aparecimento do quadro clínico era de 3,9 com limites entre 1 e 15 fármacos. É de notar que em 65 casos tratava-se da primeira exposição ao fármaco que acabou por ser considerado o responsável pela hepatopatia. O tempo decorrido entre o início da tomada do fármaco e o aparecimento dos primeiros sinais ou sintomas foi em média de 21 dias. Em todos os casos em que o tempo de latência foi inferior a 5 dias, tratava-se de reexposições ao fármaco.

Estes casos de hepatopatia medicamentosa foram referenciados ao nosso grupo nos últimos 10 anos, para pareceres clínicos e ou avaliação por testes

imunológicos, por diversos serviços do nosso hospital e de outros hospitais, inclusivamente de fora da área de Lisboa (Figura 1).

Em relação ao quadro clínico da hepatopatia (Figura 2), pode verificar-se que uma percentagem muito significativa dos casos cursou com icterícia e febre. Em 10 casos não se verificaram quaisquer manifestações clínicas mas apenas elevação dos enzimas hepáticos.

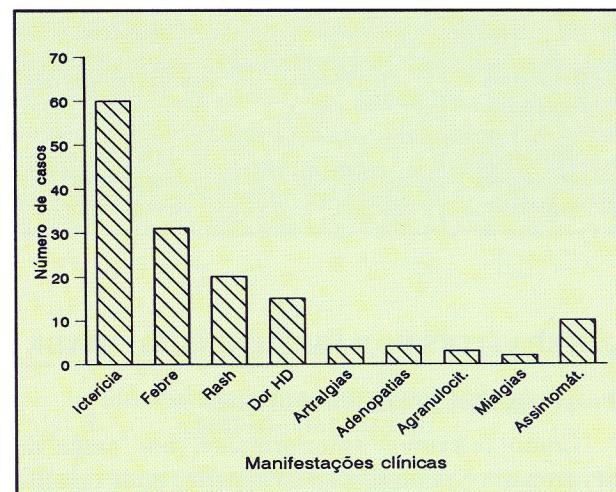


Figura 2 - Manifestações clínicas das hepatopatias medicamentosas.

Os aspectos relativos ao quadro laboratorial são apresentados na figura 3, sendo de destacar o facto de um número significativo de casos apresentar alterações laboratoriais muito marcadas. O padrão bioquímico da hepatopatia, determinado com base na fórmula adaptada de Danan et al.¹⁶ (Quadro IV), foi classificada como colestase em 31 casos, lesão hepatocelular em 31 e misto em 17.

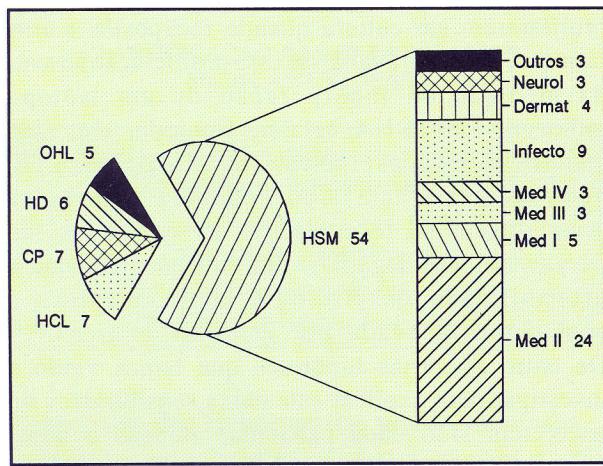


Figura 1 - Referenciação dos casos de hepatopatia medicamentosa.
HSM - Hospital de Santa Maria; HCL - Hospitais Civis de Lisboa;
OHL - outros hospitais de Lisboa; HD - hospitais distritais;
CP - clínica privada.

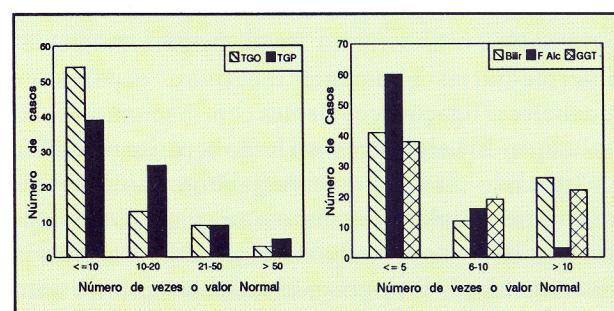


Figura 3 - Quadro laboratorial das hepatopatias medicamentosas.

QUADRO IV

DEFINIÇÃO DO PADRÃO BIOQUÍMICO DA HEPATOPATIA MEDICAMENTOSA

$$Q = \frac{A}{B}$$

- A - Actividade sérica máxima da Aminotransferase expressa em múltiplos do normal
- B - Actividade sérica máxima da Fosfatase alcalina expressa em múltiplos do normal
- Se $Q \geq 5$ - Padrão hepato-celular
- Se $Q \leq 5$ - Padrão de colestose
- Se $Q = 2-5$ - Padrão misto

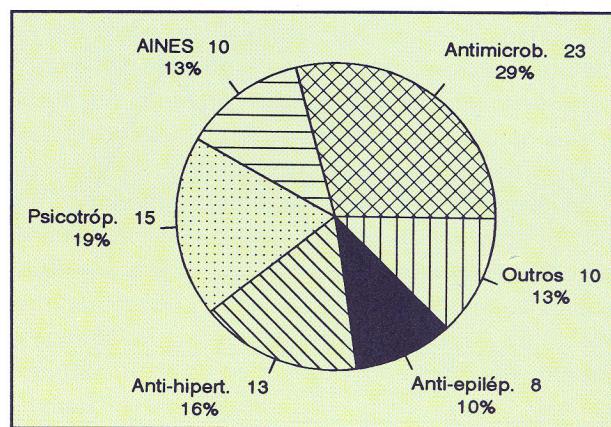


Figura 5 - Grupos farmacológicos envolvidos nas hepatopatias medicamentosas.

A remissão laboratorial, ou seja, o tempo decorrido entre a suspensão do fármaco e a normalização das alterações laboratoriais, foi em média de 55 dias, sendo superior a 6 meses numa percentagem significativa de casos, ultrapassando mesmo os 12 meses em 2 casos (Figura 4).

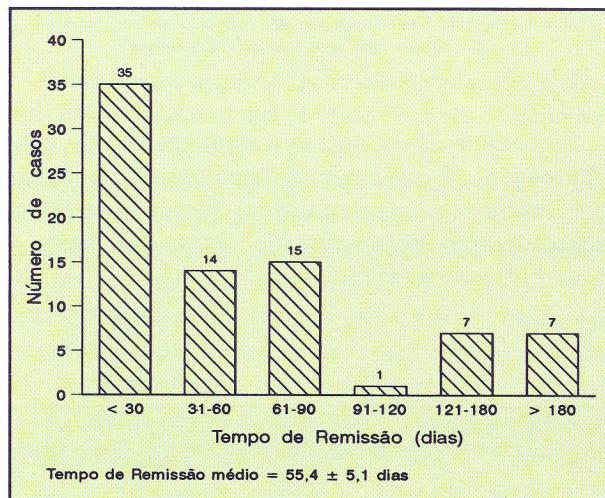


Figura 4 - Tempo de remissão laboratorial.

A utilização de uma escala clínica de pontuações por nós definida¹⁷ permitiu classificar a probabilidade de diagnóstico de hepatite medicamentosa como "definitiva" em 4 casos, "provável" em 41, "possível" em 25 e "improvável" em 9.

Quanto aos grupos farmacológicos envolvidos nas hepatopatias e identificados por critérios clínicos e/ou estudos imunológicos, o grupo dos antimicrobianos e o grupo dos psicotrópicos comportam o maior número de casos (Figura 5). Os fármacos mais vezes envolvidos foram o

cotrimoxazole com 9 casos, a eritromicina com 6 e a fenitoína com 5. O captopril, a α-metildopa e o allopurinol foram responsáveis por 4 casos cada um.

Estudos imunológicos

Nos 79 casos de hepatite medicamentosa estudou-se a reactividade linfocitária a várias concentrações dos fármacos suspeitos, utilizando o TTB, de acordo com metodologia descrita em artigos anteriores.¹⁸ Em 74 casos, para além desta abordagem, realizaram-se culturas linfocitárias na presença de um inibidor prostaglandínico¹⁹⁻²¹ e em 25 casos os linfocitos dos doentes foram também cultivados na presença de "metabolitos" dos fármacos preparados ex-vivo.²²⁻²⁴ Em cada caso foi sempre estudado simultaneamente pelo menos um controlo saudável, num total de 84. Estudaram-se igualmente 10 voluntários com exposição prévia aos mesmos fármacos mas sem que tivessem desenvolvido qualquer tipo de reacção adversa e 5 doentes com doença hepática não relacionada com medicamentos.

Na figura 6 estão representados os resultados dos estudos realizados num caso de hepatite pelo etilsuccinato de eritromicina. Pode verificar-se que no caso do doente, a estimulação dos linfocitos pelo fármaco levou a uma proliferação linfocitária significativa (índice de estimulação igual ou superior a 2) para 2 das 5 concentrações estudadas. Pelo contrário, nas culturas de um indivíduo saudável, de um doente com doença hepática não relacionada com medicamentos e de um doente previamente exposto ao mesmo fármaco sem reacção adversa, não se verificou qualquer aumento significativo na proliferação linfocitária na presença do fármaco.

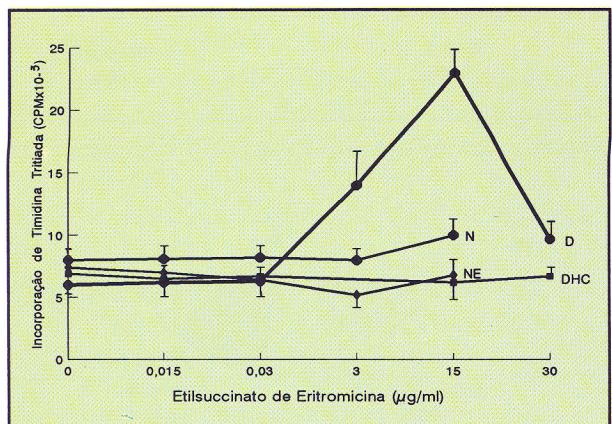


Figura 6 - Hepatite pelo etilsuccinato de eritromicina. D - doente; N - controlo saudável; NE - controlo saudável com exposição prévia à eritromicina sem reacção adversa; DHC - doente com doença hepática crónica não relacionada co medicamentos.

Num outro caso de hepatite associada ao enalapril (Figura 7) a estimulação dos linfocitos pelo fármaco não induziu qualquer proliferação linfocitária, o mesmo acontecendo com os dois tipos de controlos estudados. Porém, quando se adicionou um inibidor prostaglandínico (indometacina) ao sistema de cultura, verificou-se uma proliferação linfocitária significativa para todas as concentrações de fármaco estudadas, no caso do doente.

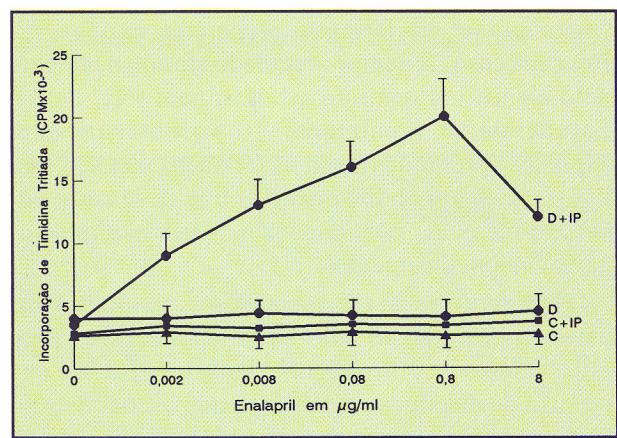


Figura 7 - Hepatite pelo enalapril. D - doente; C - controlo saudável; IP - inibidor das prostaglandinas.

Num caso de hepatite induzida pela mianserina, a estimulação dos linfocitos do doente pelo fármaco não originou qualquer proliferação linfocitária. Contudo, quando os linfócitos foram cultivados na

presença de um soro colhido de um indivíduo saudável 1 hora após a ingestão de uma dose terapêutica do fármaco ("soro contendo metabolitos"), verificou-se reactividade linfocitária significativa (Figura 8).

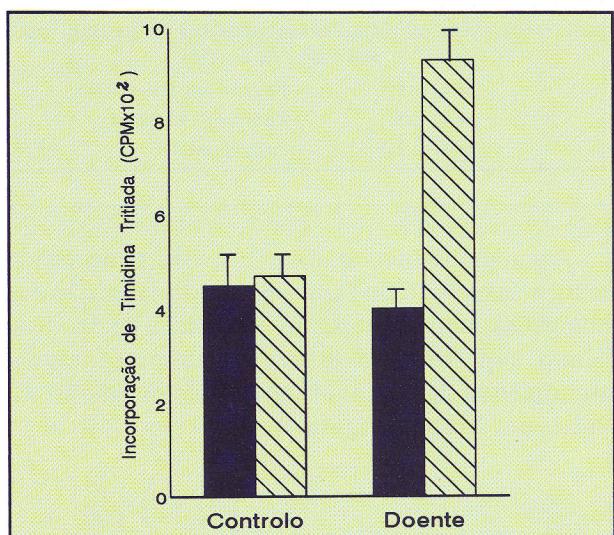


Figura 8 - Hepatite pela mianserina. ■ - culturas com "soro controlo"; ▨ - culturas com "soro contendo metabolitos".

Em alguns casos, apenas a conjunção destas duas abordagens ("soro contendo metabolitos" e adição de inibidor prostaglandínico) permitiu detectar sensibilização linfocitária aos fármacos, como é exemplificado na figura 9.

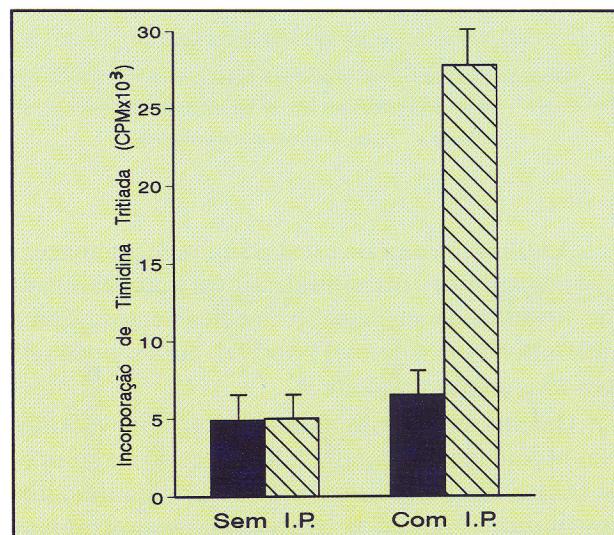


Figura 9 - Hepatite pelo cotrimoxazol. ■ - culturas com "soro controlo"; ▨ - culturas com "soro contendo metabolitos".

Em outros casos, é possível observar reactividade nas condições standard, ou seja, quando os linfócitos são expostos ao fármaco, mas essa reactividade é aumentada quando se adiciona o inibidor prostaglandínico ao sistema de cultura (Figura 10).

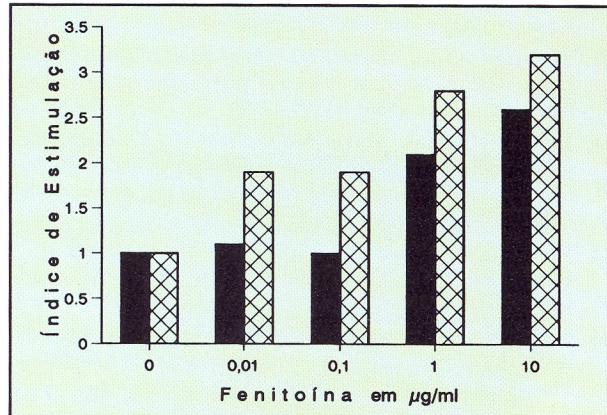


Figura 10 - Hepatite pela fenitoína. ■ - sem inibidor das prostaglandinas; ▨ - com inibidor das prostaglandinas.

Quando analisamos os resultados globais dos estudos realizados nesta série de 79 casos de hepatite medicamentosa, pode verificar-se que o TTB nas condições standard foi positivo apenas em 29% dos casos. Nos 74 casos em que se adicionou um inibidor prostaglandínico às culturas linfocitárias detectou-se reactividade significativa em 42 (57%). Por outro lado, a utilização do "soro contendo metabolitos" permitiu detectar reactividade em 9 dos 25 casos estudados com esta abordagem (35%). Globalmente detectou-se sensibilização linfocitária aos fármacos em 53 dos 79 casos. Nos 28 casos em que foi possível utilizar simultaneamente as três abordagens a percentagem de positividade subiu para 86%.

Em todos os casos em que foram estudados dois ou mais fármacos, detectou-se sensibilização linfocitária apenas para um deles.

Por outro lado, não se verificou reactividade linfocitária significativa em nenhum dos diferentes controles estudados.

CONCLUSÕES .

As hepatopatias medicamentosas, apesar de relativamente pouco frequentes, constituem um importante problema clínico, quer pelas dificuldades

de diagnóstico que colocam quer pelas implicações terapêuticas e epidemiológicas. O diagnóstico das hepatopatias medicamentosas exige da parte dos clínicos um elevado grau de suspeição e o seguimento de um protocolo rigoroso no estabelecimento de uma relação temporal consistente e na exclusão de causas alternativas. A utilização de testes imunológicos e ou metabólicos, apesar da sua complexidade e dificuldade de valorização, pode justificar-se em casos seleccionados, nomeadamente em casos de polimedicação e em que a identificação do fármaco responsável se revela indispensável ao prosseguimento de terapêuticas consideradas fundamentais para o doente.

