

# Avanços Terapêuticos na Vasculite Urticariana Linfocitária Normocomplementémica

A. CELSO PEREIRA <sup>1</sup>, MARIA JOSÉ JULIÃO <sup>2</sup>, A. CARLOS LOUREIRO <sup>3</sup>, ANA TODO BOM <sup>3</sup>, EMÍLIA FARIA<sup>1</sup>, PEDRO PESSA <sup>4</sup>, J. PINTO MENDES <sup>5</sup>, M. IRENE MARTINS <sup>6</sup>, CELSO CHIEIRA <sup>7</sup>.

## RESUMO

Neste estudo procede-se à caracterização clínica, laboratorial e histológica da vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica. Salientam-se as dificuldades diagnósticas, nomeadamente pela semelhança das manifestações clínicas que partilha com a urticária crónica idiopática não vasculítica. O objectivo deste estudo consistiu na procura de um esquema farmacológico eficaz, seguro, bem tolerado e se possível modulador do processo vasculítico imuno-inflamatório observado na derme superior, face ao deficiente controlo com as diferentes formas terapêuticas mais comuns.

Foram estudados 51 doentes de ambos os sexos com o diagnóstico de vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica. Após avaliação clínica, laboratorial e histológica foram submetidos aos seguintes fármacos: Grupo I -15 doentes com sulfassalazina; Grupo II -21 doentes com metilprednisolona; Grupo III -9 doentes com dapsona; Grupo IV -6 doentes com cetirizina. O período de estudo foi de 16 semanas no Grupo I e de 12 semanas nos restantes. Em todos os doentes o estudo histológico foi realizado antes e após o tempo de prescrição medicamentosa, mas nos Grupos I e II procedeu-se a uma avaliação intercalar.

A partir dos fragmentos parafinados de biópsia realizaram-se, numa subamostra de cada um dos

grupos, marcações celulares com anticorpos anti-CD3, anti-CD45RO e anti-CD15.

A resposta clínica no Grupo I foi excelente em 14:15 doentes e no final do estudo a histologia cutânea demonstrava normalização em 14 e infiltrado linfocitário perivascular em 1 doente. Nesta fase observou-se uma redução da população CD3<sup>+</sup> e a marcação CD45RO<sup>+</sup> aproximou-se das histologias de pele normal.

No Grupo II apenas 5 doentes descreveram regressão sintomatológica, mas não se observaram alterações significativas da histologia cutânea ou da população celular dérmica.

A resposta clínica, histológica e celular nos doentes dos Grupos III e IV foi muito insuficiente.

Neste estudo a real eficácia terapêutica da sulfassalazina não acarretou secundarismos farmacológicos, foi bem tolerada e mantida após a suspensão da terapêutica. Em paralelo, o controlo clínico acompanhou-se de evidente modulação celular linfocitária. Os granulócitos não constituem agentes activos no mecanismo fisiopatológico desta entidade.

**PALAVRAS CHAVE:** vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica, urticária crónica, histologia cutânea, linfócitos, sulfassalazina, metilprednisolona, dapsona, cetirizina.

## SUMMARY

### THE RAPHEUTICAL APPROACHES IN NORMOCOMPLEMENTEMIC LYMPHOCYTIC URTICARIAL VASCULITIS

*We performed the clinical, laboratorial and histologic characterization of normocomplementemic lymphocyte urticarial vasculitis. The diagnosis limitations result of the similar clinical pattern with non-vasculitis chronic idiopathic*

1. Assistente Imuno-Alergologia. HUC
2. Assistente de Anatomia Patológica. HUC
3. Assistente de Imuno-Alergologia. HUC
4. Técnico de Imunocitoquímica. HUC
5. Assistente graduado de Imuno-Alergologia. HUC
6. Directora do Serviço de Anatomia Patológica. HUC
7. Chefe de Serviço de Imuno-Alergologia. HUC.

Unidade de Imuno-Alergologia  
Serviço de Anatomia Patológica  
Hospitais da Universidade de Coimbra

A este trabalho foi atribuído o 1.º Prémio SPAIC UCB/STALLERGENES 1996.

*urticaria. The aim of this study was the research of effective and safe pharmacological therapy and, if possible, with cellular modulation on the immunoinflammatory vascular injury in upper dermis, because there isn't real control by classic therapies at present time.*

*51 patients, of both sex, were studied with normocomplementemic lymphocyte urticarial vasculitis diagnosis. After clinical, laboratorial and histological evaluation they were submitted to the following drugs: Group I - sulphasalazine, 15 patients; Group II - methylprednisolone, 21 patients; Group III - dapsone, 9 patients; Group IV - cetirizine, 6 patients. A 16 week prescription was performed in Group I and 12 weeks in the others. In all the groups a beginning study was performed in the beginning and at the final of the therapeutic time, but one additional biopsy was made in the middle time in Group I and II.*

*In each group we selected a randomized subgroup in order to phenotyping cells with antibodies anti-CD3, anti-CD45RO and anti-CD15 in a reserve paraffine skin biopsy sample.*

*A excellent clinical response was obtained in 14:15 patients of Group I at the final study, with a normal skin histology in 14 and sparse lymphocyte perivascular infiltrate in another one. At these time a significant reduction in CD3<sup>+</sup> cells has been showed and the CD45RO<sup>+</sup> percentual values near normal ranges*

*Only 5 patients of Group II described complete clinical regression, but no significant histological changes were showed in dermal cell population.*

*An inadequate clinical, histological and cellular response was observed in patients of Group III and Group IV.*

*The therapeutical efficacy of sulphasalazine was obtained without side effects and a excellent tolerance, which was maintained after the interruption of the prescription. The clinical control was obtained with a marked cellular modulation effect. The granulocytes didn't represent a major cell in the pathogenic mechanism in this pathology.*

**KEY WORDS:** *normocomplementemic lymphocytic urticarial vasculitis, chronic urticaria, skin histology, lymphocytes, sulphasalazine, methylprednisolone, dapsone, cetirizine.*

## **INTRODUÇÃO**

A urticária constitui uma síndrome clínica onde se sobrepõe uma multiplicidade de mecanismos fisiopatológicos, de cujo enquadramento etiopatogénico resulta, na maioria dos doentes estudados, uma impossibilidade de demonstrar uma dualidade causa-efeito ou perspetivar um eficaz esquema terapêutico.

As formas agudas de urticária, com evoluções clínicas inferiores a 6 semanas, representam um acontecimento comum com uma prevalência cumulativa de 15 a 25% na população.<sup>1</sup>

Porém, as formas crónicas com evoluções superiores a 6-8 semanas constituem, maioritariamente, os grupos mais problemáticos, quer do ponto de vista de estudo clínico quer da adequação farmacológica. Efectivamente, nos quadros clínicos sem condicionantes ou desencadeantes supostamente bem definidos, a estratégia e a proposta dos meios complementares de diagnóstico não é plenamente consensual.<sup>1-4</sup>

Nestes doentes propõem-se, classicamente, uma série de exames laboratoriais em consonância com os dados positivos obtidos de um exame físico metucioso ou, ainda, adequados ao tipo e características da população em estudo. Assim, a abrangência irá depender quer das limitações impostas pelos custos económicos quer da concepção e sensibilização clínica, perante a complexidade multifactorial dos mecanismos fisiopatológicos na urticária. Estas premissas constituem, quanto a nós, os vectores fundamentais da produtividade diagnóstica nos distúrbios com longas evoluções clínicas, e explicam a divergência dos resultados observados em diferentes séries.<sup>2-6</sup>

Em 1995, Ernest Charlesworth escrevia em título que no espectro da urticária nem todas as lesões urticariformes são urticária.<sup>1</sup> Esta afirmação, se bem que consensual, constitui o cerne da extrema dificuldade na comparação e discussão dos resultados de muitas séries. Na verdade, os critérios clínicos da urticária são mais restritivos que os frequentemente aceites, abusivamente, na proposta e emissão diagnóstica.

Assim, no diagnóstico clínico são condições exigíveis a lesão papulosa que consiste numa área de eritema circunscrito, discretamente elevado, de centro claro, que desaparece à digito-pressão, e que, caracteristicamente, se acompanha de prurido. Estas lesões, com distribuição eventualmente generalizada a todo o tegumento cutâneo, têm carácter recorrente e deverão regredir, espontaneamente ou sob acção farmacológica, sem lesão residual em período nunca superior a 24 horas, se bem que possam surgir novas lesões noutras locais.<sup>2,3</sup> Deste modo, cumprindo estas premissas constantes na própria definição de urticária, excluem-se muitas outras dermatoses pruriginosas, as quais numa observação menos cuidada e errónea poderiam vir a englobar-se nesta entidade nosológica.