Na nossa série de 79 casos de hepatopatia medicamentosa, as modificações metodológicas introduzidas no TTB permitiram aumentar significativamente a capacidade de detecção de sensibilização linfocitária aos fármacos sem perda de especificidade, na medida em que todos os controlos estudados foram negativos. Estudos mais recentes realizados pelo nosso grupo de trabalho sugerem a possibilidade de aumentar ainda mais a sensibilidade do teste com novas modificações metodológicas.²⁵

De qualquer modo, os mecanismos imunológicos envolvidos nas lesões hepáticas medicamentosas estão ainda insuficientemente caracterizados. O prosseguimento deste estudo poderá contribuir para uma melhoria da capacidade diagnóstica e para a identificação de factores de risco de hipersensibilidade a determinados fármacos no caso individual, o que teria óbvias implicações em termos de prevenção.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Miguel Carneiro de Moura todas as facilidades concedidas no Serviço de Medicina 2 e o interesse e apoio em relação ao presente trabalho. Agradecem ainda aos colegas que referenciaram casos ao nosso núcleo de estudos de reacções adversas medicamentosas.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

- Maria VAJ, Carvalho ML, Pimpão MV, Azevedo JS, Carreira MA, Victorino RMM.** Estudo clínico-epidemiológico de reacções adversas a medicamentos em cuidados de saúde primários. *Arquivos Instituto Nacional saúde*, 1988; 13:145-172.
- Lewis JH, Zimmerman HJ.** Drug-induced liver disease. *Med Cl North Am*, 1989; 73:775-792.

3. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Toxic and drug-induced hepatitis. In: Schiff L and Schiff ER (eds). Disease of the liver. JB Lippincott Company, Philadelphia, 1987; 591-667.
4. Ransohoff DF, Jacobs G. Terminal hepatic failure following a small dose of sulfamethoxazole-trimethoprim. *Gastroenterology*, 1981; 80:816-819.
5. Paiva LA, Wright PJ, Koff RS. Long-term hepatic memory for hypersensitivity to nitrofurantoin. *Am J Gastroenterol*, 1992; 87: 891-893.
6. Uetrecht JP. Idiosyncratic drug reactions: possible role of reactive metabolites generated by leukocytes. *Pharmacol Res*, 1989; 6:265-273.
7. Kaplowitz N, Aw T, Simon FR, Stoltz A. Drug-induced hepatotoxicity. *Ann Intern Med*, 1986; 104:826-839.
8. Park BK, Coleman JW. The immunological basis of adverse drug reactions. A report on a symposium held in Liverpool on 6th April 1988. *BR Clin Pharm*, 1988; 26:491-495.
9. Pohl LR, Satoh H, Christ DD, Kenn JG. The immunologic and metabolic basis of drug hypersensitivities. *Ann Rev Pharmacol*, 1988; 28:367-387.
10. Wilson RA. The liver. Its role in drug biotransformation and as target of immunologic injury. *Immunol Allergy Clin N* 1991; 11:555-574.
11. Tsutsui H, Terano Y, Sakagami C, Hasegawa I, Mizoguchi Y, Morisawa S. Drug-specific T cells derived from patients with drug-induced allergic hepatitis. *J Immunol*, 1992; 149:706-716.
12. Walton B, Dumonde DQ, Williams C, et al. Lymphocyte transformation. Absence of increased responses in alleged halothane jaundice. *J Amer Med Ass*, 1973; 225:494-498.
13. Rotmensch HH, Leiser A, Dan M, et al. Evaluation of prajmalium-induced cholestasis by immunological tests. *Arch Intern Med*, 1981; 141:1797-1801.
14. Goodwin JS, Bankhurst AD, Messner RP. Suppression of T cell mitogenesis by prostaglandin: existence of a prostaglandin producing suppressor cell. *J Exp Med*, 1977;9:1719-1734.
15. Shearman DJC, Finlayson NDC. Drugs, toxins and the Liver. In: Diseases of the gastrointestinal tract and liver. London, Churchill Livingstone, 1989.
16. Danan G, Benichou C, Begaud B, Biour M et al. Critères d'imputation d'une hépatite aigüe à un médicament. *Gastroenterol Clin Biol*, 1987; 11: 581-585.
17. Maria VAJ, Victorino RMM. Utilização de uma escala clínica para imputação de hepatites a medicamentos. 1994 (em publicação).
18. Maria VAJ, Pinto LA, Victorino RMM. Estudos de imunidade celular em hepatopatias medicamentosas e seu valor diagnóstico. *J Soc Ciências Med*, 1988; 9, 10:372-387.
19. Victorino RMM, Maria VAJ, Modifications of lymphocyte transformation test in a case drug-induced cholestatic hepatitis. *Diagn Immunol*, 1985;3:177-181.
20. Victorino RMM, Maria VAJ. Drug-induced hepatitis and lymphocyte transformation test in presence of prostagladin inhibitor. *Lancet*, 1986; 1:1209-1210.
21. Victorino RMM, Maria VAJ, Pinto L. Evidence for prostagladin producing suppressor cells in drug-induced liver injury and implications in the diagnosis of drug sensitization. *Clin Exp Immunol*, 1992; 87:132-137.
22. Victorino RMM, Maria VAJ, Correia AP, de Moura MC. Floxacillin-induced cholestatic hepatitis with evidence of lymphocyte sensitization. *Arch Intern Med*, 1987; 147:987-989
23. Maria VAJ, Victorino RMM. Hypersensitivity immune reaction as a mechanism for dilevalol-associated hepatitis. *Ann Pharmacother*, 1992; 26:924-926.
24. Maria VAJ, Pinto L, Victorino RMM. Lymphocyte reactivity to drug ex-vivo antigens in drug-induced hepatitis. *J Hepatol*, 1994 (em publicação).
25. Maria VAJ, Victorino RMM. Lymphocyte proliferation to drugs: analysis of the value of a 24 well lymphocyte culture system. *Toxicology in vitro*, 1994 (em publicação).

Correspondência:

Dr. Vasco A. J. Maria
Faculdade de Santa Maria
Serviço de Medicina 2 - Piso 2
Av. Prof. Egas Moniz
1600 LISBOA

Asma e Urticária em Dissociação Clínica

PEREIRA, A.C.¹; LOUREIRO, A.C.²; TODO-BOM, A.²; FARIA, E.¹; PINTO-MENDES, J.³; CHIEIRA, C.⁴; ROBALO CORDEIRO, A.J.A.⁵

RESUMO

Estudaram-se 21 doentes com asma e urticária crónica, em que o curso clínico de cada uma das entidades se processa de forma independente ou flutuante, mas nunca sobreponível, diferente, pois, do síndrome de urticária de contacto. Todos os doentes foram submetidos, em período de estabilização sintomatológica, respiratória e cutânea, a estudo sérico de imunoglobulinas, C3, C4, CH100 e CIC; testes cutâneos de alergia por «prick» a alergenos comuns (determinações de IgE específica-CAP em função de «prick»); estudo funcional ventilatório; biópsia cutânea com coloração pela hematoxilina-eosina.

A média de IgE foi considerada elevada, 278.6 ± 308.1 KU/L, e com significância estatística ($p=0.012$) entre o grupo não alérgico e o grupo de doentes alérgicos («prick» e IgE específica-CAP).

Os parâmetros ventilatórios apresentaram os seguintes valores médios: VEMS= $92.3 \pm 6.3\%$, DEMI= $85.6 \pm 6.3\%$ e CV= $87.6 \pm 6.8\%$, sendo os indivíduos alérgicos os que apresentaram, globalmente, os valores mais elevados, ainda que sem significado estatístico.

A vasculite cutânea linfocitária normocomplementémica foi observada em 5 doentes. Não existiu correlação dos parâmetros ventilatórios com os resultados da histologia cutânea ($R=0.023$); histologia e testes cutâneos ($R=0.07$) e parâmetros ventilatórios e testes cutâneos ($R=0.39$).

Estes resultados sugerem a aparente independência dos mecanismos fisiopatológicos, da asma e da urticária crónica quando presentes no mesmo indivíduo em tempos diferentes.

PALAVRAS-CHAVE: Asma, Urticária.

SUMMARY:

ASTHMA AND URTICARIA IN CLINICAL DISSOCIATION

A total of 21 patients with asthma and chronic urticaria was studied, in which the clinical evolution of both entities occurs independent between each others, with a floating profile, but never simultaneously, so completely different from contact urticaria syndrom. All of them were submitted, in a intercrisis period, respiratory and cutaneous, to the following procedures: serum immunoglobulins, serum C3 and C4, CH100, CIC, skin prick tests to standard allergens (specific IgE-CAP according prick), lung function tests, skin biopsy with hematoxilin-eosine stain.

The mean IgE value was considered increased, 276.6 ± 308.1 KU/L, and a statistic significant difference was found ($p=0.012$) between groups, allergic and non-allergic (prick and specific IgE-CAP).

The ventilatory parameters showed the following mean values: FEV1= $92.3 \pm 6.3\%$, PEF= $85.6 \pm 6.3\%$ and VC= $87.6 \pm 6.8\%$, and the allergic patients presented the highest results, but without statistic significance.

The skin lymphocytic normocomplementemic vasculitis was observed in 5 patients. We didn't found statistic correlation between ventilatory parameters and skin histology ($R=0.023$); skin histology and skin prick tests ($R=0.07$) and between the last one and ventilatory parameters ($R=0.39$).

- 1 - Interno do Internato Complementar de Imunoalergologia, HUC
 - 2 - Assistente Hospitalar de Imunoalergologia, HUC
 - 3 - Assistente Hospitalar Graduado de Imunoalergologia, HUC
 - 4 - Chefe de Serviço de Imunoalergologia, HUC
 - 5 - Director de Serviço de Pneumologia, HUC. Prof. Catedrático da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
- Unidade de Imunoalergologia
Serviço de Pneumologia
Hospitais da Universidade de Coimbra

These results suggest the apparent independence of both physiopathologic mechanisms, without mutual conditioning clinical evolution of Asthma and Urticaria, present simultaneously in a same patient, but with a dissociable profile.

KEY-WOROS: *Asthma, Urticaria.*

INTRODUÇÃO

A asma brônquica e a urticária crónica representam duas patologias comuns no âmbito de uma Consulta de Imunoalergologia. Mas, se já é pouco frequente a concomitância das duas patologias no mesmo doente, é excepcional uma evolução clínica paralela no que respeita ao aparecimento e intensidade dos sintomas.

A associação urticária-manifestações respiratórias (com ou sem estridor laríngeo e/ou edema profundo da derme e mucosas) pode surgir no âmbito mais vasto do fenómeno anafilático,¹ em resposta a um alergeno proteico ou uma molécula com capacidade de indução da activação e desgranulação de basófilos circulantes e suas complexas consequências brônquicas, onde a histamina e a serotonina constituem importantes actores naquela panóplia de acontecimentos.

Se na urticária alérgica,²⁻⁶ o contributo da histamina é fundamental no processo fisiopatológico e é confirmado pelo aparente e eficaz controlo farmacológico com antagonistas H1, na urticária crónica^{2,7-10} a intervenção mais elaborada, diversificada e complexa da população celular residente ou ocasional, nomeadamente queratinócitos, macrófagos, linfócitos e mastócitos, condiciona uma sucessão de acontecimentos que limita frequentemente o controlo terapêutico com aqueles fármacos.

Na asma alérgica¹¹⁻¹³ as particularidades da infiltração celular da parede brônquica e, consequentemente, da cascata inflamatória, tornam ainda mais complexa a abordagem terapêutica, onde os anti-histamínicos têm um papel pouco relevante ou praticamente desprezível.

Fisher em 1973, introduziu, em doentes atópicos, a designação de urticária de contacto,¹⁴ actualizada e explanada, dois anos mais tarde, por Maibach e Johnson que propõem uma denominação mais abrangente, a síndrome de urticária de contacto.¹⁵⁻¹⁷ Esta entidade pretendia enquadrar um espectro de manifestações cutâneas locais, de eritema pruriginoso com pápula, associado, eventualmente, a um conjunto de sinais e sintomas sistémicos, englobando manifestações clínicas de rinoconjuntivite, disfunção gastrointestinal, asma e anafilaxia. Nestes doentes, a

presença de manifestações respiratórias, quando presentes, ocorrem sempre e caracteristicamente com as lesões de urticária em simultâneo ou em discrepância temporal pouco relevante.¹⁵

Esta síndrome tem adquirido uma importância crescente, demonstrada pela diversificação de agentes etiológicos e das vias de sensibilização, como pela profusão de relatos clínicos que lhe conferem um já relativo peso no conjunto das várias formas de dermatite de contacto, nomeadamente em patologia profissional.¹⁸

Para ela são propostas vários mecanismos.¹⁸⁻¹⁹ Um não imune, onde o contacto cutâneo promove uma libertação directa de histamina, leucotrienos, prostaglandinas, cininas, plasmina, Subs. P, etc. e, à semelhança de um tóxico, induz lesões limitadas ao local de contacto.

Um mecanismo de hipersensibilidade mediado por IgE tem, no conjunto desta síndrome, uma prevalência de 26% e destes 15% apresentam manifestações respiratórias. A forma de "contacto", iniciadora do processo não é exclusiva da superfície cutânea, podendo a apresentação do alergeno ser processada a nível da orofaringe, mucosa brônquica e digestiva. Consideram-se 4 estádios: 1 - lesões de urticária localizadas; 2 - urticária generalizada e eventualmente angiodema; 3 - urticária e sintomatologia extracutânea como asma, rinoconjuntivite, disfunção laringea ou sintomatologia digestiva e 4 - urticária com anafilaxia.

Mas muitas vezes o mecanismo não é conhecido, embora as descrições clínicas sugiram um mecanismo imune, enquanto noutras, as formas são claramente mistas, associando a intervenção das IgE e da irritabilidade directa.

Em doentes alérgicos com manifestações clínicas de asma e urticária, ainda que possa existir agentes etiológicos aparentemente comuns, o mecanismo fisiopatológico é, como dizíamos, significativamente diferente.^{2,20-27}

Será distinta a célula apresentadora de antígeno (queratinócito ou célula dendrítica da derme e macrófago no brônquico) e na asma é aparentemente mais complicada a sequência de acontecimentos celulares e bioquímicos que na urticária parecem mais limitados, tanto quanto se sabe, quer no desempenho celular dominante do mastócito, do queratinócito, do linfócito e, eventualmente, da célula endotelial, como na actuação dos mediadores solúveis (IL1, PAF, Subs P, aminas e cininas vasoactivas) e dos sistemas de controlo e retrocontrolo (sistemas não-adrenérgico não-colinérgico, coagulação-fibrinólise). Daí que seja distinto o resultado final da

inflamação, do ponto de vista clínico, patológico e terapêutico.

Se a asma e a urticária com processos fisiopatológicos distintos ocorrerem num mesmo indivíduo, parece legítimo pressupor, sobretudo se a evolução clínica o sugerir, a existência de um elo, comum, ainda que não esclarecido na maioria dos casos, ou uma correlação entre ambos os distúrbios, eventualmente enquadrados numa mesma disfunção. Todavia, num número restrito de doentes, com manifestações clínicas de asma brônquica e urticária crónica, observa-se uma efectiva dissociação clínica sintomatológica, em que os períodos de agudização de lesões cutâneas não se acompanham de sintomatologia respiratória, e vice-versa, sugerindo uma relação mais dúbia.²⁸⁻³⁰

Acossados por estas dúvidas, pretendemos caracterizar um grupo de doentes da Consulta Imuno-Alergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra que apresentavam asma e urticária crónica, mas, em tempos evolutivos distintos.

MATERIAL E MÉTODOS

Em estudo abrangendo doentes, alérgicos e não alérgicos, portadores de asma brônquica e urticária crónica em aparente dissociação clínica, que frequentaram a Consulta de Imuno-Alergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra, nos anos de 1990 a 1992, procurou-se uma caracterização clínica e laboratorial apropriada a cada uma das patologias. Reunimos 21 doentes, 5 do sexo masculino e 16 do sexo feminino, com média de idades de 34.7 ± 14.2 anos, com um tempo médio de evolução de doença de 8 ± 3.2 anos.

Em período de remissão sintomatológico, para ambas as situações, procedeu-se à caracterização clínica, atendendo às condições habitualmente implicadas em cada uma destas entidades e a avaliação laboratorial em relação aos seguintes parâmetros.

- Hemograma com leucograma
- Bioquímica sanguínea (ionograma e enzimologia hepática)
- Exame parasitológico de fezes
- Imunoglobulinas séricas
- Estudo do complemento para as fracções C3 e C4 e determinação de CH100
- Pesquisa de complexos imunes circulantes (CIC)

- Testes cutâneos de alergia por método de Prick, para a batéria «standard» a alergenos comuns
- IgE específica em função dos resultados de «prick»
- Biópsia cutânea com corte por ultracongelação e coloração por hematoxilina-eosina.
- Estudo ventilatório, atendendo a VEMS, DEMI e DEM50.

Todos os doentes foram submetidos a exame clínico completo, sendo excluída a existência de infestação intestinal parasitária ou a ingestão crónica de drogas, excepto corticosteroide e broncodilatador beta₂ selectivo inalados e anti-histamínicos H1 sistémico. O estudo laboratorial foi realizado num mesmo tempo, em período de intercrise, respiratório e cutâneo.

Foram correlacionados os grupos de atópicos e não atópicos com a histologia cutânea e parâmetros funcionais ventilatórios e estes últimos entre si de modo a inferir eventuais factores de gravidade ou condicionantes de agravamento clínico.

A análise estatística foi efectuada segundo o método de t de Student para variáveis não emparelhadas e a correlação pela análise da curva de regressão linear.

RESULTADOS

Nos doentes estudados não foram observadas alterações nos exames do estado geral, e não foram evidentes antecedentes patológicos relevantes, para além dos antecedentes familiares de patologia alérgica em 7.

Em relação aos eventuais desencadeantes ou condicionantes do agravamento clínico (Quadro 1), em 7 doentes, ou seja 33,3%, não foram descritos quaisquer agressógenos ou situações interpretadas como directamente relacionadas com o começo de sintomatologia respiratória ou cutânea. Nos restantes doentes, em relação a situações particulares, habitualmente descritas como factores condicionantes de exacerbação clínica, não se verificou correlação directa evidente entre as entidades clínicas e nosológicas em estudo, asma e urticária.

O estudo da bioquímica sanguínea e o hemograma revelaram-se normais em toda a amostra e não foi observada eosinofílica sanguínea em qualquer dos doentes estudados.

QUADRO 1

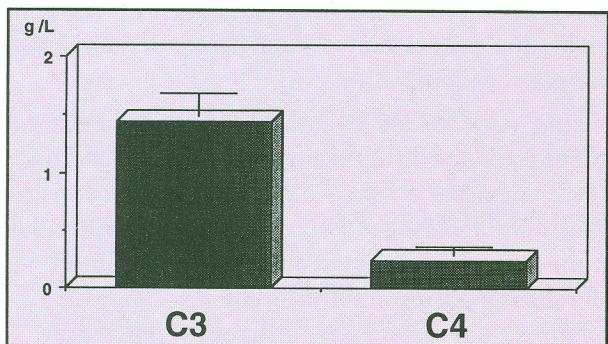
FACTORES DESENCADEANTES, EVENTUAIS, REFERIDOS NO INTERROGATÓRIO CLÍNICO

n=21 *URTICÁRIA **ASMA	TOTAL		ALÉRGICOS		NÃO ALÉRGICOS	
	*	**	*	**	*	**
Não identificados	8	7	3	3	5	4
Empoeiramento	4	5	4	4	0	1
Irritantes inespecíficos	4	8	1	3	3	5
Sazonal	8	6	6	4	2	2
Stress	4	7	3	2	1	5
Frio	1		0		1	
Exercício	1	4	0	1	1	3
Alimentos	1		0		1	
Sudorese	2		1		1	
Banho	1		1		0	
Pressão	2		0		2	
Cataménios	3	2	2	1	1	1

Quanto às determinações do complemento sérico (Fig. 1) as concentrações das fracções C3 e C4 encontravam-se dentro dos valores de referência, bem como a determinação de CH100. Não foram observados complexos imunes circulantes em qualquer doente.

FIGURA 1

COMPLEMENTÉMIA, CE e C4



Do mesmo modo as determinações de IgG e IgA e IgM (Fig. 2) apresentaram concentrações normais em toda a amostra. Em relação à IgE sérica por CAP (Fig. 3) observou-se um valor médio de 263 ± 241 KU/L.

Os parâmetros ventilatórios, em período de estabilização clínica, não apresentaram alterações significativas (Fig. 4).

Quanto ao estudo histológico de biópsia cutânea, também em intercrise, revelou 9 doentes com histologia considerada normal, 7 doentes, com fenómenos de pervasculite e 5 doentes com fenómenos de vasculite linfocitária com localização na derme superficial.

Os testes cutâneos por «prick» para pneumoalergenos comuns (Fig. 5) foram positivos (3+ ou 4+) em 10 doentes, com confirmação por IgE específica sérica, e a média de IgE para os dois grupos, alérgicos (455.7 ± 363.6 KU/L) e não alérgicos (119.2 ± 112.8 KU/L), foi significativamente diferente ($p=0.012$).

FIGURA 2
IMUNOGLOBULINAS SÉRICAS - IgG, IgA e IgM

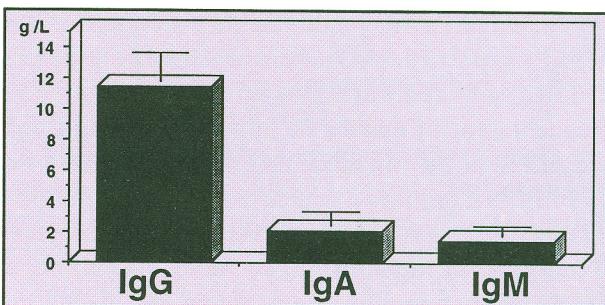


FIGURA 3
IgE SÉRICA, CAP

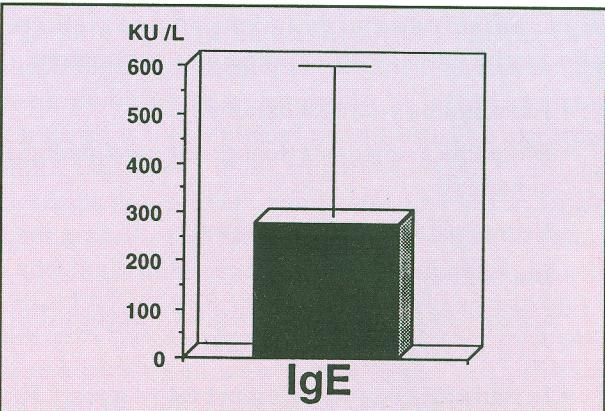
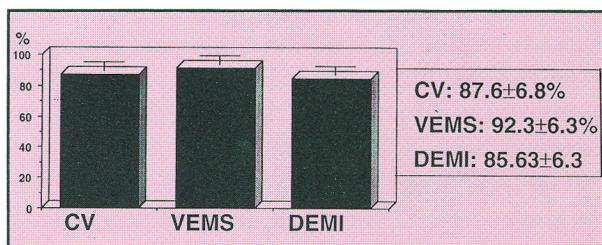
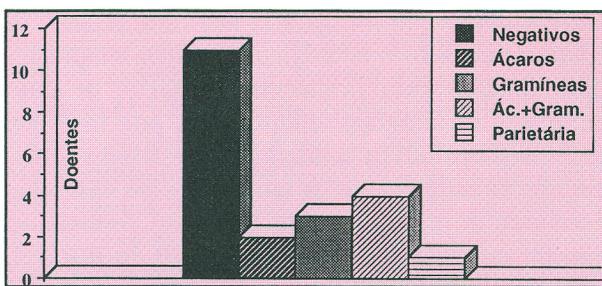
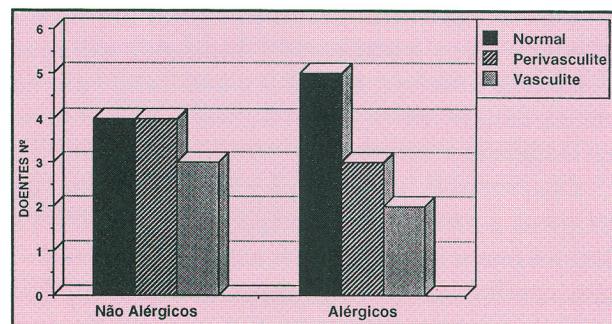
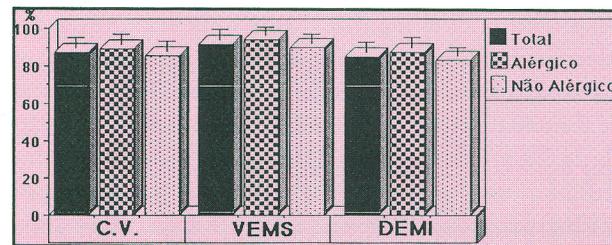
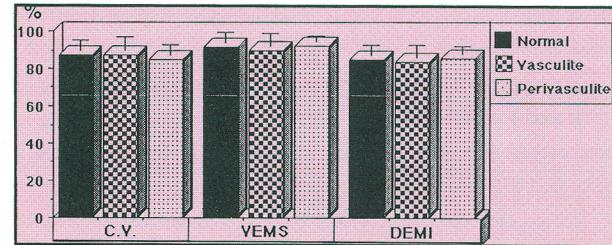


FIGURA 4**PARÂMETROS VENTILATÓRIOS****FIGURA 5****TESTES CUTÂNEOS (PRICK)**

Quando comparados os grupos alérgico e não alérgico com a histologia cutânea (Fig. 6) não foi obtida correlação com significado estatístico ($R=0.07$); o mesmo para os parâmetros ventilatórios e os grupos alérgicos e não alérgicos (Fig. 7) ($R=0.39$); e os parâmetros ventilatórios com a histologia cutânea (Fig. 8) ($R=0.023$).

DISCUSSÃO

O número de doentes apresentando em simultâneo clínica de asma brônquica e urticária crônica, mas com aparente dissociação clínica sintomática, foi relativamente reduzido no período de estudo de 3 anos, em relação (ainda que não quantificado) com o número total de doentes observados por qualquer uma das duas entidades nosológicas em análise. A revisão da literatura não assinala séries de doentes com estas permissas, pelo que o verdadeiro aliciamento e estímulo que resulta da comparação dos resultados do nosso estudo não é possível nesta fase. Porém, são descritos casos clínicos, isolados, de doentes com asma e urticária não simultâneas,^{28,30} induzidas pelo exercício, mas com objectivos de estudo não sobreponíveis aos indivíduos desta amostra.

FIGURA 6**CORRELAÇÃO ATOPIA E HISTOLOGIA CUTÂNEA****FIGURA 7****PARÂMETROS VENTILATÓRIOS EM ALÉRGICOS E NÃO ALÉRGICOS****FIGURA 8****PARÂMETROS VENTILATÓRIOS NOS DIFERENTES GRUPOS HISTOLÓGICOS**

De facto, como foi referido anteriormente, o diagnóstico da síndrome de urticária de contacto, tal como é descrito actualmente, não é possível nos nossos doentes, já que não se cumpre uma premissa obrigatória da definição, a simultaneidade do aparecimento de sinais brônquicos e cutâneos,¹⁵ mesmo que o agente etiológico seja apresentado por outra via que não a cutânea.

O predomínio significativo de doentes do sexo feminino nesta amostra é semelhante ao peso relativo observado na casuística do nosso Serviço, de doentes

com o diagnóstico exclusivo de urticária crónica,³¹ segundo os critérios de Kaplan, ainda que não esteja reportada uma incidência discrepante entre sexos.^{2,3}

Em relação aos factores evocados como responsáveis pelo desencadear de dispneia sibilante e lesões de urticária, não existiu uma correlação ou concordância entre os diferentes estímulos e agressógenos referidos.

Observou-se uma proporção semelhante de alérgicos e não alérgicos, respectivamente 10 e 11 doentes (em relação aos testes cutâneos por «prick», com confirmação por IgE específica-CAP), a que corresponderam determinações médias de IgE significativamente diferentes. No grupo de doentes não alérgicos este valor ainda que apresentando um desvio em relação aos valores de referência^{2,3} é porém aproximado do valor médio apresentado por doentes com clínica isolada de urticária crónica observados na nossa consulta.³¹ A expressão deste resultado poderá significar que uma sensibilização alérgica mediada por IgE não foi de todo excluída, ou os valores de referência estão desadequados à realidade do nosso país,³² ou ainda porque a elevação da IgE é apenas um dos componentes do fenómeno inflamatório³³ e com coeficiente preditivo de atopía muito reduzido.^{34,35} De qualquer modo, os resultados observados no grupo alérgico não apresentaram um comportamento distante do reconhecido em doentes com asma ou urticária alérgicas.

Em período de intercrise, não foram descritas, globalmente, alterações significativas nos parâmetros ventilatórios, mesmo entre ambos os grupos não alérgicos e alérgicos, ainda que nestes últimos tenham sido observados valores discretamente mais elevados.

Em relação ao estudo histológico, também ele realizado em período de estabilização clínica, a presença de fenómenos de vasculite linfocitária ocorreu em 5 dos 21 doentes (23,8%) salientando-se o facto de serem observados, em toda amostra, determinações de CH100 e das concentrações das fracções C3 e C4 em valores normais e ausência de CIC com significado.

Na urticária crónica, a vasculite cutânea linfocitária ou leucocitoclásica, representa segundo a maioria das séries uma observação pouco comum e com reduzida expressão, sendo acompanhada, characteristicamente, de consumo de complemento.^{2,3,36,37} A vasculite normocomplementémica é, porém, uma observação ainda mais rara, com referências isoladas e pontuais.⁴⁵⁻⁴⁸ Kaplan considera que a presença de infiltrado linfocitário perivascular (perivasculite) é na maioria dos casos interpretada de modo erróneo como vasculite, razão

para a discrepança de resultados.² Efectivamente, é necessária a presença de necrose e infiltrado da parede do vaso e simultaneamente infiltrado perivascular para o diagnóstico seguro e definitivo. Estes foram e são os critérios presentes na identificação e estudo da peça de biópsia, pelo que nestes doentes é possível descrever com segurança estes resultados histológicos.

De facto, num estudo por nós efectuado⁴⁹ em doentes com urticária crónica, onde se seleccionaram um grupo de indivíduos com diagnóstico de vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica e um outro com urticária crónica e histologia normal, concluimos pela diferença significativa existente na população linfocitária da derme. Neste estudo, se foi possível reconhecer e definir algumas diferenças entre a população linfocitária nos dois grupos, os conhecimentos fisiopatológicos são ainda incipientes para concluir pela existência, de facto, de duas entidades nosológicas distintas ou por fases ou processos evolutivos celulares do mesmo distúrbio, em que eventualmente os fenómenos de vasculite, perivasculite e ausência de infiltrado linfocitário cursam no mesmo doente, em equilíbrio instável, provavelmente lábil, mas seguramente dependentes de estímulos e mecanismos ainda não estabelecidos.

Supostamente, nesta amostra, seria esperada uma relação mais estreita da presença de vasculite cutânea com o grupo de indivíduos não alérgicos, porém os resultados foram semelhantes aos observados em alérgicos, sem que tenha coexistido infiltrado ou presença de eosinófilos.

Nesta amostra os resultados percentuais do estudo de biópsia, para vasculite, perivasculite e exame normal, foi também sobreponível ao referenciado na casuística do Serviço, em doentes com diagnóstico de urticária crónica.³¹

Na asma brônquica, a tipagem de fragmentos de biópsia têm permitido um conhecimento gradual da população celular do infiltrado inflamatório, quer em estudos de necrópsia de indivíduos falecidos por asma quer em indivíduos em período de estabilização clínica. O linfócito intraepitelial está presente, sempre, no indivíduo normal,⁵² mas o linfócito da sub-mucosa brônquica, parte interessada do BALT,⁵⁰ parece ser incipiente, ou mesmo inexistente, na mucosa normal.⁵¹ Porém, a sua existência é confirmada de forma exuberante em situações de infecções respiratórias crónicas ou nas localizações adjacentes à exposição antigénica.

Na asma brônquica diversos estudos têm confirmado que em ambos os lados da membrana basal espessada, se verifica um aumento

do número de linfócitos expressando HLA-DR, CD25, e CD4+.⁵²⁻⁵⁵ O contributo do linfócito T CD4+ na fisiopatologia da asma, durante algum tempo controverso, é hoje reconhecido como relevante, quer na regulação da síntese de IgE,⁵⁷ pela dicotomia TH1 e TH2, quer na produção de factores quimiotácticos, de crescimento e de activação de outras células, constituindo um elemento central de regulação e contrarregulação do complexo sistema de intervenientes.^{24,56}

Recentemente, verificou-se a presença de infiltrado de linfócitos CD45R0 na mucosa brônquica, pressupondo que os linfócitos T de memória são parte importante e fundamental na inflamação crónica subjacente na asma.^{58,59}

Quando se compararam, no nosso estudo, os resultados da histologia cutânea com os parâmetros funcionais ventilatórios não existe correlação estatisticamente significativa. Salienta-se que a presença de vasculite linfocitária, localizada à derme superior, em 5 dos 21 doentes do estudo, não constituiu um factor condicionante de gravidade clínica da asma, nem resultou em valores de CV, VEMS e DEMI mais reduzidos que os observados nos grupos com perivasculite e histologia normal.

Na asma brônquica a vasculite brônquica não foi até ao presente reconhecida, excepto quando coexiste com outra patologia sistémica como por exemplo a vasculite de Churg Strauss ou o lupus. Todavia, como foi salientado anteriormente, a presença de linfócitos CD45R0 foi observado em biópsias de asmáticos em períodos de estabilização clínica.^{58,59} Da mesma forma, em estudo anterior em doentes com vasculite urticariana, sem asma brônquica associada, verificamos que a marcação de linfócitos CD45R0 na derme representava 54.1±17.8% da população linfocitária da derme, resultado significativamente diferente do observado no grupo controlo, urticária crónica com histologia normal, 87.8±13.4% ($p=0.0018$).⁴⁹ Assim, pressupondo que em doentes com asma e urticária em dissociação clínica, os fenómenos de vasculite linfocitária cutânea possam ocorrer noutras localizações, a observarem-se na mucosa ou na sub-mucosa da árvore brônquica, nada indica, com os dados que recolhemos, que esta seja uma condicionante da evolução clínica da asma.

Considera-se ser oportuna a realização futura de biópsia brônquica e cutânea, no mesmo tempo de estudo, o que não sucedeu nestes doentes em estudo, para comparação eventual de resultados e marcação fenotípica da população celular, nomeadamente em situações de agudização de uma ou de outra patologia.

A inexistência de outras séries na literatura, limita a comparação de resultados e confere o risco da especulação necessariamente excessiva e abusiva. Porém, nestes doentes com asma brônquica e urticária com dissociação sintomatológica, a interpretação global dos resultados sugere a concomitância de dois mecanismos fisiopatológicos distintos e independentes, no mesmo doente, porque não são patentes, aparentemente, pontos de tangência ou de intercepção entre ambas as entidades.