Face à presença de um doente com o diagnóstico clínico de urticária crónica, esta manifestação cutânea deverá ser entendida e interpretada como um sinal ou sintoma de uma outra patologia orgânica, sistémica ou de tradução exclusiva na pele. Deste modo, no estudo destes doentes é possível a associação a formas subclínicas de patologia autoimune, nomeadamente a

tiroidite autoimune ou conectivopatias, nas quais a sintomatologia cutânea antecede em meses ou anos os critérios clínicos diagnósticos desses distúrbios subjacentes.<sup>2,6</sup> Assim, mesmo nas formas consideradas por muitos como idiopáticas, a ocorrência de fenómenos, ainda que indirectos, de alterações imuno-inflamatórias exclusivas da derme são um acontecimento frequente.<sup>6-10</sup>

O conhecimento paulatino dos mecanismos fisiopatológicos da urticária crónica tem acompanhado, em paralelo, o reconhecimento da importância do sistema imune cutâneo, redefinido em 1993 por Jan D Bos e Martien Kapsenberg.<sup>11</sup> Efectivamente, o órgão cutâneo apresenta todos os elementos necessários a uma resposta imuno-inflamatória, capaz de uma resposta eficaz e completa, podendo conduzir a memória imunológica.<sup>11-13</sup>

Na urticária, o mastócito adquire uma importância relevante quando activado quer por mecanismos IgE quer ainda por factores dependentes de complexos imunes, fracções de complemento, activação do sistema das cininas ou de factores solúveis de mononucleares, HRF, libertadores de histamina.<sup>2,4,14-17</sup> Esta amina, de entre os mediadores pré-formados, detém um papel charneira, condicionando um fenómeno de vasodilatação, de que resulta o eritema e o prurido cutâneo.<sup>2,4</sup> Simultaneamente, a libertação de neuropéptidos das fibras C adjacentes (substância P) e de metabolitos do ácido araquidónico como a PgD<sub>2</sub>, o LT-C4 e o PAF, potenciam, de forma sinérgica, o aumento da permeabilidade, coadjuvada pelo efeito da bradicinina resultante da activação do sistema plasmático das cininas.<sup>2,4</sup>

Porém, se o contributo mastocitário é relevante nesta patologia, não deve ser entendido como exclusivo na síntese e libertação de histamina, pois que esta célula é entendida, presentemente, como uma unidade funcional imuno-inflamatória e com repercussões e condicionamentos sobre praticamente todos os elementos celulares intervenientes nos processos alérgicos e neuro-imuno-inflamatórios da pele.<sup>1,18</sup>

A presença, na derme papilar, de mononucleares e linfócitos adjacentes a estruturas vasculares e mastócitos dérmicos tem adquirido um destaque e é assunto de discussão crescente, na tentativa de descrever cabalmente o processo fisiopatológico na urticária. Linfócitos T activados sintetizam IL-3 e GM-CSF com marcada actividade desgranulante do mastócito de rato.<sup>1,4,18,19</sup> Da mesma forma, a sua expressão fenotípica é influenciada pela produção diversificada de citocinas e quimiocinas mastocitárias, nomeadamente: IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e GM-CSF, capazes, sob condições particulares, de induzir o switch de TH0 a TH1 ou TH2, com óbvias implicações clínico-patológicas.<sup>20</sup>

Destes pressupostos realça-se um enquadramento celular mais lato no processo imuno-inflamatório na

urticária, cujo desenvolvimento ocorre, como referido, na derme papilar, numa unidade morfológica abstracta, denominada a unidade neuro-vascular Fig-1.

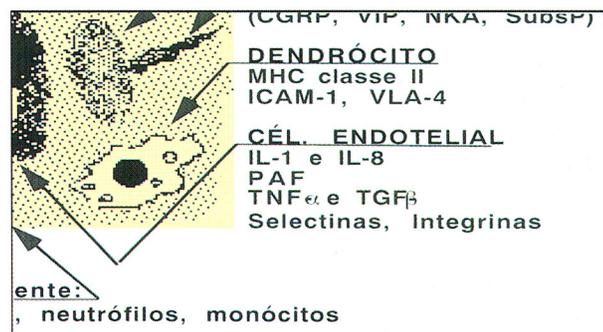


Fig. 1: Unidade neuro-vascular da derme papilar

Este aglomerado celular, centrado em redor de uma ansa vascular, é constituído por todos os elementos celulares fundamentais à prossecução de um diversificado conjunto de processos imunes, alérgicos ou não.<sup>13</sup> Assim, uma activação mastocitária preferencial poderá condicionar, clinicamente, manifestações urticariformes, mas plenamente divergentes dos mecanismos de interactividade celular observados na urticária. Esta é, basicamente, a nossa percepção desde há muito, reforçada em 1995 por Ernest N Charlesworth.<sup>1</sup>

Os estudos de histologia cutânea de biópsia na urticária são fundamentais no esclarecimento fisiopatológico, diagnóstico e terapêutico. Porém, durante vários anos, argumentou-se pela não inclusão deste procedimento na rotina de estudo destes doentes, mas mais recentemente as suas indicações têm sido, progressivamente, alargadas.<sup>1</sup>

Classicamente, na urticária crónica, a histologia da biópsia cutânea é descrita como um edema da derme, dilatação capilar ou venular, associado a um escasso infiltrado perivascular de linfócitos, com presença aumentada de mastócitos mas, ocasional ou esporádico de eosinófilos ou neutrófilos intraluminais aderentes.<sup>2,15,21,22</sup> Porém, do ponto de vista anatomo-patológico, a descrição objectiva das lesões não é pacífica nem concordante. Nas diferentes séries em confronto, e quando comparadas, incorre-se no risco de uma análise de patologias eritemato-papulosas pruriginosas, mas distanciadas, em primeiro lugar, de uma entidade nosológica única.

De facto, correlacionam-se histologias de doentes com processos clínicos *ab initio* de vasculite, com rebate cutâneo predominante das extremidades e com durações médias das lesões superiores a 24 horas, o que, efectivamente, não corresponde a um diagnóstico clínico de urticária. Esta condição, básica e fundamental, constitui, quanto a nós, o principal vector da divergência dos resultados nos diferentes estudos.

Por outro lado, as análises comparativas efectuam-se em amostras constituídas por indivíduos com características genéticas e de *habitat* distintas o que não permite excluir eventuais resultados divergentes. Por último, a centralização da leitura dos cortes de histologia cutânea por um ou vários anatomo-patologistas, com responsabilização sistemática dos próprios, constitui critério de standardização metodológica dos resultados. Parece residir aqui, quanto a nós, a causa dos principais factores de erro na comparação das diferentes séries da literatura.

De forma a ilustrar esta problemática, destaca-se um conjunto de resultados de histologia de biópsia de pele francamente divergentes na urticária crónica idiopática. Assim, Peters e Winkelmann numa série de 241 biópsias referem desde formas *minor* de infiltrados linfocitários perivascularares na derme papilar até formas de infiltrados linfocitários densos e fenómenos de vasculite necrotizante.<sup>23</sup> Nos estudos de Jones são subdivididos em 3 grupos histológicos, nomeadamente: vasculite neutrofilica, infiltrado perivascular polimorfo (neutrófilos, eosinófilos ou mononucleares) e infiltrado linfocitário discreto perivascular.<sup>24</sup> Monroe descreve 20% de fenómenos de vasculite leucocitoclástica numa série de doentes com urticária crónica, sendo os restantes constituídos por infiltrados densos ou escassos de mononucleares.<sup>25</sup> Por outro lado, Phanuphak, de um total de 44 doentes, partindo de uma metodologia menos rigorosa quanto à real lesão vascular, descreve 52% dos doentes com fenómenos de vasculite e 58% com infiltrados perivascularares constituídos por mononucleares (7). No pólo oposto situa-se o grupo de AP Kaplan que em estudo de 1983 descreve numa série de 43 biópsias, apenas 1 caso (2,3%) de fenómenos de vasculite linfocitária.<sup>26</sup>

Como se acaba de descrever, a histologia da urticária crónica idiopática não é uma temática completamente definida e estabelecida. Assim, mesmo em tentativas de catalogação e standardização mais recentes Murphy considera vários padrões, a saber: urticária propriamente dita, vasculite leucocitoclástica ou venulite de neutrófilos, vasculite urticarariana e vasculite linfocitária (Quadro I e Quadro II).<sup>22</sup>

#### Quadro I:

**Crítérios histológicos de diagnóstico de dermatite angiocêntrica, eritemato papulosa pruriginosa sem lesão vascular.**

##### Urticária propriamente dita

- infiltrado discreto perivascular:
  - \*linfócitos e neutrófilos
- presença intraluminal de neutrófilos aderentes à membrana endotelial
- edema da derme superior
- ectasia linfática
- lesões ocasionais no interstício de neutrófilos ou fragmentos nucleares.

#### Quadro II:

**Crítérios histológicos de diagnóstico de algumas formas de dermatite angiocêntrica, eritemato papulosa pruriginosa com lesão vascular.**

##### Vasculite leucocitoclástica ou venulite de neutrófilos

- infiltrado inflamatório misto superficial:
  - \*com neutrófilos, linfócitos e eosinófilos (ocasional)
- fragmentos nucleares em redor da parede vascular
- edema endotelial e deposição de fibrina na parede do vaso
- hemorragia perivascular
- alterações epidérmicas secundárias à isquémia:
  - \*vacuolização e/ou necrose da camada basal

##### Vasculite urticariana

- infiltrado inflamatório misto superficial:
  - \*linfócitos e neutrófilos (ocasional)
- hemorragia perivascular focal
- edema e vacuolização endotelial
- ausência de verdadeira necrose fibrinóide
- persistência clínica superior a 24 horas de cada lesão

##### Vasculite linfocitária

- infiltrado linfocitário perivenular
- hemorragia perivascular
- depósitos de hemossiderina em formas crónicas
- lesão endotelial variável e necrose fibrinóide.