BIBLIOGRAFIA

1. Marquardt DL, Wasserman SI. Anaphylaxis. In Allergy: Principles and Practice. Middleton E, Reed CE, Ellis EF et al Eds. St. Louis, CV Mosby, 4^a ED, 1993: 1524-36.
2. Kaplan AP. Urticaria and Angioedema. In allergy: Principles and Practice. Middleton E, Reed CE, Ellis EF et al Eds. St. Louis CV Mosby, 4^a ED, 1993: 1553-80.
3. Huston DP, Bressler RB. Urticaria and Angioedema. The Medical Clinics of North America. *Clinical Allergy* 1992; 76(4): 805-40.
4. Holgate ST. The mast cell and its function in allergic disease. *Clin Exp Allergy* 1991; 21: 11-16.
5. Church MK, El-Lati S, Okayama Y. Biological properties of human skin mast cells. *Clin Exp Allergy* 1991; 21 (sup 3): 1-9.
6. Ring J. Atopic Diseases and Mediators. Antihistamine H1 and Allergy Mechanisms of action. *Int Arc of Allergy and Immunology* 1993; 101: 305-7.
7. Smith CH, Soh C, Lee TH. Cutaneous histamine metabolism in chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 944-50.
8. Rosenstreich DL. Chronic urticaria, activated T cells, and mast cell releasability. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 1099-102.
9. Quaranta JH, Rohr AS, Rackelesky GS, et al. The natural history and response to therapy of chronic urticaria and angioedema. *Ann Allergy* 1989; 62: 421-4.
10. Juhlin L. Late-phase cutaneous reactions to platelet activating factor and Kallikrein in urticaria. *Clin Exp Allergy* 1990; 9: 9-10.
11. Management of Asthma. Guidelines for the diagnosis and management of Asthma. National Heart, Lung and Blood Institute National Asthma Education Program Expert Panel Report, Chairman: Sheffer AL. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88(3): 477-92.
12. Toogood JH. Some clinical aspects of the pharmacotherapy of rhinitis and asthma. In Rhinitis and Asthma. Mygind N, Pipkorn U, Dahl R Eds. Munksgaard, Copenhagen, 1990: 289-306.
13. Balzano G, Gallo C, Masi C et al. Effect of azelastine on the seasonal increase in non-specific bronchial responsiveness to methacholine in pollen allergic patients. A randomized, double-blind placebo-controlled, crossover study. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 371-7.
14. Burdick AE, Mathias CGT. The Contact Urticaria Syndrome. *Dermatologic Clinics* 1985; 3: 71-84.
15. Katchen BR, Maibach HI. Immediate-type contact reaction: immunologic contact Urticaria. In Exogenous Dermatoses: Environment Dermatitis. Torkil Menné and Howard I Maibach Eds. CRC Press, 1991: 51-64.
16. Maibach HI, Dannaker CJ, Lahti A. Contact Skin Allergy-Allergic contact dermatitis. In Allergy: Principles and Practice. Middleton E, Reed CE, Ellis EF et al Eds. St. Louis, CV Mosby, 4^a ED, 1993; 1605-41.
17. Rademaker M, Forsyth A. Contact dermatitis in children. *Contact Dermatitis* 1989; 20: 104-7.

18. **Lahti A, Maibach HI.** Immediate Contact Reactions. In Exogenous Dermatoses: Environmental Dermatitis. *Torkil Menne and Howard I Maibach* Eds. CRC Press, 1991: 21-35.
19. **Maibach HI, Dannaker CJ, Lahti A.** Contact Skin Allergy -Immediate contact reactions. In Allergy: Principles and Practice. *Middleton E, Reed CE, Ellis EF et al* Eds. St. Louis, CV Mosby, 4^a ED, 193: 1641-47.
20. **Soter NA.** Acute and Chronic urticaria and angioedema. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 146-54.
21. **Schwartz LB.** Mast cells and their role in urticaria. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 190-204.
22. **Palma-Carlos AG, Jordão AL.** Immunopathology of urticaria. *Allergie et Immunologie* 1991; 23(10): 443-6.
23. **Barker JNW.** Role of keratinocytes in allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1992; 26: 145-8.
24. **Palma-Carlos AG, Palma-Carlos ML, Santos MC et al.** Cellular interactions in asthma. In Advances in Asthmology. *Kobayashi S, Bellanti JA* Eds. Elsevier Science Publishers BV 1991: 187-94.
25. **Campbel AM, Bosquet J.** The diagnosis of inflammation in Bronchial Asthma. *Via Pneumológica* 1992; 5(2): 107-11.
26. **Busse WW, Reed CE.** Asthma. Definition and pathogenesis. In Allergy: Principles and Practice. *Middleton E, Reed CE, Ellis EF et al* Eds. St. Louis, CV Mosby, 4^a ED, 1993: 1173-201.
27. **Bousquet J, Chanez P, Godard P, Mitchel FB.** Asthma: a disease remodelling the airways. Advances in Allergology and Clinical Immunology. *Ph Godard, J Bousquet, FB Michel* Eds. The Parthenon Publishing Group UK, 1992; 261-70.
28. **Kobayashi RH, Mellon MB.** Exercise-induced asthma, anaphylaxis and urticaria. *Prim Care*. 1991; 18(4): 809-31.
29. **Tarvainen K, Kanerva L, Tupasela O, Grenquist-Norden B et al.** Allergy from cellulase and xylanase enzymes. *Clin Exp Allergy*. 1991; 21: 609-15.
30. **Silvers WS.** Exercise-induced allergies: the role of histamine release. *Ann Allergy*. 1992; 68: 58-63.
31. **Pereira AC, Pinto-Mendes J, Tavares B et al.** Immunologic changes in Chronic Urticaria. *Allergy* 1992; 12(47): 187.
32. **Chieira C, Loureiro AC, Rodrigues VL et al.** Estudos epidemiológicos numa população de mancebos (20 anos). *Via Pneumológica* 1990; 3(1): 67-72.
33. **Michel J, Tonnel AB, Torpier B et al.** Involvement of immunoglobulin E in the secretory process of alveolar macrophages from asthmatic patients. *J Clin Invest* 1983; 71: 221-30.
34. **Terr AI.** Unconventional theories and unproven methods in allergy. In Allergy: Principles and Practice. *Middleton E, Reed CE, Ellis EF et al* Eds. St. Louis, CV Mosby, 4^a ED, 1993: 1767-93.
35. **Ruiz RGG, Richards D, Kemeny DM, Price JF.** Neonatal IgE: a poor screen for atopic disease. *Clin Exp Allergy* 1991; 21: 467-72.
36. **Metzger WJ.** Urticaria, Angioedema and Hereditary Angioedema in Allergic Diseases - diagnosis and management, 4^a ED, JB Lippincott Company, 1993: 331-53.
37. **Monroe EW, Schulz CI, Maize JC, Jordon RE.** Vasculitis in chronic urticaria: an immunopathologic study. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 103-5.
38. **Phanuphak P, Kohler PF, Stanford RE, et al.** Vasculitis in chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 65: 436-44.
39. **Gammon WR.** Urticular Vasculitis. *Dermatologic Clinics* 1985; 3: 97-105.
40. **Mehregan DR, Hall MJ, Gibson LE.** Urticular Vasculitis: a histopathologic and clinical review of 72 cases. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26: 441-8.
41. **Cardoso PA, de Oliveira ZP, Alves VA, et al.** Urticular Vasculitis. *Allergol-Immunopathol-Madr* 1990; 18: 191-5.
42. **Peteiro C, Toribio J.** Incidence of leucocytoclastic vasculitis in chronic idiopathic urticaria. Study of 100 cases. *Am J Dermatopathol* 1989; 11: 528-33.
43. **Torrubia SM, Serrano MI, Barcelona JA, Puras TA.** Leucocytoclastic vasculitis or a superposition syndrome (letter). *An Med Interna* 1992; 9: 205.
44. **Sanchez JL, Bennaman O.** Clinicopathological correlation in chronic urticaria. *Am J Dermatopathology* 1992; 14(3): 220-3.
45. **Asherson RA, Buchanan N, Kenwright S, et al.** The normocomplementemic urticarial vasculitis syndrom: report of a case and response to colchicine. *Clin Exp Dermatol* 1991; 16: 424-7.
46. **Hassan ML, Perez JA, del Pino EY, Schröder RG.** Vasculitic urticaria: study of 12 cases. *Med Cutan Ibero Lat Am* 1990; 18: 179-84.
47. **Asherson RA, D' Cruz D, Stephens CJ, et al.** Urticarial vasculitis in connective tissue disease clinic: patterns, presentations and treatment. *Semin Arthritis Rheum* 1991; 20: 285-96.
48. **Sanchez NP, Winkleman RK, Schroeter AL, et al.** The clinical and histological spectrums of urticarial vasculitis. *J Am Acad Dermatol* 1982; 7: 599.
49. **Pereira AC, Loureiro AC, Todo-Bom A et al.** Lymphocytic phenotyping in urticarial vasculitis. *Allergy* 1993; 16(48): 143.
50. **Pabst R.** Is BALT a major component of the human lung system? *Immunology Today* 1992; 13: 119-22.
51. **Meuwissen HJ, Hussain M.** Bronchus-associated lymphoid tissue in human lung: correlation of hyperplasia with chronic pulmonary disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1982; 23: 548-61.
52. **Fournier M.** Intraepithelial lymphocytes in human airways. In Advances in Allergology and Clinical Immunology. *Ph Godard, J Bousquet and FB Michel* Eds, 1992; 245-9.
53. **Foresi A, Bertorelli G, Pesci A, Chetta A, Oliviera D.** Inflammatory markers in bronchoalveolar lavage and in bronchial biopsy in asthma during remission. *Chest* 1990; 98: 528-35.
54. **Azzawi M, Bradley B, Jeffery PK et al.** Identification of activated T-lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Resp Dis* 1990; 142: 1407-13.
55. **Arm JP, Lee TH.** The pathobiology of bronchial asthma. *Adv Immunol* 1992; 51: 323-32.
56. **Kay AB.** Lymphocytes in Asthma. *Respir Med* 1991; 85: 87-90.
57. **Robalo Cordeiro AJA.** Síntese da Imunoglobulina E. *Arg SPPR* 1992; 9: 93-103.
58. **Poulter LW, Power C, Burke C.** The relationship between bronchial immunopathology and hyperresponsiveness in asthma. *Eur Resp J* 1990; 3: 792-9.
59. **Poulter W, Norris A, Power C et al.** T-cell dominated inflammatory reactions in the bronchi of asthmatics are not reflected in matched bronchoalveolar lavage specimens. *Eur Resp J* 1992; 5: 182-9.

Alergénio "Fel d I": Pele ou Saliva?

P. LOPES DA MATA*, D. CHARPIN*, C. CHARPIN**, P. LUCCIANI***,
D. VERVLOET* - Marselha, França

INTRODUÇÃO

O alergénio major do gato (*Fel d I*) está presente na pele, salva e glândulas sebáceas.¹⁻³ Foi sugerido que a saliva do gato poderia ser uma das principais fontes de "*Fel d I*",¹ qual poderia ser transferido para a pele através do acto de lamber.^{1,4} Por outro lado, foi demonstrado que a pele do gato é uma importante fonte extra-salivar de "*Fel d I*".^{1,2} O nosso objectivo foi de investigar a relativa importância destas duas fontes de produção de "*Fel d I*" comparando os níveis de "*Fel d I*" junto às raízes do pelo (perto da pele) e da parte externa do pelo (mais exposta ao lamber) em diferentes zonas da pele do gato consoante o maior ou menor número de glândulas sebáceas e em zonas em que o gato lambe mais ou menos.

MATERIAL E MÉTODOS

Seis gatos "europeus" adultos e saudáveis com pesos entre 1,5 Kg e 3 Kg, foram ligeiramente anestesiados (10 mg/Kg de peso) com "Ketamina HCl". Tendo em conta a localização das glândulas sebáceas do gato⁵ e as zonas onde o gato se lambe com maior ou menor frequência foram escolhidas três zonas diferentes: BARRIGA (pobre em glândulas sebáceas e onde o gato se lambe frequentemente). ZONA AXILAR ANTERIOR (pobre em glândulas sebáceas e onde igualmente se lambe muito frequentemente). RAIZ DA ZONA SUPRA-

-CAUDAL (rica em glândulas sebáceas e onde raramente se lambe). Após se terem cortado os pelos, bem rente à pele, eles são de novo cortados e divididos em duas partes iguais (a parte da raiz e a parte externa). As duas partes separadamente são misturadas numa preparação de 5% de BBS, pH 8.2. Depois de serem agitados durante 24 horas, as amostras são centrifugadas (2000 x g) durante 15 minutos. Os sobrenadantes são armazenados a -20º C até serem utilizados para os doseamentos.

Doseamento do alergénio major do gato - Foi realizado conforme descrito por Dabrowski e col.²

Análise estatística - Para comparar os níveis de "*Fel d I*" das diferentes regiões usámos o teste não paramétrico de "Kruskal-Wallis". Para a análise dos níveis médios de "*Fel d I*" da região externa do pelo "versus" região interna usámos o "Mann-Witney U test".

RESULTADOS

TABELA I

MÉDIA (\pm S. D.) DOS VALORES DE
"Fel d I" (mU/g PÊLO) NA RAÍZ E PARTE EXTERNA
DO PÊLO EM 3 REGIÕES DIFERENTES

ZONA	SUPRA-CAUDAL			AXILAR			VENTRE		
	Raiz	Externa	Total	Raiz	Externa	Total	Raiz	Externa	Total
VAL.	4.85	2.15	3.5	3.39	0.89	2.1	2.08	1.56	1.8
\pm S.D.	\pm 1.81	\pm 0.78	\pm 1.94	\pm 2.71	\pm 0.5	\pm 2.28	\pm 1.44	\pm 1.19	\pm 1.29

Trabalho premiado pela Fundação Promothermes, em 1992.

* Département des maladies respiratoires et allergiques", Hôpital de Sainte-Marguerite

** Département de Pathologie, Faculté de Médecine

*** Service Chirurgie-Animale, Laboratoire de Neurosciences Fonctionnelles, Centre National de Recherche Scientifique, Marselha, França

Níveis de "Fel d I" nas diferentes regiões do pelo do gato

A concentração máxima em "Fel d I" foi obtida na raiz da zona supra-caudal ($3.5+/-1.29$). A maior concentração foi a da região axilar anterior ($2.1+/-2.28$). A menor concentração foi a da região ventral ($1.8+/-1.29$). As diferenças entre estas três³ regiões não foram significativas até 0.001.

Níveis de "Feld I" das regiões proximais "versus" regiões distais do pelo do gato

O valor médio de "Fel d I" na região proximal do pelo do gato foi de $3.4+/-2.26$, sendo de $1.5+/-0.99$ na região distal. A diferença era estatisticamente significativa ($p<0.001$).

Níveis de "Fel d I" em relação com o acto de lambar

A relação do "Fel d I" medido na parte externa do pelo (parte distal) "versus" parte proximal, foi mais elevada (0.75) na região ventral onde o lambar é mais frequente que na região axilar (0.26) ou na região supra-caudal (0.44).

DISCUSSÃO

Este trabalho mostra que a quantidade de "Fel d I" presente no pelo do gato é muito mais elevada na região proximal do que na distal. A quantidade de "Fel d I" encontrado nas diferentes regiões da pele do gato eram dependentes da densidade em glândulas sebáceas dessas mesmas regiões.

Nas zonas ricas em glândulas sebáceas (região supra-caudal), a concentração em "Fel d I" era duas vezes maior na parte proximal do pelo (junto à raiz), sugerindo que a produção do antígeno pelas glândulas sebáceas era muito mais importante do que aquele trazido pelo acto de lambar. Inversamente, nas regiões com uma baixa concentração em glândulas sebáceas (axilas e ventre) a concentração do "Fel d I" na parte distal do pelo versus" parte proximal (junto à raiz) era muito maior na barriga (onde o gato se lambe frequentemente) do que na axila (onde ele se lambe com muito menor frequência). Estes resultados sugerem uma contribuição adicional de "Fel d I" através da saliva. O "Fel d I" presente na saliva pode ser consequência de uma produção local por parte das glândulas salivares ou ser trazido pela própria língua, sobretudo ao lambar as regiões onde as glândulas sebáceas são mais numerosas.

Brow et col em 1984,¹ referia a possível existência de uma fonte extra salivar para o alergénio major do gato. Dabrowski e col² demonstraram que a pele do gato era uma importante fonte para o antígeno "Feld I". Por métodos imuno-histoquímicos Charpin e col³ demonstraram que o "Fel d I" estava presente nas glândulas sebáceas. Neste trabalho os níveis de "Fel d I" estavam dependentes da densidade em glândulas sebáceas, havendo sempre uma maior concentração de "Fel d I" na parte proximal do pelo (junto à raiz) sugerindo que a principal fonte de "Fel d I" residia na pele do gato e que o lambar não era um factor determinante dos níveis de "Fel d I" mas apenas um factor adicional.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Sr Dr. Jean-Louis Mege et ao Sr. Dr. C. Capo, pela ajuda nas medições do "Fel d I" e ao Sr. André Lanteaume pela sua assistência de computador.

BIBLIOGRAFIA

1. Brown PR, Leiterman K, Ohman JL. Distribution of cat allergen 1 in cat tissues and fluids. *In Arch Allergy Appl Immunol*, 1984; 74:67-70.
2. Dabrowski AJ, VanDerBrempt X, Soler M, Seguret N, Lucciani P, Charpin D, Vervloet D. Cat skin as an important source of "Fel d I" allergen. *J. Allergy Clin Immunol*, 1990 86:462-465.
3. Charpin C, Lopes da Mata P, Charpin D, Lavaut MN, Allasia C, Vervloet D. "Fel d I" allergen distribution in cat fur and skin. *J. Allergy Clin Immunol*, 1991; 88:77-82.
4. Diderlaurent A, Fogliette MJ, Guerin B, Hewitt B, Percheron F. Comparative study of cat allergens from fur and saliva. *Int Arch Allergy Appl Immunol*; 1984; 73:27-31.
5. Muller GH, Kirk RW. Anatomie de la peau. In: Muller GH, Kirk RW. Dermatologie des petits animaux. *Paris Ed Vigot Frères*, 1975:27-8.