Os trabalhos de Murphy têm o mérito do enquadramento e definição sistematizada de quadros clínico-anatomo-patológicos. Contudo, continua a denominar de vasculite urticariana lesões clínicas eritemato-papulosas pruriginosas com duração superior a 24 horas, fora, portanto, dos critérios clínicos de urticária. Esta filosofia poderá contribuir, em grande parte, para a enorme contradição dos resultados dos diferentes estudos. De facto, a designação de vasculite urticariforme é muitas vezes colocada abusivamente, tal como refere Kaplan, mas também, ele próprio, entra em confronto e em contradição com as formas de infiltrado e lesão vascular observadas por Phanuphak.<sup>2,7,25</sup>

Importa, pois, fazer-se uma nova tentativa de redefinição nosológica e semântica para a vasculite urticariana. Tal como entendida por Kaplan<sup>2</sup>, Monroe<sup>25</sup> ou Soter<sup>27</sup> a redução das fracções do complemento sérico, a presença de complexos imunes circulantes, a relevância de um infiltrado misto de neutrófilos e linfócitos e a persistência clínica de uma lesão em período superior a 24 horas, não deverá ser designada por urticariana (porque não se trata de uma urticária de facto), mas um processo de vasculite com rebate cutâneo exclusivo ou sistémico, quando associada ou no curso clínico de conectivopatia. A vasculite destes doentes deverá, assim, ser designada por urticariforme ou pseudourticariana, mas nunca como urticariana.

Assim, defendemos que o diagnóstico clínico-anatomo-patológico de vasculite urticariana deverá ser atribuído, exclusivamente, a doentes com critérios clínicos de urticária crónica idiopática, nos quais não é possível reconhecer ou definir desencadeantes clínicos e no reconhecimento no estudo histológico da biópsia

cutânea de várias formas de lesão da parede endotelial com necrose fibrinóide, hemorragia perivascular eventual e infiltrado perivascular na derme superior, constituído por linfócitos ou, mais raramente, por neutrófilos. Somente desta forma se poderão explicar quer a baixa incidência de vasculite leucocitoclástica de neutrófilos na série de Kaplan, quer a expressiva incidência (eventualmente excessiva) de vasculite linfocitária observada por Phanuphak.

Nesta perspectiva, e considerando todas as reflexões e requisitos precedentes, o nosso grupo tem vindo a reconhecer na urticária crónica uma área de interesse no âmbito da Imunoalergologia. Assim, de uma série de 184 doentes estudados por esta patologia, anteriormente apresentados<sup>6</sup>, com estudo clínico e laboratorial alargado e com estudo histológico sistemático, e realizado sempre pelos mesmos observadores, a presença de vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica constituiu o diagnóstico em 21,2% da totalidade dos doentes. Nesta série, de igual forma foi inexpressiva a vasculite leucocitoclástica ou neutrofilica (1 doente em 184), ainda que a associação a formas subclínicas de patologia auto-imune como tiroidite e conectivopatias fosse de 7,6%.

Numa primeira fase, face à expressão da incidência da vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica, com um perfil clínico sobreponível aos restantes doentes com formas crónicas idiopáticas ou outras (de igual modo crónicas) como as associadas a patologia autoimune, procurou-se, sumariamente, a caracterização fenotípica da população celular do infiltrado perivascular e da própria parede endotelial, com recurso a anticorpos monoclonais com especificidade CD20 e CD45RO e policlonais CD3. Assim, compararam-se estes doentes com um grupo testemunha, constituído por doentes com urticárias crónicas idiopáticas não vasculíticas.<sup>28</sup> Nos 14 doentes em estudo foi possível a confirmação de alterações significativas da celularidade em relação aos 5 doentes sem fenómenos de vasculite, nomeadamente pelo aumento absoluto de linfócitos CD3<sup>+</sup>, pela redução significativa da população de linfócitos T "*priming*" de memória e pela positividade de marcação de linfócitos B, contrastando com a ausência destes no grupo controlo e por uma presença (percentual) predominante de CD45RO<sup>+</sup>, tal como o observado em histologias de pele normal.

O estudo da celularidade cutânea nestes doentes afastou-se, significativamente, dos observados na urticária crónica idiopática. De facto, nestes últimos observa-se um aumento absoluto de mastócitos, muitos dos quais com aspectos morfológicos de desgranulação, mas também de mononucleares, eles próprios favorecedores de mediadores solúveis histaminolibertadores (HRF).<sup>2,14,29,30</sup> A população de mononucleares é constituída, fundamentalmente, por linfócitos T, com predomínio do fenótipo CD4<sup>+</sup>, ainda que o índice CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> se apresente com valores normais.<sup>2,30</sup> Aparentemente, a população

linfocitária T não apresenta marcadores de activação de superfície, nomeadamente IL2R, HLA-DR ou expressão do receptor de transferrina, e representam linfócitos de memória, previamente submetidos a "*priming*", à semelhança do observado em pele normal de indivíduos saudáveis.<sup>11,28,30</sup> A presença de neutrófilos ou eosinófilos é sempre ocasional e esporádica e estão ausentes, caracteristicamente, linfócitos B.<sup>1,2,28</sup> Nos estudos de Jules Elias e col não foi possível a identificação fenotípica de cerca de 20% dos mononucleares presentes no infiltrado perivascular, questionando-se a presença eventual de linfócitos com receptor de superfície do tipo gd ou, eventualmente, células NK.<sup>2,11,28,31</sup> Assim, genericamente, a histologia cutânea na urticária crónica idiopática é caracterizada por um infiltrado perivascular de maior ou menor densidade, com localização à derme papilar, com integridade da parede do vaso, constituído por linfócitos T e mastócitos<sup>2</sup>.

Estes resultados vieram corroborar a diferenciação celular e fisiopatológica dos doentes com formas crónicas de urticária idiopática, em relação aos doentes com formas de vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica, ainda que, clinicamente, as lesões cutâneas apresentem uma concordância e similitudes absolutas<sup>28</sup>. Porém, nestes, a resposta clínica às terapêuticas convencionais com antihistamínicos H1 revela-se marcadamente inferior no controlo sintomático das lesões cutâneas e, habitualmente, não apresentam rebato orgânico ou sistémico.<sup>7,8,28,32-35</sup>

Recentemente, na literatura, surgiam de forma paulatina relatos clínicos, não controlados, de instituição de terapêuticas alternativas aos antihistamínicos H1 em formas resistentes, mas não perfeitamente caracterizadas laboratorialmente.<sup>1,36</sup> Da análise dos diferentes trabalhos, ainda que não abordando esta temática, foi patente a tentativa de instituição e prescrição de fármacos alternativos no controlo de formas severas de urticária e/ou angioedema, vasculites leucocitoclásticas ou vasculites cutâneas pruriginosas (pseudourticariana ou urticariformes).

Assim, o reconhecimento em doentes com formas severas de urticária crónica idiopática de um auto-anticorpo-IgG para o receptor de alta afinidade de IgE (FcεRIα) presente no mastócito dérmico, descrito em 1993 por Malcon W Greaves, resultou na instituição de novas abordagens terapêuticas.<sup>37-39</sup> A utilização de plasmaferese como tentativa de redução desta IgG anti-FcεRI, além do elevado custo de hospitalização, revelou-se eficaz no controlo sintomatológico, mas com efeito transitório e fugaz.<sup>40</sup>

Numa série de 4 doentes, resistentes aos antihistamínicos H1 e com necessidades diárias ou muito frequentes de corticosteróides sistémicos para controlo sintomático, a prescrição de estanzolol foi eficaz num grupo de 4 doentes<sup>41</sup>. Outra estratégia consistiu no recurso à administração de imunoglobulinas intravenosas, com os

resultados muito díspares e acarretando elevados custos terapêuticos.<sup>42</sup> Também a ciclosporina A em baixas doses, ainda que bem tolerada, apresentou um marcado efeito "rebound", após a suspensão.<sup>43</sup>

Em relação às formas cutâneas de vasculite leucocitoclástica hipocomplementémica pseudourticariana, associada na maioria dos casos a conectivopatias, a corticoterapia sistémica é a terapêutica de eleição.<sup>2,44,45</sup> As doses requeridas são elevadas até ser obtida a remissão sintomatológica, mas muitos doentes apresentam recorrência após o *terminus* de longos períodos de tratamento e outros, ainda, não descrevem melhoria.<sup>1,4</sup> Desta forma, foram sendo ensaiados, sucessivamente, outros fármacos, a maioria dos quais provavelmente em tentativas de recurso.

A colchicina, com um marcado efeito inibidor do neutrófilo, possibilitou o controlo clínico em várias séries de doentes estudados.<sup>32,46,47</sup> A associação de dapsona, particularmente em doentes com lupus sistémico, parece constituir uma boa opção na remissão das queixas cutâneas.<sup>44,48</sup> Outros autores associaram quer hidroxicloroquina, com resultados favoráveis em alguns doentes, quer imunossuppressores, em formas graves corticodependentes ou corticorresistentes (metotrexato, azatioprina ou ciclofosfamida) quer terapêuticas empíricas com indometacina, pressupondo ser relevante a inibição enzimática da ciclooxigenase sintetase no processo fisiopatológico dessa vasculite.<sup>34,44,49,50</sup>

Como anteriormente descrito, os doentes com vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica são resistentes aos esquemas clássicos com antihistamínicos H1, não sendo consensual ou sistematizado um esquema farmacológico adequado. Torna-se, pois, urgente e aliciante a procura de uma resposta clínico-terapêutica eficaz.

Face às múltiplas alternativas terapêuticas nas manifestações cutâneas de urticária crónica, vasculite urticariana e formas de pseudourticária (com fenómenos de vasculite leucocitoclástica) pretendemos, neste trabalho, avaliar comparativamente a eficácia de 4 fármacos na vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica. Os critérios de escolha assentaram, basicamente, no prévio conhecimento da população celular do infiltrado, tentando adequar tanto quanto possível a selectividade de mecanismos de acção farmacológica.<sup>28</sup> Assim, seleccionamos a cetirizina, a metilprednisolona, a dapsona e a sulfasalazina.

A cetirizina representa um antihistamínico H1 não sedativo pela relativa insolubilidade lipídica, resultante da modificação química da molécula original, a hidroxizina.<sup>1,16,51-53</sup> Constitui um fármaco de referência na terapêutica da urticária e outras dermatoses pruriginosas pela potência farmacológica efectiva, pelo rápido início de acção e pela eventual actividade antialérgica na inibição do influxo de eosinófilos por redução da expressão

endotelial de ICAM-1 e VCAM-1.<sup>54,55</sup> Desta forma, o potente antagonismo com a histamina, responsável pelo prurido e iniciadora do arco reflexo subjacente ao eritema e pápula, e as implicações no tráfico celular, por regulação das moléculas de adesão, constituíram factores consentâneos com esta opção terapêutica nos nossos doentes. O prévio conhecimento de uma significativa população linfocitária não específica para CD45RO<sup>+</sup> representou um argumento adicional.<sup>28</sup> Efectivamente, a cetirizina, ao inibir a fase inicial do fluxo linfocitário aos tecidos, resultante da selectividade de linfócitos "naïve", CD45RA<sup>+</sup>, e células NK às moléculas endoteliais VCAM-1, poderá, eventualmente, constituir um mecanismo bloqueador da posterior ligação tecidual ao contrarceptor VLA-4, do grupo das integrinas.<sup>55,56</sup>

Neste estudo, a selecção da metilprednisolona assentou, basicamente, na própria imagem histológica da vasculite linfocitária, ainda que as determinações das fracções séricas do complemento fossem normais e inexistentes alterações sistémicas ou do exame físico. Este corticosteróide, com potente actividade anti-inflamatória e baixa retenção salina, por isso mesmo adequado a terapêuticas relativamente prolongadas, apresenta um potente efeito inibitório na célula T, mais evidente na célula CD4<sup>+</sup>.<sup>57-59</sup> Porém, ainda que em estudo anterior não fosse efectuada esta marcação fenotípica, o diferencial de linfócitos não CD45RO<sup>+</sup> permite inferir da presença quer de células T "naïve" quer de células NK, ambas negativamente influenciadas por estes fármacos nas funções secretora, moduladora e efectora específica.<sup>28,57</sup> Em relação ao tráfico celular, se os estudos *in vitro* não provam, isoladamente, a inibição da expressão de ICAM-1 ou VCAM-1, *in vivo*, a eventual redução dos estímulos activadores endoteliais (IL-1, IL-4 e TNF- $\alpha$ ) poderá constituir factor fundamental na contenção linfocitária presente na derme destes doentes.<sup>56,57</sup>

Em relação à dapsona, instituída nos doentes deste estudo, a fundamentação farmacológica deveu-se ao efeito imunossupressor no linfócito T, com inibição da proliferação induzida *in vitro* pela fitohemaglutinina e à inibição da desgranulação mastocitária.<sup>60-63</sup> Porém, o efeito inibitório mais importante parece exercer-se no neutrófilo, nomeadamente no efeito redutor da síntese e libertação de enzimas lisossomais e hidrolíticas, bem como na regulação negativa da própria maturação celular por supressão da quimiocina macrofágica, IL-8, necessária quer à viabilidade celular quer ao quimiotactismo e diapedese tecidual.<sup>60,61</sup> Estes mecanismos são de algum modo justificativos da eficácia desta sulfona em doentes portadores de outras formas de vasculite cutânea, com potente infiltração neutrofílica, fenómenos de leucocitoclasia e quadros clínicos pseudourticarianos, habitualmente descritos em doentes com quadros clínicos evolutivos de conectivopatias, com marcadas reduções das fracções

circulantes do complemento sérico.<sup>4,48</sup> Neste contexto, a nossa expectativa inicial, nestes doentes com vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica, no que concerne à eficácia deste fármaco foi, desde início, moderada, pelo que foi incluído um grupo diminuto.

A sulfassalazina, desenvolvida na década de 30 para tratamento da "poliartrite reumática", entendida até então como patologia de etiologia infecciosa, rapidamente assumiu um lugar charneira na terapêutica da doença inflamatória crónica intestinal.<sup>64,65</sup> A ampla aplicação farmacológica na artrite reumatóide e na colite ulcerosa tem permitido uma aquisição progressiva no conhecimento da farmacodinâmica, margem de segurança, indicações, secundarismos farmacológicos e mecanismos de acção.<sup>66,67</sup>

Para além da actividade anti-inflamatória dependente da *clearance* de radicais livres de oxigénio e da intervenção no metabolismo do ácido araquidónico dos fosfolípidos de membrana, com inibição dupla da ciclo e da lipooxigenase, são reconhecidas múltiplas implicações celulares.<sup>65,66</sup> A quimioluminescência, a actividade mieloperoxidase e a libertação lisossómica do neutrófilo são significativamente reduzidas, mas quer a activação plaquetar quer o quimiotactismo e a capacidade fagocítica dos mononucleares são, da mesma forma, negativamente influenciados.<sup>65</sup> Outras células envolvidas no mecanismo de acção são o linfócito e o mastócito. Este último apresenta, *in vitro*, uma maior resistência à desgranulação induzida e é menor a concentração de histamina libertada.<sup>68,69</sup> Em relação ao linfócito, a célula B sofre inibição da anticorpopoiese, demonstrada pela resposta ao *pokeweed*, e a célula T uma redução da proliferação à fitohemaglutinina e da activação subsequente, nomeadamente na síntese citocínica, ainda que sem interferência nas contagens celulares totais.<sup>65,66,70-72</sup>

A publicação de Adrian Jaffer, em 1991, representou, efectivamente, uma enorme surpresa e um estímulo à reflexão das novas-velhas potencialidades farmacológicas da sulfassalazina.<sup>73</sup> Em 2 dos 3 doentes, sumariamente apresentados com formas severas e corticodependentes, sem referência a histologia de biópsia cutânea, foi negada a presença de vasculite. Em todos eles foram descritos valores normais do complemento sérico, mas o controlo clínico-terapêutico careceu de uma explicação consistente. Neste contexto, presumimos pela presença eventual de um processo de vasculite linfocitária e estabelecemos um programa de estudo prospectivo no âmbito da terapêutica desta patologia.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Doentes

Foram seleccionados, aleatoriamente, da consulta de urticária e alergia cutânea, da Unidade de Imuno-

-Alergologia, 51 doentes, de ambos os sexos, com o diagnóstico de vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica. Nesta série, 33 do sexo feminino e 18 do sexo masculino, a duração média dos sintomas foi de 22±27 meses. A média de idades nesta amostra foi de 36,8±14,5 anos, sem diferença estatística entre os sexos (F= 36,2±10,4 anos e M= 37,9±20,4 anos; p=0,72).

Todos os doentes cumpriam, em simultâneo, os critérios clínicos e histológicos consentâneos com este diagnóstico.

### Critérios clínicos:

- Lesões eritemato-papulosas pruriginosas recorrentes.
- Duração de cada lesão inferior a 24 horas.
- Desaparecimento à digito-pressão.
- Duração clínica superior a 8 semanas.
- Ausência de lesão residual.
- Deficiente *compliance* à terapêutica anti-histamínica sistémica.

### Critérios histológicos:

- Lesões localizadas à derme papilar.
- Presença de necrose da parede vascular.
- Infiltração linfocitária da parede vascular.
- Hemorragia perivascular
- Presença de infiltrado celular, linfocitário, perivascular.

A totalidade dos doentes descrevia quadro clínico indistinguível dos restantes indivíduos observados em consulta com o diagnóstico de urticária crónica não vasculítica. Porém, a resposta terapêutica aos anti-histamínicos sistémicos foi, sistematicamente, considerada parcial ou ineficaz e não foram reconhecidos desencadeantes clínicos. Para a caracterização nosológica procedeu-se a exame clínico exaustivo, de modo a excluir patologia sistémica concomitante. Da mesma forma, estes doentes foram submetidos a estudo laboratorial alargado e dirigido aos mecanismos fisiopatológicos condicionantes mais frequentes na urticária:

- Fórmula leucocitária e hemograma.
- Bioquímica sanguínea (glicémia, ionograma, exame da função renal e da função hepática).
- Imunoglobulinas séricas IgG, IgA, IgM (nefelometria) e IgE (CAP-system).
- Estudo do complemento: C3 e C4 (nefelometria) e actividade hemolítica total (CH100).
- Autoanticorpos em imunofluorescência em células HEp2.
- Estudo da função tiroideia: T3, T4 e TSH (RIA); anticorpos anti-TMS e anti-HTG (RIA).
- Testes cutâneos de alergia por *Prick* a aeroalergénos comuns.