Reprint request:

Dr. D. Vervloet, Département des Maladies respiratoires,
Hôpital de Sainte-Marguerite, BP 29, 13277
Marselha Cedex 9 - França

Diagnóstico Diferencial das Eosinofilia - - Apresentação de Seis Casos Clínicos

EDNA GONÇALVES*, J. TORRES COSTA**, LUÍS DELGADO***, MIGUEL TAVARES****,
M. LISETE CARDOSO*****, M. GRAÇA CASTEL-BRANCO*****[†], Hospital S. João, Porto

RESUMO

Embora conhecido desde 1879, o eosinófilo é ainda hoje uma célula enigmática que se por um lado tem funções de defesa do organismo, por outro lado está implicada em numerosas situações patológicas.

Após uma breve revisão teórica sobre o diagnóstico diferencial das eosinofilia apresentam-se seis casos clínicos de eosinofilia de diferentes etiologias observados no Hospital S. João.

PALAVRAS CHAVE: eosinófilo, eosinofilia, ECP, síndrome hipereosinofílico, síndrome pulmonar eosinofílico.

SUMMARY

In spite of being known since 1879, the eosinophil is still today an enigmatic cell, participating not only in host defense but also in several pathological conditions.

After a brief review of the differential diagnosis of peripheral blood eosinophilia, the authors present six different cases of eosinophilic syndromes.

KEY WORDS: eosinophil, eosinophilia, ECP, hypereosinophilic syndrome, pulmonar eosinophilic syndrome.

Identificado pela primeira vez em 1879 por Paul Erlich, o eosinófilo é ainda hoje uma célula enigmática. O conhecimento dos receptores de membrana e dos mediadores que usam, bem como da sua heterogeneidade morfológica e dos factores de crescimento e diferenciação a que estão sujeitos, abriu novas perspectivas no conhecimento e compreensão destas células.

EOSINÓFILO

Presentes em todos os vertebrados, os eosinófilos são produzidos na medula óssea a partir de uma célula mielóide pluripotente que cedo se diferencia na sua produção (Eos-CFC). Uma vez produzidos, os eosinófilos são libertados para o sangue periférico onde fazem um rápido percurso em direcção aos tecidos localizando-se sobretudo naqueles órgãos cuja mucosa contacta com o exterior (tubo digestivo e vias aéreas). Os eosinófilos são portanto células essencialmente tecidulares representando os circulantes cerca de 1% do seu número total.^{1,2}

Embora nas “fases de equilíbrio” o número de eosinófilos circulantes seja proporcional ao número de eosinófilos tecidulares, a existência de três fases sequenciais no ciclo de vida do eosinófilo (fase medular, sanguínea e tecidual) torna possível a ocorrência de discrepâncias entre estes dois valores.^{1,3} Na avaliação das eosinofilia torna-se por isso importante correlacionar o número de eosinófilos com o momento do estímulo desencadeador já que após um estímulo “eosinofílico” a chamada imediata de eosinófilos aos tecidos condiciona uma diminuição temporária do número total de eosinófilos circulantes enquanto a medula óssea não libera os eosinófilos que posteriormente começará a produzir.³ (Fig.1)

* Interna Complementar de Medicina Interna, Serviço Medicina 1 (Director: Prof. Doutor Tomé Ribeiro)

** Assistente Hospitalar de Imunoalergologia, Unidade de Imunoalergologia (Director: Dr.^a Marianela Vaz)

*** Assistente de Imunologia, Serviço Imunologia da Fac. Medicina do Porto (Director: Prof. Doutor Fleming Torrinha)

**** Interno Complementar de Medicina Interna, Serviço Medicina 3 (Director: Prof. Doutor Cerqueira Gomes)

***** Assistente Hospitalar Graduada de Reumatologia, Unidade de Reumatologia (Director: Prof. Doutor Lopes Vaz)

***** Chefe de Serviço de Imunoalergologia, Unidade de Imunoalergologia (Director: Dr.^a Marianela Vaz)

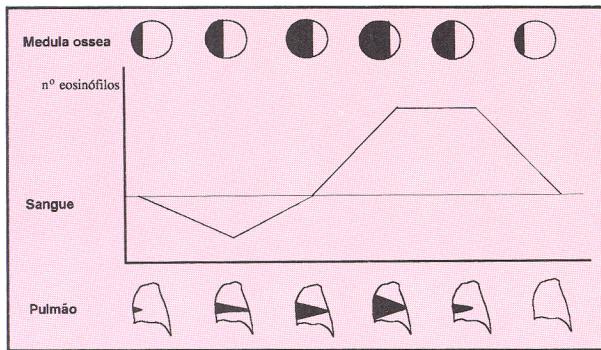


Fig. 1 - Relação temporal entre o estímulo desencadeador da eosinofilia e o n.º de eosinófilos circulantes (a cheio a proporção relativa de eosinófilos no compartimento referido) (adaptação da referência 3)

Apesar de possuir todas as potencialidades de uma célula fagocitária (mobilidade, endocitose, produção de H_2O_2 , etc), o eosinófilo tem na fagocitose a sua principal função.⁴

Os numerosos mediadores que possui (ex.: Proteína Básica Major, Proteína Catiónica, Neurotoxina, Peroxidase, Factor de Activação Plaquetário) conferem ao eosinófilo propriedades cítolíticas directas e a capacidade de interactuar com os sistemas da coagulação-fibrinólise, cininas e complemento. Estes mediadores são também capazes de activar outros elementos celulares como os mastócitos, macrófagos e linfócitos. Por outro lado os variados receptores de membrana que tem, tornam o eosinófilo susceptível à acção de outras "influências" (linfócitos T e B: interleucinas, imunoglobulinas; factores do complemento; leucotrienos; esteróides; etc).

O eosinófilo é portanto uma célula capaz de actuar na reacção inflamatória e no processo imunológico em geral.^{1,4,5} Por um lado contribui para a defesa do organismo (contra parasitas e tumores e no controle da acção da histamina), por outro lado sabe-se que é capaz de lesar células normais, sendo numerosas as situações patológicas associadas a eosinofilia.

O número de eosinófilos séricos é muito variável. As condições socio-económicas das populações estudadas (importância das parasitoses) e a prevalência da atopia, são factores que influenciam o número de eosinófilos circulantes. Para além destes factores, o número de eosinófilos circulantes apresenta variações circadianas, com o valor máximo à noite e o mínimo de manhã (ciclo inverso ao dos

corticóides endógenos). Outras situações podem influenciar o número de eosinófilos periféricos, aumentando-o (exercício físico, por exemplo), ou diminuindo-o (stress emocional, ciclo menstrual, agentes β -adrenérgicos, etc).³

Apesar de o número de eosinófilos do sangue periférico considerado normal ser muito variável de autor para autor (0-240; 70-450; 40-600; 0-570; 34-427) parece consensual aceitar um valor médio de 125 eosinófilos/ mm^3 para os adultos e 225 eosinófilos/ mm^3 para crianças até aos 12 anos de idade.³ Assim considera-se usualmente "Eosinofilia" a presença de eosinófilos no sangue em número superior a 500/ mm^3 e "Hipereosinofilia" quando este valor é superior a 10000/ mm^3 . (Quadro I)³

QUADRO I

NÚMERO DE EOSINÓFILOS HEMOGRAMA

> 12 anos:	Média: 125/ mm^3 (0-740)
< 12 anos:	Média: 225/ mm^3
Eosinofilia:	> 500/ mm^3
Hipereosinofilia:	> 10000/ mm^3

(Adaptado da ref. 3)

Recentemente tem surgido algum interesse na medição de algumas proteínas dos grânulos dos eosinófilos, de que é exemplo a proteína catiónica (ECP), cujos níveis poderão estar relacionados com o estado de activação destas células.^{6,7,8}

EOSINOFILIAS

Embora no início do século as eosinofiliafossem de imediato associadas a parasitoses ou doenças alérgicas, sabe-se hoje que o número de eosinófilos periféricos pode estar aumentado em muitas outras situações (Quadro II).

De entre as causas infecciosas de eosinofilia, os parasitas multicelulares que invadem os tecidos (nematodes, cestodes e termatodes) continuam a ser os principais agentes. Ao contrário destes, os parasitas unicelulares (protozoários) não desencadeiam habitualmente eosinofilia, com excepção da Isospora belli.^{2,5}

Embora as infecções víricas e bacterianas agudas cursem geralmente com eosinopenia, na fase de

QUADRO II

ETIOLOGIA DAS EOSINOFILIAS

• Alergias:	asma, urticária, etc.
• Parasitas:	Toxocara (<i>Lavra migrans visceral</i>), Triquinela, Schistosoma, Ascaris, etc.
• Infecções:	febre tifóide, tuberculose, aspergilose, coccidioidomicose, vírus.
• Fármacos:	vários.
• Doenças cutâneas:	pênfigo, dermatite herpetiforme, etc.
• Doenças gastrointestinais:	doença inflamatória intestinal, gastrite eosinofílica, etc.
• Doenças hematológicas:	policitemia vera, anemia perniciosa, esplenectomia.
• Neoplasias malignas:	Leucemia eosinofílica, D. Hodgkin, linfomas, carcinomas, etc.
• Formas familiares:	Eosinofilia familiar
• Formas idiopáticas:	Síndrome Hipereosinofílico Idiopático (SHI)
• Outras:	vasculites, diálise, após irradiação, etc.

convalescência o número de eosinófilos normaliza ou torna-se por vezes exagerado como por exemplo na Escarlatina. Ocasionalmente as formas indolentes de tuberculose cursam também com eosinofilia.⁹ Das infecções fúngicas três são habitualmente associadas a eosinofilia: a aspergilose broncopulmonar alérgica, a coccidioidomicose e a candidase oromucocutânea.^{3,5}

As eosinofilias hereditárias, descritas em cerca de 19 famílias e transmitidas como uma característica autossómica dominante, são situações benignas que cursam com valores moderadamente elevados de eosinófilos e devem ser também incluídas no diagnóstico diferencial das eosinofilias.¹⁰

Em algumas situações de eosinofilia não é possível descobrir a causa mesmo após uma exaustiva investigação - eosinofilias idiopáticas. Dentro deste grupo de eosinofilias está o Síndrome Hiper-eosinofílico Idiopático (SHI), descrito pela primeira vez em 1975 por Chusid como uma doença com disfunção de orgãos associada a um número de eosinófilos no sangue periférico superior a 1500/mm³ durante pelo menos 6 meses.^{11,12} Embora a etiologia do SHI seja ainda desconhecida, alguns autores pensam que resulta da proliferação maligna dos eosinófilos enquanto outros o associam a uma estimulação excessiva dos eosinófilos secundária a uma disfunção do sistema imunológico.^{13,14} Este síndrome cujas manifestações clínicas resultam sobretudo do envolvimento do sistema nervoso central e/ou do coração, é mais frequente em indivíduos do sexo masculino e inicia-se geralmente entre os 20 e os 50 anos embora também possa

ocorrer em crianças.^{12,13} O tratamento com Prednisolona e Hidroxiureia permitiu atingir sobrevidas de 10 anos em cerca de 70% dos casos devendo no entanto os doentes permanecer sob vigilância médica uma vez que alguns vêm a desenvolver mais tarde doenças malignas, sobretudo linfomas T e leucemias linfoblásticas.^{12,13,14}

INVESTIGAÇÃO CLÍNICA

No esclarecimento da etiologia de uma eosinofilia a obtenção de uma história clínica pormenorizada é fundamental, destacando-se em particular a importância de um inquérito cuidadoso sobre a ingestão de fármacos e a exposição a tóxicos, antecedentes pessoais e familiares de atopia e viagens que o doente tenha realizado (Quadro III).

QUADRO III

EOSINOFILIAS - INVESTIGAÇÃO

HISTÓRIA CLÍNICA

- Ingestão de fármacos
- Exposição a tóxicos
- Doenças alérgicas
- Viagens

EX. AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO

- Hemograma
- Radiografia de tórax
- Ex. parasitológico de fezes
- Outros (de acordo com a semiologia)

Uma vez que as substâncias capazes de desencadear eosinofilias são muito variadas, sendo algumas de uso comum na população em geral (ex: Ác. acetilsalicílico, compostos iodados, etc), o recurso a listas destas substâncias torna-se aconselhável durante a recolha da anamnese.³ (Quadro IV)

Se o doente realizou recentemente uma viagem e em particular se viajou para zonas onde as infecções por helmintas são endémicas, a causa mais provável para a elevação do seu número de eosinófilos é uma parasitose mas não podemos à partida excluir outras causas de eosinofilia como por exemplo a exposição a substâncias diferentes das que lhe são habituais (ex.: diferentes alimentos). É importante também ter em mente que nas infecções por helmintas o número de eosinófilos tende a correlacionar-se directamente com a importância da invasão tecidual pelos parasitas. Assim, quando o parasita tem no seu ciclo

de vida uma fase entérica e uma fase tecidual, como por exemplo o *Áscaris lumbricoides*, a eosinofilia ocorre sobretudo durante a fase tecidual, pelo que a não detecção de ovos do parasita nas fezes não exclui esta etiologia.⁵

QUADRO IV SUBSTÂNCIAS ASSOCIADAS A EOSINOFILIA

AAS	Penicilina e análogos
Ácido para-aminosalicílico	Ampicilina
Alopurinol	Meticilina
Amitriptilina (tricíclicos)	Oxacilina
Arsenicais	Polimixina
Azatioprim	Protamina
Busulfam	Quinidina
Captopril	Sulfonamidas
Cefalosporinas	Sulfonilureias
Clordiazepóxido	Clorpropamida
Clorpromazina	Tolbutamida
Clorotiazida	Tetraciclina
Codeína	Tioracilo (propiltiouracilo)
Dapsona	Fenilbutazona
Dextran	Fenitoína
Estolato de eritromicina	Fenoltaleína
Estreptomicina	Halotano
Fenacetina	Indometacina
Iodetos	L-Triptofano
Isoniazida	Trimetadiona (parametadiona)
Mercuriais	Tubocurarina
Nitrofurantoína	Zomepirac (outros AINE)
Ouro	Outros

(Adaptado da referência 3)

Sendo as doenças alérgicas e parasitárias responsáveis pela maioria dos casos de eosinofilia ligeira ou assintomática, o hemograma (para confirmação e seguimento do número de eosinófilos), o exame parasitológico de fezes e eventualmente o doseamento da IgE sérica total, são frequentemente suficientes para o esclarecimento etiológico destas situações. A elevada frequência com que o pulmão é atingido torna a radiografia de tórax igualmente importante no estudo destes doentes.

A associação eosinofilia e envolvimento pulmonar é habitualmente descrita sob a designação de “Sindromas pulmonares com infiltrados eosinofílicos” ou “Sindromas PIE” (Quadro V), sendo nestes casos importante o recurso ao lavado broncoalveolar (LBA).¹⁵ Todos os restantes exames complementares de diagnóstico deverão depois ser pedidos em

função da semiologia apresentada pelo doente (ex: pesquisa de IgE específica, biópsias dos órgãos mais atingidos, mielograma, etc.).³

QUADRO V SINDROMAS PIE (infiltrados pulmonares com eosinofilia)

- Sindroma de Loeffler
- Eosinofilia pulmonar prolongada
- Eosinofilia pulmonar crônica
- Aspergilose broncopulmonar
- Granulomatose broncocêntrica
- Sindroma de Churg-Strauss
- Vasculite de hipersensibilidade
- S. Hipereosinofílico idiopático

A existência de um número de eosinófilos no sangue periférico particularmente elevado ($>10.000/\text{mm}^3$), deve entretanto orientar-nos à partida para quatro situações, duas delas em geral benignas e auto-limitadas (Larva Migrans Visceral e Reacção leucemóide) e duas frequentemente fatais como a Leucemia de eosinófilos e o Sindroma Hiper-eosinofílico Idiopático.^{13,16,17} (Quadro VI)

QUADRO VI ETOLOGIA DAS HIPEREOSINOFILIAS

EOSINOFILIA superior a $10.000/\text{mm}^3$
- Larva Migrans Visceral (Toxocara)
- Reacção leucemóide
- Leucemia de eosinófilos
- S. Hipereosinofílico idiopático

Apresentam-se em seguida alguns casos clínicos de eosinofilia reunidos pelos autores no Hospital de S. João.

Caso clínico 1 *Sindroma de Loeffler*

Indivíduo do sexo masculino, de 18 anos de idade, assintomático, enviado à consulta para esclarecimento de infiltrado pulmonar no hemitórax direito detectado em radiografia de tórax realizada para a admissão numa empresa. O exame físico era normal mas tinha no hemograma 1980

eosinófilos/mm³. O exame parasitológico de fezes mostrou ovos de *Áscaris Lumbricoides*. Foi medicado com Mebendazol tendo-se observado uma normalização da radiografia de tórax e da eosinofilia. Concluimos tratar-se de um Síndrome de Loeffler.

Caso clínico 2

Eosinofilia associada a Tuberculose Pulmonar

Doente do sexo feminino, de 38 anos de idade com antecedentes de asma não alérgica e urticária, enviada à consulta por apresentar sintomas constitucionais e agravamento da asma com recurso frequente ao S. Urgência. Apresentava um aumento do número de eosinófilos para 1200/mm³ e na radiografia de tórax observava-se uma hipotransparência heterogênea com preenchimento de tipo alveolar na base do hemitórax direito (Fig. 2). O exame bacteriológico de expectoração foi positivo para o *Mycobacterium tuberculosis* pelo que a doente iniciou terapêutica anti-tuberculosa ficando assintomática algumas semanas depois.