Nos 51 doentes seleccionados, as determinações de C3, C4 e CH100 apresentavam valores reportados aos limites de referência técnica. Em relação às concentrações de IgE total obteve-se um valor médio de  $135 \pm 98 \text{ KU/L}$  [ $< 70 \text{ KU/L}$ ] sendo negativos os testes cutâneos por *prick*. Os restantes parâmetros analíticos não apresentaram alterações.

## METODOLOGIA

Na sequência da caracterização clínica, laboratorial e enquadramento diagnóstico foram consideradas 4 estratégias terapêuticas com os seguintes fármacos: sulfassalazina, metilprednisolona, dapsona e cetirizina. O período de estudo previamente definido foi de 12 semanas excepto nos doentes submetidos a sulfassalazina, o qual se estendeu por um período de 16 semanas. O decurso desta avaliação clínica ocorreu em períodos distintos, razão porque, face ao desconhecimento da eficácia desta última terapêutica, se ponderou e se decidiu por este prolongamento.

De forma independente do sexo, idade ou da duração das lesões, foram estudados os seguintes grupos:

Grupo I: 15 doentes submetidos a sulfassalazina na dose de 1500mg diários, divididos em três tomas.

Grupo II: 21 doentes submetidos a metilprednisolona na dose média de 16mg diários nas primeiras 6 semanas e uma dose média de 8mg diários nas restantes 6 semanas.

Grupo III: 9 doentes submetidos a dapsona na dose de 100mg diários, em toma única matinal.

Grupo IV: 6 doentes submetidos a cetirizina na dose de 15mg diários, divididos em duas tomas (10 + 5mg).

Todos os doentes foram submetidos a vigilância clínica periódica, cada 15 dias, com monitorização dos sintomas, exame físico, *compliance* terapêutica e avaliação laboratorial de hemograma, fórmula leucocitária, bioquímica sanguínea (glicémia, ionograma, exame da função renal e da função hepática).

A biópsia cutânea foi realizada sob anestesia local com lidocaína a 2%, utilizando um *skin punch biopsy* (Stiefel Lab SRL, Italy) de 8mm de diâmetro, obtendo-se, posteriormente, 2 fragmentos: um sujeito a fixação por formol a 2% e outro submetido a ultracongelamento a  $-70^\circ\text{C}$  (fragmento de reserva). Na amostra fixada procedeu-se à manipulação e coloração com hematoxilina-eosina, segundo as técnicas comuns, seguida de observação em microscopia óptica (Zeiss) em ampliação de 200 vezes. Estes procedimentos foram realizados em todos os doentes do Grupo I (sulfassalazina) às 0, 8 e 16 semanas, no Grupo II (metilprednisolona) às 0, 6 e 12 semanas, e nos Grupos III e IV (respectivamente dapsona e cetirizina) às 0 e 12 semanas.

Num mesmo tempo, mas numa fase subsequente, procedeu-se, aleatoriamente, à selecção de uma subamostra, constituída pelo estudo dos fragmentos parafinados de histologia cutânea de biópsia de 9 doentes submetidos a sulfassalazina, 5 doentes com metilprednisolona, 4 doentes com cetirizina e 3 doentes com dapsona. Nestas amostras, nas 3 fases do estudo (inicial, intercalar e final) dos Grupos I e II e nas 2 fases do estudo (inicial e final), nos Grupos III e IV, foram desenvolvidos estudos de imunocitoquímica.

A partir do fragmento parafinado foram realizados cortes finos para posterior marcação celular de linfócitos e polimorfonucleares, com recurso a anticorpos monoclonais com afinidade específica para o receptor CD45RO e CD15 e policlonais específicos CD3, do Laboratório Dako A/S Denmark, respectivamente M-742 (clone UCHL-1), M-733 (clone C3D-1) e A452.

A tipagem celular foi efectuada pelo método de Avidina-Biotina-HRP que consiste em 74:

- 1 - Desparafinação e hidratação
- 2 - Digestão enzimática (só para CD3) com protease a 0,1%: 10 minutos
- 3 - Lavagem em PBS
- 4 - Incubação em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% em água destilada: 15 minutos
- 5 - Lavagem em PBS
- 6 - Bloqueio das ligações não específicas com soro de porco normal: 20 minutos
- 7 - Aplicação do anticorpo: 30 minutos.  
CD3 (DAKO A-452) 1/100 em PBS  
CD45RO (DAKO M742) 1/70 em PBS  
CD15 (DAKO M733) 1/70 em PBS
- 8 - Lavagem em PBS
- 9 - Incubação em soro de porco anti-cabra, coelho, ratinho biotilado (DAKO E453) 1/120 em PBS: 30 minutos
- 10 - Lavagem em PBS
- 11 - Incubação com Avidina/HRP (DAKO P 364) 1/400: 30 minutos
- 12 - Lavagem em PBS
- 13 - Incubação com solução de substracto cromogénico DAB-3mg/5ml de PBS+100µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 10 minutos
- 14 - Lavagem com água destilada
- 15 - Contrastação com Hematoxilina de Meyer: 10 minutos
- 16 - Lavagem em água corrente, deixando azular
- 17 - Desidratação e montagem em meio sintético
- 18 - Marcação a castanho das ligações específicas.

O controlo de qualidade da marcação linfocitária foi efectuada em cortes de amígdala para as ligações CD3 e CD45RO e em medula óssea para CD15.

A leitura das lâminas foi efectuada em microscopia óptica (Zeiss), com ampliação de 400 vezes, com contagem dos linfócitos e polimorfonucleares cutâneos, em 3 campos consecutivos da direita para a esquerda, sob monitor de TV, sempre com os mesmos dois observadores em simultâneo. O resultado final foi expresso em número absoluto por lâmina, por marcador e em valor percentual para cada marcador e em cada doente.

O estudo estatístico foi realizada em Statview graphics, com análise e determinação da média aritmética, desvio padrão e aplicação de *t-teste* para variáveis não emparelhadas e análise das variâncias por ANOVA.

## RESULTADOS

Durante o período de estudo, nos 4 grupos submetidos aos esquemas terapêuticos descritos, não foram observados secundarismos farmacológicos significativos ou alterações dos parâmetros laboratoriais em análise: hemograma, fórmula leucocitária, bioquímica sanguínea (glicémia, ionograma, exame da função renal e da função hepática).

Em relação à evolução clínica destes doentes, em resposta aos diferentes grupos terapêuticos em estudo, observou-se o seguinte:

- **Grupo I:** sulfassalazina, 15 doentes.
  - 12 doentes assintomáticos após 2 semanas do início da terapêutica.
  - 2 doentes assintomáticos após 3 semanas do início da terapêutica.
  - 1 doente com controlo clínico parcial durante todo o período terapêutico.
  - 1 doente com reinício dos sintomas, após 15 dias do *terminus* do período terapêutico, descrevendo, anteriormente, uma excelente resposta clínica.
- **Grupo II:** metilprednisolona, 21 doentes
  - 5 doentes assintomáticos após 1 semana do início da terapêutica.
  - 11 doentes com controlo clínico parcial durante todo o período terapêutico.
  - 5 doentes sem resposta terapêutica durante todo o período de estudo.
  - 12 doentes com retorno ao perfil clínico anterior ao início do período terapêutico.
- **Grupo III:** dapsona, 9 doentes
  - 6 doentes com controlo clínico parcial durante todo o período terapêutico.
  - 2 doentes com retorno ao perfil clínico anterior ao início do período terapêutico.
- **Grupo IV:** cetirizina, 6 doentes
  - 1 doente assintomático após 3 semanas do início da terapêutica.

- 4 doentes com controlo clínico parcial durante todo o período terapêutico.
- 1 doente sem resposta terapêutica durante todo o período terapêutico.

Em relação ao estudo histológico de biópsia cutânea, com coloração por hematoxilina-eosina, observou-se, no decurso do estudo, a evolução expressa na Fig-2.

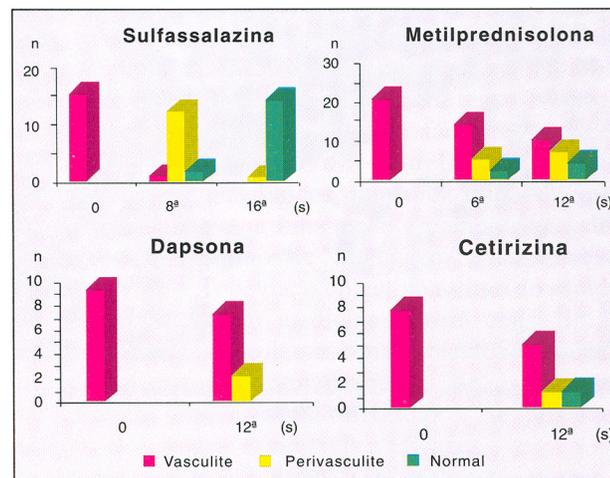


Fig. 2: Evolução da histologia de biópsia cutânea por hematoxilina-eosina nos 4 grupos de doentes

De facto, dos 15 doentes submetidos a sulfassalazina com vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica observou-se uma resolução histológica total em 14 indivíduos. Na biópsia intercalar, realizada à 8.ª semana, somente um doente persistia com fenómenos de vasculite linfocitária, tendo ocorrido um *switch* de lesão da parede vascular para infiltrado perivascular em 12 dos 15 doentes. Nesta fase, 2 indivíduos apresentavam um estudo histológico compatível com histologia normal.

Nos 21 doentes do Grupo II, medicados com metilprednisolona, no *terminus* da 12.ª semana, 10 mantinham lesões de vasculite linfocitária mas 4 apresentavam histologias normais, 2 dos quais já observadas no estudo realizado à 6.ª semana de tratamento.

A terapêutica com dapsona, Grupo III, não condicionou modificações histológicas significativas, pois que 7 dos 9 doentes mantinham lesões de vasculite após 12 semanas de tratamento. Da mesma forma, nos doentes com cetirizina, Grupo IV, ainda que 1 doente revertesse para uma histologia normal, 2/3 dos doentes mantinham vasculite linfocitária no final do período terapêutico.

Em relação aos estudos de imunocitoquímica, realizados respectivamente em 9:15 doentes do Grupo I (sulfassalazina), 4:21 doentes do Grupo II

(metilprednisolona), 3:9 doentes do Grupo III (dapsona) e 4:6 doentes do Grupo IV (cetirizina), nas diferentes fases do estudo, para a marcação celular de polimorfonucleares por CD15, somente em 1 doente na biópsia inicial, posteriormente submetido a sulfassalazina, foi possível demonstrar a presença de eosinófilos Fig-3.

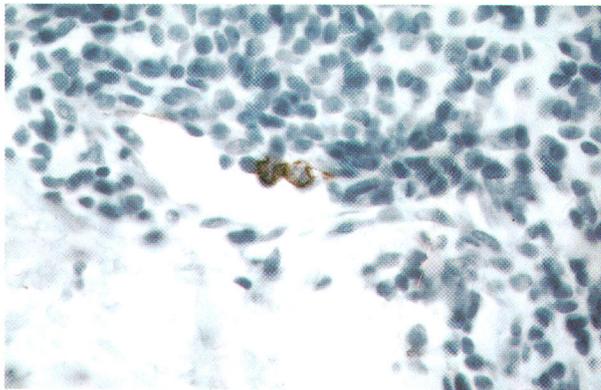


Fig. 3: Eosinófilo, com marcação celular positiva para o anticorpo anti-CD15\*

O número médio de linfócitos por doente foi obtido, em cada uma das fases de estudo, a partir do número total de linfócitos presentes nas 3 lâminas (para cada marcação fenotípica). A análise dos resultados permite observar uma redução significativa e progressiva nos doentes do Grupo I (sulfassalazina), com significância estatística, ( $p=0.0001$ ), aplicando o ANOVA-test. Nos restantes grupos, após terapêutica, somente nos indivíduos submetidos a cetirizina o número médio final de linfócitos foi inferior, mas sem significância estatística, Fig-4.

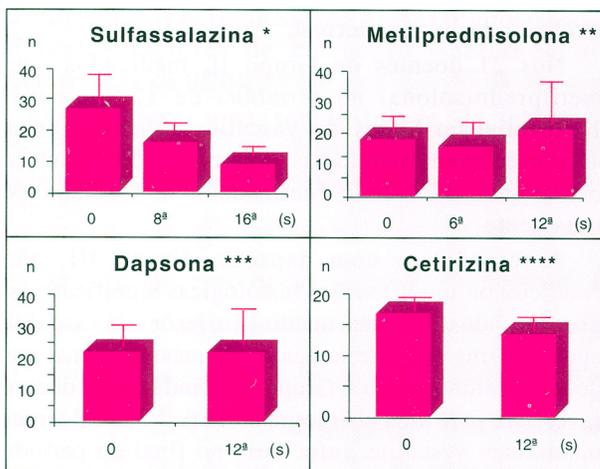


Fig. 4: Número médio de linfócitos presentes nas 3 lâminas (estudo de imunocitoquímica) por doente nos 4 grupos de estudo, no decurso das diferentes fases.  
 (\*  $p=0,0001$ ; \*\* $p=0,704$ ; \*\*\* $p=0,966$ ; \*\*\*\* $p=0,408$ )

A análise das marcações CD3 e CD45RO, em valor absoluto e percentual em relação ao número total de mononucleares presentes em cada lâmina e, nas diferentes fases do estudo, apresentou diferenças em relação aos diferentes grupos.

Nos indivíduos do Grupo I, sulfassalazina, observou-se uma redução do número absoluto de CD3+, de forma progressiva e com significância estatística, porém sem diferença quando considerado o valor percentual médio por doente e por lâmina, Fig-5. Da mesma forma, o número absoluto de CD45RO+ reduziu progressivamente, nas 3 fases de estudo, e assistiu-se a uma elevação percentual da marcação positiva, em relação ao número total de mononucleares linfócitos, Fig-5.

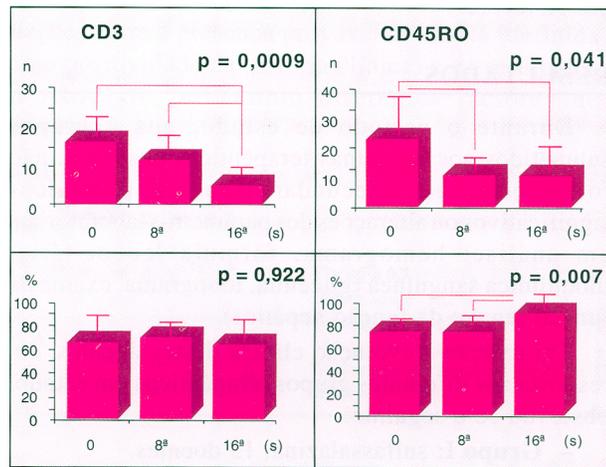


Fig. 5: Tipagem celular na biópsia cutânea com anticorpos anti-CD3 e anti-CD45RO nos doentes do Grupo I (sulfassalazina), nas diferentes fases de estudo: inicial, 8ª semana e 16ª semana.

No Grupo II, metilprednisolona, a redução do número absoluto e percentual de linfócitos T, CD3+, não apresentou diferenças estatisticamente significativas nas 3 fases de estudo. Para os linfócitos com fenótipo de memória, CD45RO+, o valor percentual foi semelhante, Fig-6.

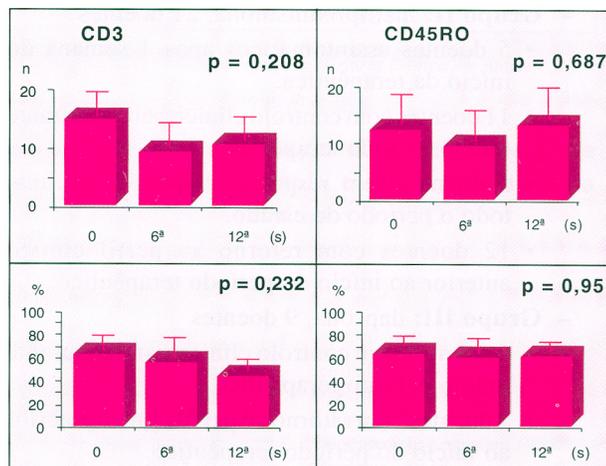
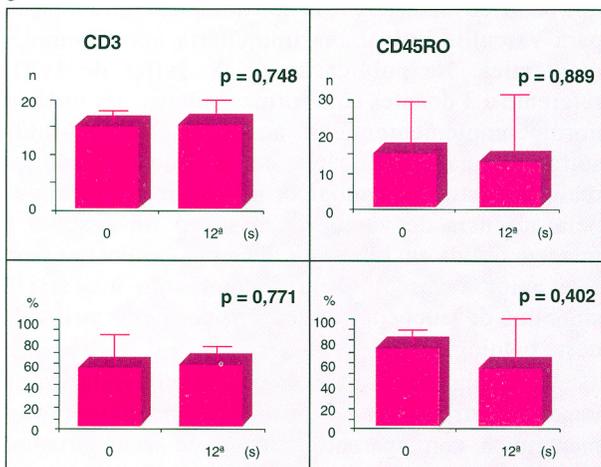


Fig. 6: Tipagem celular na biópsia cutânea com anticorpos anti-CD3 e anti-CD45RO nos doentes do Grupo II (metilprednisolona), nas diferentes fases de estudo: inicial, 6ª semana e 12ª semana.

Nos doentes do Grupo III, dapsona, assistiu-se, mesmo, a uma elevação do número total de células CD3<sup>+</sup> e a uma redução do valor percentual de linfócitos CD45RO, Fig-7.

1  
2  
3



1  
2  
3

Fig. 7: Tipagem celular na biópsia cutânea com anticorpos anti-CD3 e anti-CD45RO nos doentes do Grupo III (dapsona), nas duas fases de estudo: inicial e 12.ª semana.