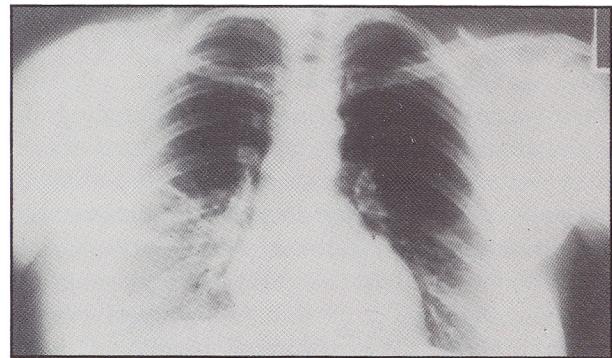


Fig. 2 - Hipotransparência heterogênea, com preenchimento de tipo alveolar, na base do hemitórax direito e "císurite" associada (caso clínico 2)

Caso clínico 3

"Síndrome PIE" pela Clomipramina

Doente do sexo feminino, de 60 anos de idade, internada por tosse e expectoração amarelada, dispneia de esforço progressiva e deterioração do estado geral. Três meses antes tinha sido medicada com Clomipramina por apresentar um síndrome depressivo.

À entrada estava emagrecida, pálida e apirética. Tinha uma diminuição dos sons respiratórios na base do hemitórax direito e crepitações em todo este hemitórax sendo o restante exame físico normal.

A radiografia de tórax mostrava imagens nodulares confluentes no hemitórax direito, esbatimento do bordo da silhueta cardíaca e da hemicúpula diafragmática direita, com perda de volume. O hemograma apresentava 15700 leucócitos/mm³, com 51% de eosinófilos (8007/mm³) e uma anemia normocrómica/normocítica. Os vários exames bacteriológicos que fez foram sempre negativos. A broncofibroscopia mostrava abundantes secreções de aspecto mucoso sem alterações morfológicas associadas e no LBA tinha espirais de Curshman, 15900 leucócitos/mm³ com 86,9% de eosinófilos e um valor de ECP de 72 µg/L (valor "normal" esperado <2 µg/L). Na biópsia transbrônquica identificava-se um infiltrado de polimorfonucleares e eosinófilos no parênquima pulmonar.

Foi decidido suspender a Clomipramina e substitui-la pela Mianserina verificando-se de seguida um gradual desaparecimento de toda a sintomatologia e uma normalização da radiografia de tórax e do hemograma. Concluimos tratar-se de um síndrome pulmonar com infiltrados eosinofílicos ("Síndrome PIE") induzido pela Clomipramina.

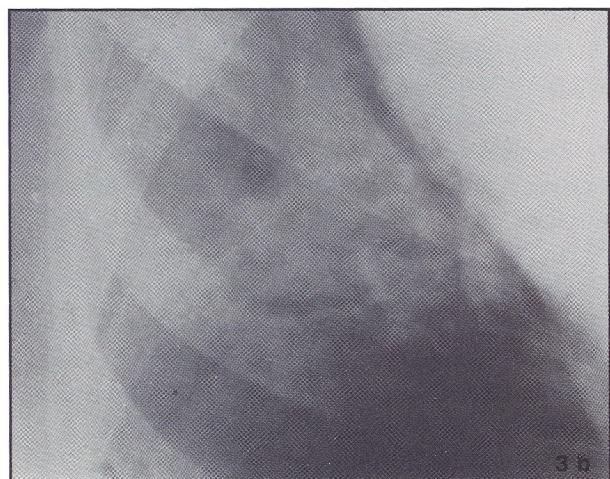
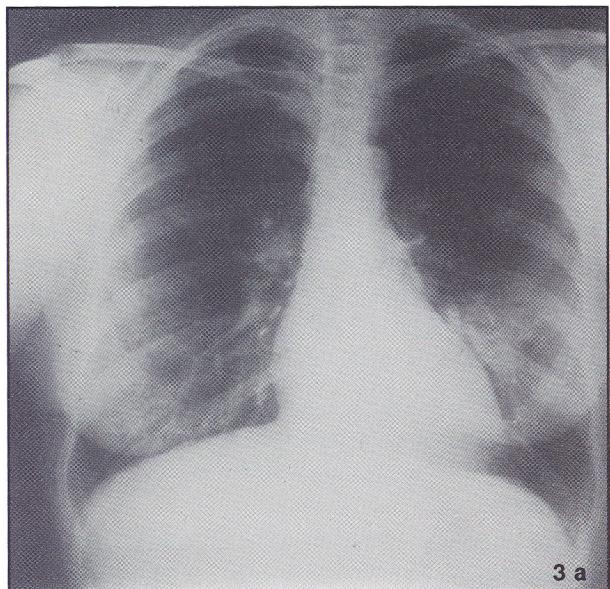
Durante o período de hipereosinofilia a doente realizou uma prova de Metacolina, tendo-se observado um $P_{c20}M$ de 0,75 mg/ml. A prova de Metacolina veio a negativar-se 6 meses após a remissão do Síndrome PIE ($P_{c20}M > 8$ mg/ml). A positividade transitória à prova de Metacolina e os valores elevados de ECP observados durante o período de eosinofilia pulmonar, sugerem para o eosinófilo um papel importante na indução da hiperreactividade brônquica.

Caso clínico 4

Aspergilose broncopulmonar alérgica

Doente do sexo feminino de 40 anos de idade, seguida habitualmente na consulta de Imunoalergologia por asma não alérgica. Recorre ao seu médico assistente por apresentar um agravamento da sua asma. Associado a este agravamento apresentava alterações da radiografia de tórax (fig. 3) e eosinofilia de 1500 eosinófilos/mm³ no sangue periférico. O doseamento de IgE sérica estava elevado em relação a determinações anteriores (110 KU/L para 600 KU/L), os testes cutâneos intradérmicos para o *Aspergillus* eram positivos e a pesquisa de IgE específica por RAST para *Aspergillus* era de classe 3. O diagnóstico colocado foi de Aspergilose broncopulmonar alérgica, tendo a doente sido medicada com Prednisolona oral.

FIGURA 3



Aspergilose broncopulmonar alérgica (caso clínico 4)

3a - Densidades heterogêneas nas bases pulmonares, mais evidentes à esquerda

3b - Brônquios de paredes espessadas e irregulares com áreas de dilatação (pormenor da radiografia anterior)

Caso clínico 5

Síndrome de Churg-Strauss

Doente do sexo masculino, de 17 anos de idade, com antecedentes de asma e rinite alérgica. Em Fevereiro de 1990 começa a apresentar hipertermia (38° - 39° C), toracalgia, tosse seca e dispneia em repouso que motivam o internamento no hospital da área da sua residência e posterior transferência para o Hospital de S. João por agravamento do estado clínico.

Na admissão no H.S.J. apresentava infiltrados pulmonares bilaterais e uma ligeira leucocitose com neutrofilia (12000 leucócitos/ mm^3 com 75% N, 2% E, 22% L, 0% B e 1% M). Foi então medicado com Penicilina G, Netilmicina e Prednisolona (0,5 mg/Kg/dia) e teve alta cinco dias depois com resolução clínica e radiológica aparentes.

Duas semanas após a alta (uma semana após a suspensão da Prednisolona) é novamente internado por reaparecimento dos sintomas associados a hipersudorese nocturna e mialgias. Referia ainda um emagrecimento de 5 Kg no último mês e parestesias dos membros inferiores. O doente encontrava-se agora prostrado, polipneico (38 ciclos/min.) e com uma temperatura axilar de $37,5^{\circ}$ C. Apresentava lesões cutâneas vesiconodulares descamativas na região interdigital das mãos e pavilhões auriculares e à auscultação pulmonar tinha uma expiração soprada e alguns sibilos bilaterais.

Na admissão a radiografia de tórax era normal mas o hemograma mostrava agora leucocitose com eosinofilia (Leucócitos: $21000/mm^3$; N: 64%; E: 10%; B: 0%; L: 24%; M: 2%).

No 2º dia deste internamento teve um agravamento da dispneia e da toracalgia e no hemograma detectou-se um aumento marcado do número de eosinófilos ($9477/mm^3$, isto é 39% de 24300 Leucócitos). Ao 7º dia apresentava clínica compatível com derrame pericárdico o que foi confirmado por telerradiografia do tórax e ecocardiografia. Dos restantes exames complementares de diagnóstico a que foi submetido salienta-se a broncofibroscopia, que mostrou uma mucosa traqueobrônquica com placas esbranquiçadas e sangrantes ao toque, o LBA com um aumento relativo e absoluto do número de eosinófilos (Fig. 4) e da ECP ($30 \mu\text{g/L}$; valor "normal" esperado $<2 \mu\text{g/L}$).



Fig. 4 - Eosinófilos no lavado bronco-alveolar (caso clínico 5)

Também os eosinófilos do sangue periférico se encontravam activados, apresentando marcação para a forma segregada da ECP (Fig. 5). Na biópsia pulmonar transbrônquica observava-se um aumento de células mononucleares e eosinófilos, havendo em algumas áreas a formação de granulomas extravasculares. O exame histológico das lesões cutâneas interdigitais era compatível com vasculite necrosante e mostrava igualmente um infiltrado eosinofílico associado a granulomas na derme subjacente.



Fig. 5 - Eosinófilos no sangue periférico do doente com Síndrome de Churg-Strauss: marcação positiva para Eg E2 por APAP (caso clínico 5)

Durante a fase de hipereosinofilia realizou prova de provação brônquica com Metacolina, tendo-se observado um P_{c20} M de 0,06 mg/ml.

Reunidos os critérios de diagnóstico de Síndrome de Churg-Strauss¹⁸, (Quadro VII) iniciou terapêutica com Prednisolona na dose de 1,5 mg/Kg/dia tendo o doente recuperado rapidamente o estado geral, desaparecido a hipereosinofilia, o derrame pericárdico, normalizaram os níveis de ECP no LBA (<2 µg/L) e atenuava-se a hiperreactividade brônquica (P_{c20} M de 0,6 mg/ml).¹⁹

QUADRO VII

S. CHURG-STRAUSS CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO*

- História de asma**
- Eosinofilia periférica > 10%**
- Infiltrados pulmonares transitórios**
- Alterações dos seios perinasais**
- Biópsia de vaso com eosinófilos extravasculares**
- Neuropatia**

*Critérios do American College of Rheumatology (18)

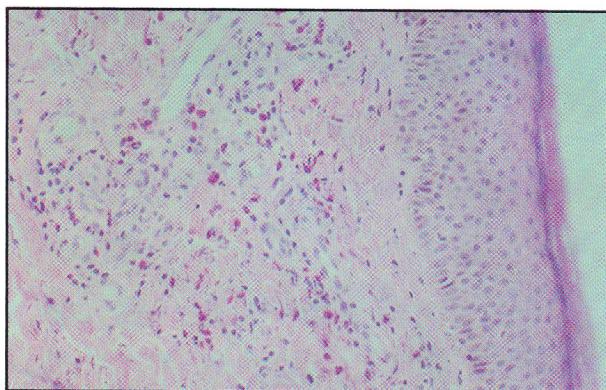
Tal como observamos na doente com síndrome PIE por Clomipramina (caso 3) também este doente apresentava durante o período de hipereosinofilia um aumento da ECP e do P_{c20} M, o que ilustra o papel da inflamação brônquica e do eosinófilo na gênese da hiperreactividade brônquica.

Caso clínico 6

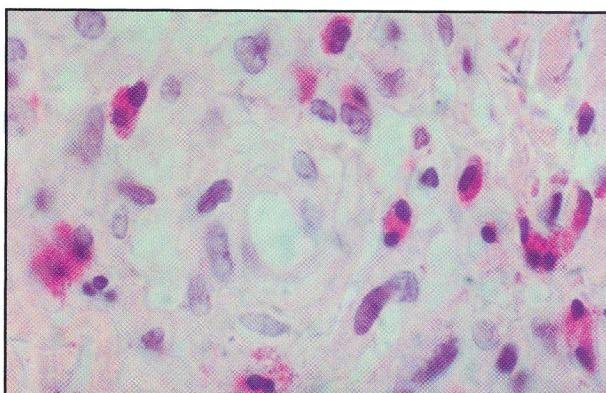
Fasceíte eosinofílica

Doente do sexo feminino, de 50 anos, que cerca de dois meses antes do internamento iniciou diminuição da mobilidade das mãos, punhos, pés e tornozelos, por “aumento da espessura da pele”. Não apresentava alterações gastrointestinais nem cardiorespiratórias. Tinha no hemograma 1800 eosinófilos/mm³ e apresentava uma hipergamaglobulinemia com elevação da Ig E (Ig E > 15000 KU/L) e da ECP (64,6 µg/L; valor “normal” esperado <11,3 µg/L). Todo o estudo da autoimunidade foi negativo e a radiografia de tórax e o electrocardiograma foram sempre normais. A doente foi então submetida a uma biópsia cutânea e muscular que mostrou espessamento da fáscia com infiltrado eosinofílico (Fig. 6), orientando-nos assim para o diagnóstico de uma Fasceíte eosinofílica.

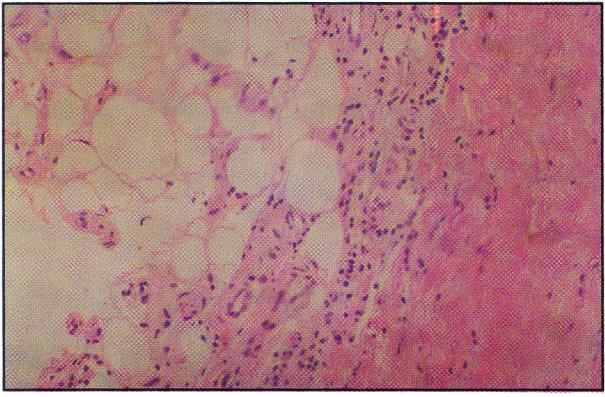
FIGURA 6
FASCEÍTE EOSINOFÍLICA (CASO CLÍNICO 6)



6a - Infiltrado de eosinófilos na derme (x 10)



6b - Infiltrado de eosinófilos na derme (x 40)



6c - Fibrose da derme profunda, junto às camadas musculares, com infiltrado eosinofílico adjacente

Os eosinófilos apresentavam-se activados, com marcação positiva para a forma segregada da ECP (Eg E2) (Fig. 7). Medicada com Prednisolona, a doente apresentou três meses depois, melhoria clínica, normalização do hemograma e diminuição da IgE (5220 KU/L) e da ECP (21,4 µg/L; valor “normal” esperado <11,3 µg/L).

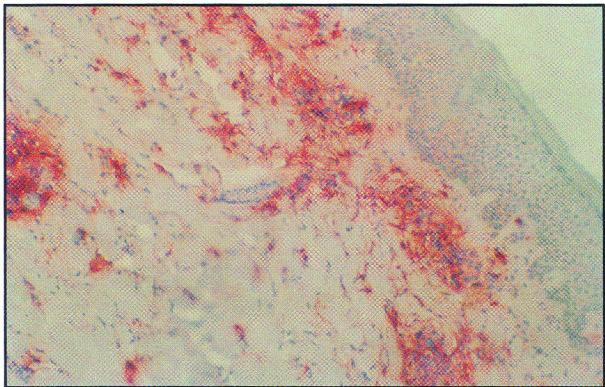


Fig. 7 - Eosinófilos na derme com marcação positiva para Eg E2 (caso clínico 6)

CONCLUSÃO

Apesar de o eosinófilo ser ainda hoje uma célula enigmática, estamos já longe do tempo em que as eosinofiliais eram apenas associadas às parasitoses e alergias.

A apresentação destes casos clínicos não pretende de modo algum esgotar todas as formas de manifestação das eosinofiliais. Pelo contrário, procura-se chamar a atenção para a grande diversidade de patologias que podem estar associadas a um aumento do número de eosinófilos. Este facto torna obrigatório o estudo cuidadoso destas situações

já que o aumento do número de eosinófilos pode por um lado estar integrado no processo de defesa do organismo (ex.:contra agentes infecciosos) e por outro ser ele mesmo um dos responsáveis pelas alterações observadas (ex.: hiperreactividade brônquica).