Nos doentes submetidos a cetirizina, Grupo IV, ainda que se tenha observado uma redução do número total de linfócitos CD3<sup>+</sup> e uma elevação do valor percentual de CD45RO<sup>+</sup>, esses resultados não apresentaram significância estatística, embora o número de doentes estudados tenha sido muito reduzido, Fig-8.

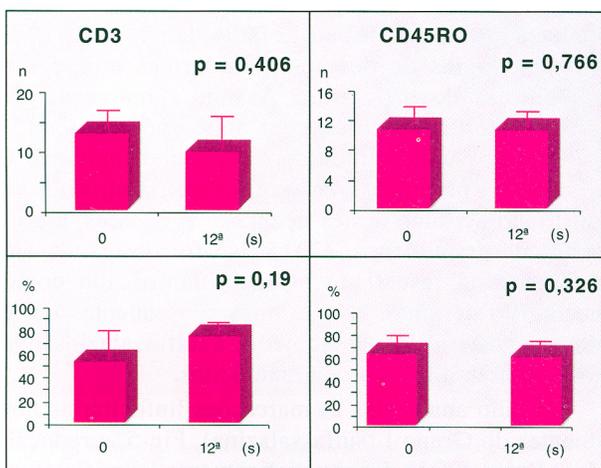


Fig. 8: Tipagem celular na biópsia cutânea com anticorpos anti-CD3 e anti-CD45RO nos doentes do Grupo IV (cetirizina), nas duas fases de estudo: inicial e 12.ª semana.

## DISCUSSÃO

Este estudo assenta, basicamente, na aplicação clínico-terapêutica de um programa protocolado, desde há alguns anos em execução, no âmbito da investigação clínico-laboratorial da pele como órgão relevante em Alergologia e Imunologia Clínica, quer pela diversidade de patologias intrínsecas quer, ainda, porque é muitas vezes espelho de distúrbios sistémicos ou específicos de órgão.

O reconhecimento, desde 1986, da pele como o mais extenso sistema imune (organizado nas diferentes vertentes celulares e de todo o conjunto de mediadores, co-sinais e estímulos possibilitadores de resposta imune completa e de memória) e o seu fácil acesso, tem permitido a execução de modelos de estudo experimentais e/ou clínicos com uma importância e relevância ímpares na integração e compreensão dos complexos mecanismos de "linguagem" e interrelação celular.<sup>11,12,75-78</sup> Todavia, o objectivo último do estudo da fisiopatologia em medicina deverá consistir na aplicação da aquisição desses conhecimentos ao doente, nomeadamente no enquadramento de estratégias terapêuticas concertadas, dirigidas e se possível selectivas, seguras, exequíveis e eficazes.

Neste contexto, a prévia caracterização clínica e tipagem, sumária, da população celular envolvida na vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica, a prevalência significativa e a efectiva insatisfação na proposta terapêutica, até então instituída nestes doentes, constituíram o vector major na procura de metodologias dirigidas ao controlo clínico e sintomático.

Como anteriormente reafirmamos, as lesões cutâneas de eritema papuloso, circunscrito, pruriginoso, recorrente, com regressão à digito pressão e com duração de cada lesão inferior a 24 horas, são, clinicamente, indistinguíveis das observadas em doentes com formas crónicas de urticária idiopática. Por conseguinte, o diagnóstico surge, na primeira abordagem, exclusivamente por presunção face à significativa incidência, uma vez que se torna imperioso um estudo histológico e avaliação clínica e laboratorial abrangente. Assim, atendendo a estas premissas, são excluídos quase todos os falsos diagnósticos de urticária, os quais, esses sim, se acompanham de activação e hipocomplementémia, cursam, habitualmente, com fenómenos de vasculite leucocitoclásica, dependentes quase sempre de patologia sistémica auto-imune.<sup>1,2,8,44,45</sup>

Este espectro multicelular abrangente e os resultados iniciais de Jaffer foram indiscutivelmente decisivos na concepção protocolada do presente estudo, numa entidade nosológica com características clínicas, laboratoriais e histológicas muito particulares, ainda não completamente bem caracterizada, mas para a qual não existia, em absoluto, uma resposta clínico-terapêutica adequada, segura e eficaz.

Nos 15 doentes do grupo I (sulfassalazina) a resposta clínica à terapêutica foi excelente e com uma rápida regressão sintomatológica. Este efeito foi observado e mantido em 13 doentes nos 6 meses posteriores ao *terminus* do período de tratamento. Nas doses instituídas, como de alguma forma era previsível, não foram observados secundarismos farmacológicos ou alterações nos parâmetros laboratoriais estudados.<sup>66</sup> Em relação aos doentes do Grupo II, submetidos a metilprednisolona sistémica, a resposta clínica foi manifestamente insuficiente, pois que apenas 5 dos 21 doentes obtiveram remissão sintomatológica. Dos restantes 76,2%, 11 doentes, ainda que persistissem lesões cutâneas durante o período de estudo, estas foram de menor intensidade e gravidade. Porém, quando comparados os Grupos I e II é notório um aparente efeito "*rebound*" post terapêutico, com 12:21 doentes do Grupo II e 1:15 doentes do Grupo I a descreverem um retorno ao perfil clínico inicial.

Em relação aos doentes do Grupo III e Grupo IV, submetidos respectivamente a dapsona e cetirizina, a resposta clínica foi muito limitada, ainda que mais favorável com este último.

A avaliação clínica dos doentes do Grupo I (sulfassalazina) no decurso do período de tratamento, comprovativa de uma eficaz adequação farmacológica era, ela própria, sugestiva de uma favorável evolução histológica. No controlo de biópsia realizado à 8.<sup>a</sup> semana em 12 doentes observava-se um infiltrado perivascular de linfócitos, em outros 2 uma histologia cutânea descrita como normal e somente em 1 doente persistiam imagens de vasculite urticariana linfocitária. No final do estudo 14 doentes apresentavam histologias consideradas normais e apenas em um existia um infiltrado linfocitário perivascular com densidade considerável, mas sem lesões ou infiltração da parede vascular.

Estes resultados, tal como a evolução clínica, contrastam com os observados nos doentes do Grupo II (metilprednisolona). Nestes, no estudo histológico intermédio, à 6.<sup>a</sup> semana, a presença de vasculite urticariana linfocitária persistia em 14, ainda que imagens de infiltrados perivascularares de linfócitos e histologias normais fossem observados, respectivamente em, 5 e 2 doentes. No estudo de biópsia realizado no *terminus* do período terapêutico, cerca de metade dos doentes (10:21) apresentavam lesões vasculíticas. Ainda que fosse previsível uma mais eficiente evolução histológica sob corticoterapia sistémica, a resposta clínica, manifestamente insuficiente, pressupunha a validação destes resultados.

Em relação aos doentes sob dapsona (Grupo III) e cetirizina (Grupo IV) a evolução histológica foi também ela concordante com a resposta clínica, persistindo, após a suspensão farmacológica, lesões de vasculite urticariana linfocitária na maioria dos indivíduos.

Na descrição clínica de R Engler em 1995, um doente com uma forma severa de urticária e angioedema

corticodependente, com modificação temporal das características clínicas das lesões, apresentava inicialmente um estudo histológico com edema da derme superior e infiltrado perivascular de linfócitos e eosinófilos.<sup>79</sup> A posterior instituição de sulfassalazina, cerca de um ano depois da avaliação inicial, resultou eficaz. Também, neste doente, fica por esclarecer se terá ocorrido modificação histopatológica com evolução para vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica. Na publicação de A. Jaffer de 1991, referente a 3 doentes com formas crónicas idiopáticas normocomplementémicas, nos quais foi instituída sulfassalazina com eficácia, em dois doentes não foi realizado estudo histológico; no restante concluiu-se pela ausência de vasculite, mas não foi descrita a imagem obtida em biópsia.<sup>73</sup> Fica por explicar se para este autor a vasculite em doentes com urticária é sinónimo de leucocitoclástica, erroneamente atribuída nesta patologia.

A eficácia clínica e histológica da sulfassalazina na vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica, com aparente ausência de secundarismos farmacológicos, interpelou-nos a respeito do seu mecanismo de acção e da eventualidade de permitir uma modulação celular. Assim, a caracterização celular nos fragmentos histológicos de reserva, nas diferentes fases do estudo, constituía a forma mais adequada e objectiva à interpretação fisiopatológica dos acontecimentos ocorridos sob o efeito das diferentes terapêuticas.

Os estudos de imunocitoquímica em tecido de histologia cutânea foram realizados, aleatoriamente, em 20 dos 51 doentes de todos os grupos em estudo e de forma independente da resposta clínica e da evolução da histologia em hematoxilina-eosina. Porém, como se referiu anteriormente, nesta entidade patológica a população celular era sumariamente conhecida, sendo o aumento absoluto de células mononucleares maioritariamente CD3<sup>+</sup>, ainda que o valor percentual de linfócitos T de memória se distanciasse do observado quer em histologias de pele de indivíduos normais quer em histologias de doentes com formas crónicas e idiopáticas de urticária.<sup>28</sup> Assim, a marcação de granulócitos em tecidos com anticorpo anti-CD15<sup>+</sup> pareceu-nos uma atitude correcta, tanto mais que é discutível a presença de eosinófilos e/ou neutrófilos no infiltrado dérmico destes doentes.<sup>2,15,21,22</sup> Mas, a presença de granulócitos, CD15<sup>+</sup>, só foi observada em 1 doente na fase 0 do estudo, identificado como eosinófilo dérmico. Nos exames subsequentes deste doente, posteriormente submetido a sulfassalazina, não foram observados outros granulócitos.