BIBLIOGRAFIA

1. Slifman NR, Adolphson CR, Gleich GJ: "Eosinophils: Biochemical and cellular aspects". *Allergy: Mosby ED*, 1990: 179-205.
2. Weller PF: "The immunobiology of eosinophils". *N Eng J Med*, 1991; 324(16): 1110-18
3. Nutman TB, Ottesen EA, Cohen SG: "Eosinophilia and eosinophil-related disorders". *Allergy: Mosby ED*, 1990: 861-890.
4. Prin L, Capron M: "L'éosinophile aujourd'hui". *Rev. Prat. (Paris)*, 1990; 40(20): 1866-72
5. Weller PF: "Eosinophilia in travelers". *Medical Clinics North America*, 1992; 76(6): 1413-32.
6. Peterson CGB, Enander I, Nystrand J, Anderson AS, Nilsson L, Venge P: "Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein (ECP) by an improved method. Establishment of normal levels in serum and turnover in vivo". *Clin Exp Allergy*, 1991; 21: 561-7.
7. Venge P. "Serum measurements of eosinophil cationic protein (ECP) in bronchial asthma". *Clin Exp Allergy*, 1993; 23 (suppl 2): 3-7.
8. Delgado L, Winck JC, Torrinha JAF. "Activação eosinofílica e proteína catiónica do eosinófilo nas doenças pulmonares intersticiais". *Rev Port Imunoalerg*, 1993; 2(1): 9-17.
9. Vijayan VK, Reetha AM, Jawahar MS, Sankaran K, Prabhakar R. "Pulmonary Eosinophilia in Pulmonary Tuberculosis". *Chest*, 1992; 101: 1708-9.
10. Athens JW: "Variations of leukocytes in disease". *Wintrobe's Clinical Hematology*, 9^a ed.: 1573-76.
11. Chusid MJ, Dale DC, West BC, Wolf SM: "The hypereosinophilic syndrome, analysis of fourteen cases with review of the literature". *Medicine*, 1975; 54: 1-27.
12. Boldt DH: "Abnormal nucleated blood cell counts". *Internal Medicine: Stein JH, 3^a ed., Little Brown and Company*, 1990: 1016-18.
13. Reilly A, Becker J, Meyer J, Rackoff W: "Hypereosinophilia". *Medical Pediatric Oncology*, 1992; 20: 232-39.
14. Goh KO, Ho FSC, Tso SC, Ma J: "Is hypereosinophilic syndrome a malignant disease?". *Cancer*, 1985; 55: 2395-99.
15. Delgado L, Winck JC, Torres da Costa J, Gois L, Moura e Sá J, Fleming Torrinha JA. "O eosinófilo na suspeita de patologia pulmonar intersticial. Contributo do LBA na sua caracterização". *Rev Port Imunoalerg*, 1992; 1(2): 9-14.
16. Feldman GJ, Parker HW: "Visceral Larva Migrans associated with the hypereosinophilic syndrome and the onset of severe asthma". *Ann Intern Med*, 1992; 116: 838-40.
17. Carballada F, Bianchi de Aguiar, Falcão H, Guedes Vaz L, Aguiar A. "Uma forma grave de Larva Migrans Visceral por Toxocara canis". *Rev Port Imunoalerg*, 1992; 1(1): 47-9.
18. Hunder GCF, Arend WP, Bloch DA et al: "The American College of Rheumatology-1990 criteria for the classification of vasculitis". *Arthritis Rheum*, 1990; 33: 1065-124.
19. Torres da Costa J, Delgado L, Grangeia L, Lopes JM, Gomes I, Marques A. "Síndrome de Churg-Strauss (caso clínico)". *Arquivos de Medicina*, 1993; 7(1): 54-60.

Pruritus Aquagenico

A propósito de um caso clínico

FRANCISCO LUÍS PIMENTEL (*), Porto, Portugal

RESUMO

Apresenta-se caso clínico de pruritus aquagenico (PA). É efectuada uma revisão sobre o PA e o pruritus aquagenico do idoso (PAI), nomeadamente sobre diagnóstico, fisiopatologia e possibilidades terapêuticas. Faz-se ainda uma breve referência ao prurido induzido pela água, em doentes com policitemia rubra vera (PRV).

PALAVRAS CHAVE: Prurido induzido pela água; Prurido; Pruritus aquagenico; pruritus aquagenico do idoso; Policitemia rubra vera.

ABSTRACT

A clinical case of pruritus aquagenic is presented. The author does a revision about Aquagenic Pruritus, Aquagenic Pruritus of the Elderly, in regard of diagnosis, pathophysiology and therapeutic. A short commentary is do about water-related itching in polycythemia rubra vera.

KEY WORDS: Water induced itching; Pruritus; Aquagenic pruritus; Aquagenic pruritus of the elderly; Polycythemia rubra vera.

INTRODUÇÃO

O contacto da água com a pele é essencial no dia a dia, sendo esse contacto habitualmente tido como inocente e muitas vezes considerado mesmo como um prazer. Porém existem algumas pessoas para quem o contacto com a água pode ser extremamente desagradável.

O PA é caracterizado pelo aparecimento de desconforto cutâneo após a exposição à água, sendo o sintoma mais frequente o prurido, que pode ser

muito intenso, chegando a ser incapacitante. A maioria dos doentes com PA consideram a sua situação como intolerável, não conseguindo alguns tomar banho nem de imersão, nem de chuveiro, limitando a sua higiene a fugazes lavagens com esponjas. Quando recorrem ao médico, e provavelmente por estes não estarem familiarizados com esta entidade clínica, são usualmente rotulados de "neuróticos".

O termo PA foi usado pela primeira vez por Shelley¹ em 1970, para descrever uma provável urticária aquagénica (UA) atenuada. Como entidade clínica própria o PA foi pela primeira vez descrito em 1981 por Greaves,² que apresentou 3 casos de PA, após excluir a possibilidade de se tratar de UA ou de outras situações que associadas à exposição à água causavam desconforto cutâneo. Em 1985 Steinman³ descreveu detalhadamente o quadro clínico, definindo os critérios de diagnóstico. Posteriormente Kligman⁴ constatou que o PA não é uma entidade clínica homogénea e pode ser separada em duas entidades diferentes, o PA e PA do idoso (PAI).

A etiologia e a fisiopatologia do PA, são ainda mal conhecidas. Várias hipóteses têm sido propostas.

CASO CLÍNICO

Homem de 27 anos, engenheiro electrotécnico, refere desde há 14 anos "ardor" e "prurido" intenso, em ambas as pernas, após exposição à água. Por vezes os sintomas manifestam-se também a nível do tronco e dos membros superiores. Os sintomas agravaram-se a partir dos 20 anos de idade. O prurido inicia-se 5 a 10 minutos após o término da exposição à água, excepcionalmente os sintomas têm início durante um banho de imersão mais prolongado. A duração do prurido é variável, usualmente entre 10 a 20 minutos, no entanto, em períodos em que os

(*) Interno Complementar de Medicina Interna – Serviço de Medicina 4 – Hospital S. João, Porto - Portugal

sintomas são mais graves a duração pode chegar a uma hora. O aparecimento dos sintomas não é influenciado pela temperatura da água, a água ser doce ou salgada, o banho ser de imersão ou de chuveiro. Durante o Verão, se se verificar sudorese intensa, esta também provoca prurido. Na altura em que sente prurido, manifesta extrema irritabilidade, procurando sempre evitar o contacto com outras pessoas (procura tomar banho quando está em casa sozinho).

Ao exame físico nada foi detectado de anormal. Não há história de ter qualquer sinal cutâneo. Houve oportunidade de observar o doente na altura em que manifestava queixas de prurido intenso e não se encontrou nenhuma alteração quer no aspecto, quer na sensibilidade da pele. Não há história de atopia. A mãe tem PA moderado, durante todo o ano, uma irmã refere por vezes PA muito discreto.

Realizou exames complementares (hemograma, glicemia, ionograma, ureia, creatinina, ácido úrico, TGO, TGP, DHL, bilirrubina, sedimento urinário) não se encontrando qualquer valor anormal.

Desde o início dos sintomas recorreu à consulta de várias especialidades médicas (incluindo Dermatologia e Neurologia), sendo os sintomas interpretados como "psicogénicos". Várias abordagens terapêuticas foram efectuadas, tal como anti-Histamícos H₁, benzodiazepinas, anti-depressivos e fármacos tópicos; nenhum atenuou os sintomas. Foi proposto o uso de bicarbonato de sódio na água do banho, inicialmente 100g e aumentando progressivamente até aos 200g, no entanto apenas se conseguiu discreta melhoria dos sintomas.

Pruritus Aquagenico

O quadro clínico e os critérios de diagnóstico (ver Tabela 1) foram apresentados por Steinman³ em

1985. Estes resultados foram baseados em casos clínicos previamente descritos e numa série de 36 doentes observados pelo autor.

Em 1990 Bircher⁵ fez a revisão dos casos de PA até então publicados, tendo encontrado 58 casos descritos. A idade média dos doentes era de 40,5 anos com um tempo de duração médio da doença de 6,1 anos (intervalo de 5 meses a 30 anos). Na série de Steinman,³ a idade média de início dos sintomas foi de 32,7 anos. O PA é mais frequente no homem do que na mulher (H/M=1,4). A incidência de atopia é semelhante à população em geral. Na história familiar é comum encontrar referências a um ou mais membros com sintomas sugestivos de PA, verifica-se este facto para 33% dos doentes. Potasman, realizou um estudo da prevalência do PA e em 996 indivíduos encontrou 3,3% de casos que tinham os critérios de diagnóstico.⁶ As características da população, o início e duração dos sintomas eram semelhantes ao previamente descrito.^{2,3}

Muito pouco se sabe sobre a história natural desta doença. A maioria dos casos tem uma evolução crónica, podendo ter períodos de remissão mais ou menos prolongados.³ Não existe nenhuma descrição de remissão espontânea do PA.³ A intensidade dos sintomas pode variar ao longo do ano, alguns doentes queixam-se mais no Verão, outros pelo contrário mais no Inverno.^{3,5,6}

Habitualmente o desconforto dérmico, após contacto com a água, é referido como uma sensação de queimadura, comichão ou picada. Os sintomas iniciam-se alguns minutos após o contacto com a água, independentemente das características física desta, e em cerca de 50% dos casos começa apenas quando o doente deixa de estar em contacto com a água.³ A duração dos sintomas é de 10 minutos a 2 horas.^{4,5,6}

Habitualmente o prurido é mais intenso a nível das extremidades, estando também o tronco muitas vezes envolvido.^{4,5} Ainda não existe nenhum caso descrito em que se tivesse verificado prurido a nível da cabeça, palmas das mãos ou planta dos pés.⁵ Os sintomas são localizados às zonas de contacto com a água.⁴

Outros factores podem também provocar o prurido nestes doentes, tal como a transpiração, calor, frio ou pressão cutânea.^{3,4,5} A ocorrência do PA após exercício é provavelmente devido à transpiração.⁴ O "stress" emocional parece ser pouco importante.⁴ Na Tabela 2 apresentam-se outros estímulos para além da água que provocam prurido em doentes com PA.⁵

TABELA 1

CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO DO PA
<ul style="list-style-type: none">- prurido intenso, ou outra sensação de desconforto cutâneo, após contacto com a água, independentemente da temperatura desta,- os sintomas surgem minutos após o contacto com a água,- não se observam alterações cutâneas, associadas ao desconforto,- ausência de patologia dermatológica ou sistémica que possam justificar os sintomas, ou uso de fármacos que por si induzem prurido,- ausência de urticária física, tais como as provocadas pela água, frio, calor, pressão, dermografismo sintomático,- excluir policitéma rubra vera (PRV).

TABELA 2

OUTROS ESTÍMULOS QUE PROVOCAM PRURIDO EM DOENTES COM PA	
Transpiração	53%
Sair da cama	50%
Mudança de temperatura ambiente	47%
Calor	31%
Frio	25%
Exercício físico	19%
Stress emocional	19%
Pressão na Pele	17%

Durante ou após as crises, os doentes têm marcada labilidade emocional, que se manifesta por agressividade, irritabilidade ou depressão. Estas manifestações psiquiátricas são extremamente incapacitantes, muitos doentes necessitam de ficar sozinhos em casa para conseguirem fazer a sua higiene.

Associado ao facto de não apresentarem sinais cutâneos, a maioria das vezes estes doentes são rotulados de "neuróticos".

Nos doentes estudados não se encontraram alterações hematológicas, bioquímicas ou imonológicas.⁷

A fisiopatologia do PA ainda não é conhecida. Valores séricos elevados de histamina,³ aumento da actividade fibrinolítica cutânea (AFC) e aumento da actividade das acetilcolinesterases têm sido constatadas. Em doentes a quem se efectuou biópsia de pele, verificou-se um aumento do número de mastócitos e uma maior facilidade de se verificar a desgranulação destes.² Nestes doentes existiam valores elevados de histamina sérica, pelo que se colocou a hipótese de os valores séricos elevados de histamina se deverem a um estímulo provocado pela anormal transpiração e que após exposição à água esses valores ainda aumentavam mais. Porém a histamina por si, não parece ser responsável pelos sintomas do PA, já que a injeção sub-cutânea de histamina a estes doentes não provocam os sintomas verificados durante a crise de PA, por outro lado os antagonistas da histamina não influenciam significativamente os sintomas.⁴

A AFC está quantitativamente aumentada no PA antes e após a exposição à água, comparativamente com indivíduos de controle ou com doentes com PA mas que se encontram durante um período de remissão.⁸ O ácido ϵ -aminocapróico bloqueia o efeito, indicando que a AFC é provocada por

activadores do plasminogénio e não por outras proteases. A actividade fibrinolítica plasmática é normal.⁸

A libertação de acetilcolina (Act) tem sido demonstrada no PA. A aplicação tópica de eoscina e escopolamina,⁷ dois antagonistas da Ach, diminuem ou suprimem os sintomas do PA.² A aplicação de eoscina numa zona bem delimitada da pele, previne a ocorrência de prurido nessa zona, enquanto que na pele vizinha que não foi protegida já se verifica prurido.² No entanto a injeção sub-cutânea de Ach provoca apenas uma lesão de pequenas dimensões, sem provocar os sintomas sugestivos de PA.

A histamina, a Ach e a AFC, parecem ter um papel em conjunto para provocar o PA. Experimentalmente, verificou-se um aumento na AFC, em bolhas produzidas pela injeção de histamina ou de Ach.³ Steinman sugeriu que na presença da água se verificava a absorção ou libertação de uma substância a partir do estrato corneum da pele, ou ainda a uma alteração estrutural, que por sua vez levavam à libertação de histamina e Ach, com consequente aumento da AFC.

Não existe uma terapêutica verdadeiramente eficaz para o PA. Evitar o contacto com a água é a única medida efectiva. Os antagonistas da histamina H₁ e H₂ apenas proporcionam alívio parcial a alguns doentes.^{3,4}

A irradiação profiláctica com raios ultravioleta (290 a 320 nm), 2 a 3 vezes por semana, ou a exposição aos raios solares, parece ser útil diminuindo os sintomas num grande número de doentes.⁷ A utilização de raios ultra violeta em 8 de 14 doentes, conseguiu melhoria significativa dos sintomas, no entanto apenas um doente conseguiu remissão completa, mas, estes resultados para serem mantidos necessitam de 2 a 3 sessões por semana, o que torna inviável esta terapêutica a longo prazo devido aos efeitos laterais inerentes à utilização prolongada dos raios ultravioleta.³

A escopolamina, aplicada por via percutânea diminui os sintomas, mas tem efeitos laterais inaceitáveis.

Em 1986, foi descrito pela primeira vez por Bayoumi⁹ o papel do bicarbonato de sódio na água do banho, como prevenção para o aparecimento dos sintomas, doses de 25 a 200g de bicarbonato de sódio têm-se mostrado eficazes num grande número de doentes;^{10, 11} apesar dos insucessos esta é ainda a terapêutica mais eficaz, segura e económica para o PA.⁷ O mecanismo de acção do bicarbonato de sódio é desconhecido, pensa-se no entanto que interfere

com a água e o CO₂ libertados pelas glândulas sebáceas.

Deve ser feito o diagnóstico diferencial entre PA e outras patologias que se manifestam por desconforto cutâneo ao contacto com a água,^{5,12,13} tais como: UA, urticária colinérgica, urticária do frio, urticária do calor, PRV e dermografismo sintomático.

Pruritus Aquagenico do Idoso

Em 1986, Kligman⁴ descreveu o PAI (ver Tabela 3). Tal como no PA indução dos sintomas é

TABELA 3

COMPARAÇÃO ENTRE PA E PAI		
Idade de início	Jovem/Meia-Idade	Idosos
Incid. por sexo (H/M)	1,4	0,66
História Familiar	33%	Não
Incidência Sazonal	Não	Inverno
Relação com o contacto com a água	50% durante	Durante o processo de secagem
Aparência da pele	Normal	Seca, Escamosa.
Sintomas psiquiátricos	Frequentes	Não
Efeito dos emolientes	Ineficazes	Eficazes

provocada pela água, mas a clínica e a terapêutica são distintas.¹¹ O início dos sintomas verifica-se após os 60 anos. Os sintomas verificam-se apenas após exposição a água morna ou quente, e sempre após o doente se ter enxugado. São proporcionais à temperatura da água, à duração da imersão e à força da utilização da toalha. A duração é habitualmente 10 a 20 minutos, mas pode ultrapassar os 60 minutos. Os sintomas são piores no Inverno, provavelmente por causa das altas temperaturas ambientais e particularmente pela baixa humidade relativa do ar dentro das instituições em que estes idosos se encontravam. Não se verificam sintomas psiquiátricos. 75% dos casos são em mulheres. Alguns pacientes apresentam xerose dos membros e do tronco. O PAI nunca foi diagnosticado em negros e é muito pouco frequente em pessoas com pele mais escura, tal como as de origem Mediterrânica.⁴

Pouco se sabe sobre a fisiopatologia. Injecções de histamina provocam reacção idêntica às encontradas em indivíduos de controle. Biópsias de pele não apresentam diferenças significativas para

indivíduos de controle ou para doentes com xerose sem sintomas de PAI.⁴

As atitudes terapêuticas para o PAI resumem-se essencialmente ao seguinte: banhos curtos (inferiores a 5 minutos), de preferência de chuveiro e aplicar imediatamente após um emoliente; uso diário de emoliente (ex. lanolina); evitar a aplicação de substâncias tópicas que contenham corticoides, detergentes, ureia (em concentrações superiores a 20%), propileno glicol (em concentrações superiores a 20%) ou ácido salicílico (em concentrações superiores a 5%). A utilização de antagonistas de histamina, psicofármacos e a aplicação de raios ultravioletas não foi eficaz, igualmente a utilização do bicarbonato de sódio não teve sucesso.¹¹ De referir que os psicofármacos usualmente agravam o quadro pois desinibem o doente de coçar.⁴ As tentativas efectuadas para induzir tolerância (imersão das pernas em água, por períodos de tempo progressivamente maiores) não teve sucesso.⁴

Policitémia Rubra Vera

O prurido é um sintoma comum em doentes com PRV não tratados, ocorrendo em 14 a 52%. O prurido pode ser despertado por outras causas tais como a sudorese ou alterações de temperatura.¹⁴ Quando induzido pela água, muitas das características são semelhantes às encontradas no PA. Contrariamente ao que se verifica no PA, na PRV a maioria dos doentes tem sintomas apenas com a água morna ou quente.⁷

A terapêutica da PRV mesmo quando eficaz sobre o ponto de vista hematológico, não controla o prurido em 20% dos doentes. Baixas taxas de ferro sérico têm sido apontadas como factor desencadeante do prurido, nalguns doentes a administração de ferro aliviou os sintomas. Os antagonistas da histamina H₁ e H₂ proporcionam alívio em cerca de 40% dos doentes.¹⁴ O bicarbonato de sódio e os raios ultravioleta, foram ineficazes nestas situações.⁷

A serotonina e as prostaglandinas E₂ parecem mediadores importantes do prurido na PRV, desta forma experimentou-se o ácido acetilsalicílico, tendo-se obtido alívio marcado dos sintomas em 14 de 18 doentes.

O prurido na PRV pode anteceder anos,¹⁵ as manifestações hematológicas. Outras patologias hematológicas tem sido associadas a prurido induzido pela água, a doença de Hodgkin, Síndromes

Mielodisplásicos e Síndromes Hipereosinofílicos.^{16,17} Nestas patologias, também o prurido pode anteceder o quadro hematológico.

CONCLUSÃO

Duas entidades clínicas são hoje reconhecidas, em que o principal sintoma é o prurido induzido pela água sem sinais cutâneos, o PA e PAI, estas têm características comuns, mas existem diferenças suficientemente grandes para terem uma separação taxonómica.⁴ Apesar de serem conhecidos alguns elementos da fisiopatologia, o entendimento global está ainda longe de ser alcançado. O diagnóstico de situações como PA e PAI, é importante, não tanto pelas possibilidades terapêuticas, mas mais para evitar o sofrimento adicional destes doentes, inherente ao rótulo que lhes é colocado "neuróticos". Algumas atitudes terapêuticas podem ser tentadas, mais eficazes no PAI do que no PA. Para este a forma terapêutica a propor numa primeira abordagem é a utilização do bicarbonato de sódio na água do banho.

O diagnóstico diferencial mais importante a efectuar é com a PRV.

BIBLIOGRAFIA

1. Shelley WB. Questions and answers. *JAMA* 1970; 212: 1385.
2. Greaves MW, Black AK, Jeady RA, Coutis A. Aquagenic pruritus. *BMJ* 1981; 282: 2008-2010.
3. Steinman HK, Greaves MW. Aquagenic pruritus. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 91-96.
4. Kligman AM, Greaves MW, Steinman HK. Water-Induced Itching Without Cutaneous Signs. Aquagenic Pruritus. *Arch Dermatol* 1986; 122: 183-186.
5. Bircher AJ. Water-Induced Itching. *Dermatologica* 190; 181: 83-87.
6. Potasman I, Heinrich I, Bassan HR. Aquagenic Pruritus: Prevalence and Clinical Characteristics. *Isr J Med Sci* 1990; 26: 499-503.
7. Bircher AJ, Meier-Ruge W. Aquagenic Pruritus. Water-Induced Activation Acetylcolinesterase. *Arch Dermatol* 1988; 124: 84-89.
8. Lotti T, Steinman HK, Greaves MW, Fabbri P, Brunetti L, Panconesi E. Increased Cutaneous Fibrinolytic Activity in Aquagenic Pruritus. *Int J Dermatology* 1986; 25: 508-510.
9. Bayoumi AH, Hight AS. Baking soda baths for aquagenic pruritus. *Lancet* 1986; 464.
10. Meunier L, Levy A, Costes Y, Meynadier J. Prurit aquagénique idiopathique traité par adjonction de bicarbonate sodique à l'eau des bains. *La Presse Médicale* 1988; 17: 962.
11. Wolf R, Krakovski A. Variations in aquagenic pruritus and treatment alternatives. *J Am Acad Dermatol* 1988; 18: 1081-3.
12. Meynadier J, Meunier L. Urticaire Aquagénique. *Le Concours Médical* 1990; 112: 1783-4.
13. Wooldridge WE. Dermatologic Symptoms Without Signs. *Postgraduate Medicine* 1989; 85: 369-375.
14. Hocking WG, Golde DW. Polycythemia: Evaluation and Management. *Blood Reviews* 1989; 3: 59-65.
15. Archer CB, Camp RR, Greaves MW. Polycythaemia vera can present with aquagenic pruritus. *Lancet* 1988; 1451.
16. McGrath JA, Greaves MW, Warin AP. Aquagenic Pruritus and Myelodysplastic Syndrome. *Am J Hematol* 1991; 37: 63.
17. McGrath JA, Greaves MW. Aquagenic pruritus and the myelodysplastic syndrome. *Br J Dermatol* 1990; 123: 415-16.
18. Nevbes F, Vieira L. Urticária - Revisão Clínica e Bibliográfica. *HPV* 1992; 2: 155-163.
19. Palma Carlos AG. State of the art em Imuno.Alergologia: Os Factores Libertadores da Histamina (HRF). *Acta Médica Portuguesa* 1989; Supl 2: 34-38.

Como Melhorar a Eficácia da Terapêutica Inalatória na Asma

AURORA CARVALHO*, SARA CONDE**

Um aerosol é uma suspensão de pequenas partículas, sólidas ou líquidas, num gás (geralmente ar). A verdadeira era da inaloterapia teve início em 1930 com a administração de um aerosol de adrenalina no tratamento da asma. Na década de 60 a comercialização dos inaladores pressurizados, o interesse na pesquisa de novas drogas com maior eficácia e especificidade transformaram a via inalatória na arma fundamental do tratamento e profilaxia da asma.

Um aerosol pode ser obtido por meio de inaladores pressurizados doseáveis, inaladores de pó seco e nebulizadores. As vantagens da sua utilização terapêutica estão resumidas no Quadro I.

QUADRO I

VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DE AEROSOIS

- Rápido início de ação.
- Obtenção de efeitos terapêuticos com pequenas dosagens.
- Incidencia baixa ou nula de efeitos sistémicos.

INALADORES PRESSURIZADOS DOSEÁVEIS

Os inaladores doseáveis (Fig. 1) contém um fármaco em suspensão ou dissolvido num propelente (clorofluorcarboneto-CFC), a «libertação» da mistura é controlada por uma válvula que deixa passar um volume fixo pré-determinado de mistura. Por este método estão disponíveis no mercado beta-agonistas, corticosteróides, anticolinérgicos e cromoglicato dissódico.

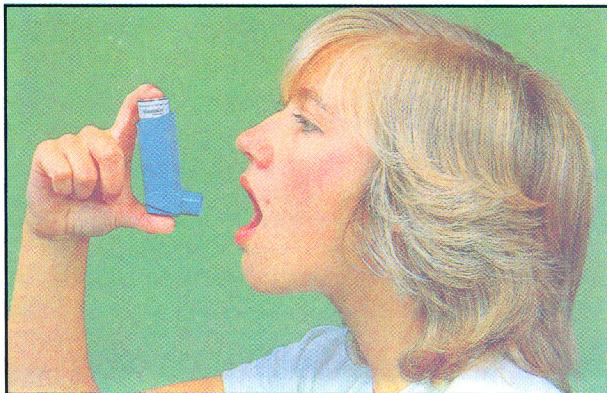


Fig. 1 - Inhalador pressurizado doseável - uso correcto

É a forma de aerosolterapia mais utilizada porque é portátil, barato, contém pelo menos 200 doses prontas a utilizar. A principal dificuldade na sua utilização advém da necessidade da técnica de inalação ser correctamente efectuada para se obter o efeito pretendido (Quadro II). A reavaliação periódica da técnica utilizada pelo doente é indispensável.

QUADRO II

INSTRUÇÕES PARA O USO CORRECTO DUM INHALADOR DOSEÁVEL

- Retire a tampa de protecção, agite bem o inalador.
- Coloque o inalador na posição vertical, em frente da boca aberta ou com os lábios semi-cerrados.
- Expire lentamente, comece a inspirar lentamente e comprima o inalador.
- Inspire profundamente, sustenha a respiração por 4 a 10 segundos.
- Expire lentamente, espere pelo menos 1 minuto antes de fazer a inalação seguinte.

* Assistente Graduada de Pneumologia

** Interna Complementar de Pneumologia - Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia

A dificuldade de utilização correcta por um elevado número de doentes, particularmente crianças, conduziu à necessidade de utilizar tubos extensores ou câmaras expansoras ("spacers") que acopladas aos aerossois permitem ultrapassar as dificuldades de coordenação "mão-pulmão". Existem vários modelos (Fig. 2); o comprimento pode variar



Fig. 2 - Tubo extensor e câmaras expansoras «Aerochamber» com máscara e bucal para adultos

entre 10 e 25 cm, o volume entre 750 e 1200 ml, a forma é variável e podem conter uma válvula unidireccional. (Fig 3) Estudos efectuados não demonstraram diferenças significativas de eficácia entre os diferentes modelos de câmaras expansoras.



Fig. 3 - Nebuhaler - câmara plástica de 750 ml de volume

As vantagens da sua utilização resultam de: 1 - diminuição da necessidade de coordenação «mão-pulmão», melhorando a deposição pulmonar das partículas em doentes com má técnica;

2 - diminuição da deposição de partículas na orofaringe permitindo melhorar a eficácia dos esteroides inalados e diminuindo o risco de candidíase orofaríngea e de disfonia que estes por vezes provocam; 3 - permitem a utilização de aerossois doseáveis em crianças pequenas se correctamente ensinada. A Flunisolida comercializada em aerosol vem já acompanhada de uma câmara expansora na respectiva embalagem de venda.

Algumas destas câmaras só adaptam a um determinado inalador enquanto outras se adaptam a qualquer inalador comercializado. A existência de válvula inspiratória assegura a coordenação necessária à distribuição do medicamento na inspiração. Uma inspiração incorrecta pode ser assinalada por um «aviso sonoro» como acontece na «Aerochamber».

Instruções para utilização correcta destes aparelhos estão resumidas no Quadro III.

QUADRO III

INSTRUÇÕES PARA O USO CORRECTO DO TUBO OU CÂMARA EXPANSORA

- Retire a tampa do aerosol, agite bem, coloque verticalmente a embalagem.
- Adapte o tubo ou câmara expansora e pressione o inalador.
- Coloque o bocal na boca, feche os lábios, inspire lentamente, sustenha a respiração por 4 a 10 segundos.
- Espere pelo menos 1 minuto e repita a activação do aerosol.
- Limpe diariamente à noite com água quente e seque cuidadosamente.

Alguns destes «spacers» são tão eficazes como os nebulizadores em fornecer doses relativamente elevadas de broncodilatadores e por isso podem substitui-los no tratamento da asma aguda grave.

INALADORES DE PÓ SECO

Estes dispositivos geram partículas sólidas, a inalação do pó é activada pelo ar inspirado o que dispensa a coordenação e facilita a utilização. Não contém propelente. Por este método estão disponíveis beta-agonistas, corticosteróides e cromoglicato.

Os inconvenientes destes dispositivos resultam da perda de eficácia por aglomeração de partículas pelos aditivos usados (lactose), ou por presença de humidade dentro do aparelho. A eficácia depende do débito inspiratório do doente o qual não necessita de ser muito elevado mas deve ser superior a

30 l/min. Ao contrário dos aerosóis aqui a inalação deve ser rápida.

1 - Inaladores de pó seco de dose simples

Rotahaler - o medicamento é fornecido numa cápsula, a qual após ser inserida na extremidade do inalador (Fig. 4) é aberta em duas partes e o pó é inalado pela peça bucal. O aparelho deve ser lavado bissemanalmente com água quente e cuidadosamente seco.

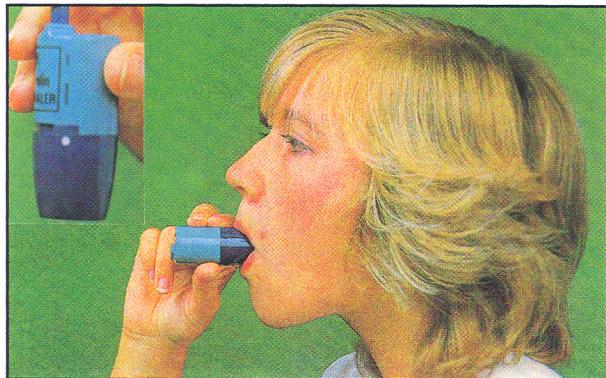


Fig. 4 - Rotahaler - modo de utilização

Spinhaler - o medicamento é fornecido em cápsulas, o aparelho (Fig. 5) perfura a cápsula e um sistema de hélice faz a propulsão do pó para inalação. O aparelho deve ser desmontado, lavado e seco periodicamente com cuidado.



Fig. 5 - Spinhaler

2 - Inaladores de pó seco multidose

Diskhaler - o medicamento encontra-se em pequenos discos com 8 doses dispostas em «blisters», que quando perfurados libertam o pó

para uma pequena câmara adjacente à peça bucal (Fig. 6). Alguns doentes encontram dificuldade na colocação dos discos no aparelho.



Fig. 6 - Diskhaler

Turbohaler - é um sistema muito prático de inalador de pó seco (Fig. 7), contém 200 doses prontas a usar, não contém aditivos nem propelentes. A rotação da base do inalador, com este colocado verticalmente, preenche uma câmara com uma dose, o inalador deve ser colocado na horizontal para se



Fig. 7 - Turbohaler - modo de utilização

efetuar a inalação. O bucal do turbohaler deve ser desmontado e limpo com pano seco semanalmente, não deve ser lavado.

NEBULIZADORES

O nebulizador é um aparelho que produz um aerosol a partir dumha solução aquosa contendo o medicamento que pretendemos administrar.

Estes aparelhos têm sido largamente utilizados na última década, quer no domicílio quer a nível hospitalar, mas o aparecimento de novos métodos de administração de aerossois tem diminuido a necessidade da sua utilização. No entanto, a possibilidade de fornecer altas doses de medicamentos sem ser necessária a cooperação do doente justificam o seu uso se: 1 - o doente não consegue usar correctamente a via inalatória por outros métodos; 2 - em indivíduos gravemente doentes, incapazes de usar inaladores e câmaras de expansão; 3 - doentes que referem melhoria mais importante com o nebulizador ou se estão a receber beta-agonistas pela primeira vez no serviço de urgência; 4 - se é útil humidificar as vias aéreas.

O aerosol pode ser produzido por nebulizador de tipo pneumático que utilizam a passagem de ar ou oxigénio através dum tubo ou pequena câmara onde se encontra o fármaco diluído em soro fisiológico (Fig. 8); nos nebulizadores ultrassónicos o aerosol

é produzido pela passagem de ultra-sons à superfície da solução. Os aparelhos ultrassónicos geralmente são mais eficazes mas também mais caros. O aerosol pode ser administrado ao doente através duma máscara ou duma peça bucal. A peça bucal é mais recomendada porque diminui a deposição nasal e orofaríngea.

Por este método é possível administrar beta-agonistas, brometo de ipatrópio e em situações particulares pode estar indicado administrar antibióticos.

As desvantagens dos nebulizadores resultam de:

- 1 - não serem facilmente portáteis;
- 2 - ser necessário treinar correctamente na preparação da solução;
- 3 - o nebulizador deve ser cuidadosamente limpo e esterilizado para evitar a contaminação bacteriana;
- 4 - o uso do nebulizador pode atrasar a ida do doente ao serviço de urgência numa crise de asma aguda grave.

BIBLIOGRAFIA

- **Froes F, Canteiro M C**, «Aerossois em pneumologia», *Jaba*, Lisboa, 1992.
- **Lee H, Evans H E**, «Evaluation of inhalation aids of metered dose inhalers in asthmatic children» *Chest* 91(3): 366-9, 1987.
- **Mercer T T**, «Production of therapeutic aerosols;principles and techniques». *Chest* 80 (suppl.): 813-18, 1981.
- **Newman S P, Pavia D, Clarke S W**, «How should a pressurized beta-adrenergic bronchodilatator inhaled?» *Eur J Respir Dis*, 62(1): 3-21, 1981.
- **Newman S P, Clark S W, ASTHMA, T J H Clark, S Godfrey, T H Lee**, *Third Ed, Cambridge, Chapman e Hall*, 469-505: 1992.
- **Newman S P, Millar A B, Lennard-Jones T R; et al.** «Improvement of pressurized aerosol deposition with Nebuhaler spacer device» *Thorax* 39; 935-41: 1984.
- **Prior J G**, «Bronchodilatador therapy», **J J Clark, Auckland, Adis Press**; 213-225: 1984.
- **Self T H, Rumbak M J, Kelso T M**, «Uso correcto dos inaladores doseáveis e das câmaras de expansão», *Postgrad Med (ed port.)* 14; 14-20: 1994.
- **Toogood J H, Baskerville J, Jenning B.** «Use of spacers to facilitate inhaled corticosteroid treatment in asthma». *Am Rev Respir Dis* 129; 723-9: 1984.

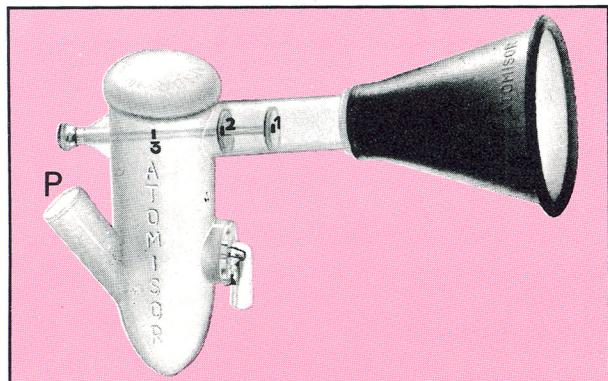


Fig. 8 - Nebulizador de aerosol (atomizador N3)