Quando analisadas as marcações linfocitárias nos doentes do Grupo I (sulfassalazina), Fig-5, a redução de células CD3<sup>+</sup> foi estatisticamente significativa. Porém, o valor percentual mantém-se inalterável. O número absoluto de linfócitos de memória CD45RO<sup>+</sup> sofre uma redução significativa, sendo evidente um

retorno percentual para valores considerados normais no final do período de estudo. Estes resultados comprovam a normalização histológica e a excelente resposta terapêutica, consubstanciada pela presença de CD45RO<sup>+</sup> em valores percentuais semelhantes aos observados em histologias de indivíduos normais, tal como se apresenta na evolução histológica de um doente do Grupo I, Fig-9.

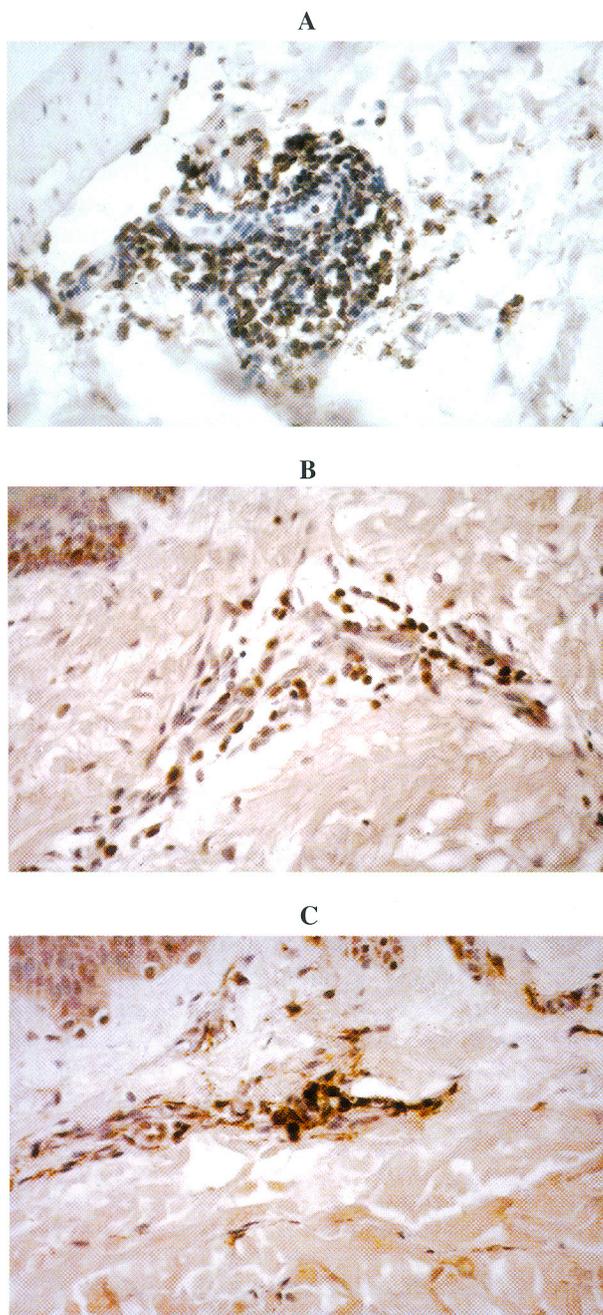


Fig. 9: Estudo sequencial de marcação com anticorpo monoclonal anti-CD45RO, num doente submetido a sulfassalazina  
A: Estudo inicial, imagem de vasculite linfocitária em hematoxilina-eosina (HE)  
B: Estudo às 8 semanas, imagem de infiltrado perivascular em HE  
C: Estudo às 16 semanas, histologia normal em HE

De facto, em condições normais, na unidade neuro-vascular-dérmica a presença de linfócitos *naïve* é esporádica ou ocasional e é pressuposta a existência de uma população específica de células T, a *cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)*, elas próprias de memória, mas com caracterização fenotípica mal definida.<sup>11</sup> Assim, a presença destas células ou a existência de uma população T com TCR- $\gamma\delta$  ou, ainda, a presença de outros linfócitos NK poderão justificar o diferencial numérico da marcação fenotípica e o número total de mononucleares linfócitos observados nestes doentes, em fase anterior à instituição terapêutica.

A discriminação das populações CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> não foi efectuada neste estudo e desconhecemos o predomínio absoluto ou relativo de cada uma delas. Mas, face à morfologia do infiltrado e à presença maioritária de células CD3<sup>+</sup>, admitimos a existência de citotoxicidade T, dependente de células NK para a maturação e diferenciação e, ela própria, exercendo uma regulação negativa na actividade NK.<sup>80</sup> Estes mecanismos constituem um argumento que fundamenta a necessidade de estudos adicionais nesta patologia, promovendo a identificação, o reconhecimento e participação eventual destas células no processo fisiopatológico.

Em relação aos linfócitos B, embora não testados neste trabalho, coexistem no infiltrado de doentes com esta patologia, ainda que em valores percentuais modestos, tal como verificamos em estudo anterior.<sup>28</sup>

Na vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica os valores séricos da IgE total são elevados, sem existirem, concomitantemente, estigmas de doença atópica ou positividade a aeroalergénios por IgE específicas (CAP ou por testes cutâneos por *Prick*).<sup>6,10,28</sup> Desconhece-se o significado ou a importância fisiopatológica deste acontecimento ou, ainda, se é admissível a presença de um auto-anticorpo anti-IgE como o identificado nos estudos de M. Hide.<sup>37,38</sup> Porém, a processar-se uma produção local de IgE por linfócitos B activados por um alergénio exógeno ou autólogo cuja repercussão possa, de alguma forma, ser relevante no processo fisiopatológico desta vasculite, a sulfassalazina poderá, eventualmente, inibir essa síntese. Esta interpretação resulta da efectiva redução da anticorpopoiese e da resposta proliferativa B à concavalina-A, observada em doentes com artrite reumatóide medicados com este fármaco.<sup>70</sup>

Para além do efeito modulador da população linfocitária T de memória nestes doentes submetidos a sulfassalazina, a eventual inibição da síntese de IgE por linfócitos B activados, a inibição da desgranulação mastocitária por mecanismo dependente desta imunoglobulina poderá constituir o acontecimento final subjacente ao efectivo controlo clínico.<sup>69</sup>

A corticoterapia partilhava *ab initio* uma expectativa que não veio, posteriormente, a demonstrar-se. Como grupo observou-se uma redução do número de células CD3<sup>+</sup>, mas globalmente, no final do estudo, não existiram diferenças nos valores médios percentuais da população T de memória (Fig-4 e Fig-6). De facto, a discreta redução a este nível resultou de um doente que apresentou um agravamento clínico marcado, acompanhado de um infiltrado linfocitário maciço na parede do vaso e em áreas adjacentes. Genericamente, nesta patologia esta estratégia terapêutica não demonstrou eficácia clínica nem efeito de modulação celular, resultante da reconhecida multiplicidade de mecanismos sequenciais na resposta imuno-inflamatória exercida a vários níveis.<sup>57-59</sup>

Nos doentes submetidos a dapsona e cetirizina, a inexistência de granulócitos nos infiltrados vasculares e perivasculares era, de alguma forma, predictiva da má resposta clínica, pois é conhecida a relativa selectividade celular, respectivamente na inibição de neutrófilos e eosinófilos.<sup>51,52,60,61</sup> Do mesmo modo, ainda que o número de doentes seleccionado tenha sido reduzido, a tipagem nos dois tempos de estudo não permitiu observar modificações celulares relevantes, consentâneas com a modulação linfocitária verificada sob efeito da sulfasalazina. Efectivamente, nos doentes do Grupo IV era previsível um marcado aumento da população CD45RO<sup>+</sup> no decurso da terapêutica, na sequência da inibição da expressão endotelial de VCAM-1.<sup>55</sup> Porém, a confirmar-se na pele esta regulação do tráfico celular não constituirá um vector suficiente na contenção do processo patogénico.

Quer na urticária crónica idiopática quer na vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica, a presença de lesões clínicas de eritema, pápula e prurido cutâneo traduzem a importância da histamina libertada pelo mastócito dérmico, mas a cetirizina, com uma potente actividade nos receptores H1 histaminérgicos, não representou uma estratégia terapêutica adequada, pelo que fica demonstrada a relevância dos mononucleares do infiltrado vascular e perivascular nos doentes do nosso estudo.

No contexto fisiopatológico da vasculite urticariana linfocitária, a importância do mastócito não deverá ser desprezível, não só porque este depende de factores de maturação linfocitários T como IL-3, IL-4, IL-9 e IL-10 (esta última também sintetizada por linfócitos B e queratinócitos), mas também porque é portador de equipamento enzimático capaz de uma polarização da população CD4<sup>+</sup> a TH2 e indução da síntese de IgE.<sup>17,81,82</sup>

Para além da importância na defesa às infestações parasitárias e mecanismos de hipersensibilidade imediata, a IgE apresenta um espectro mais vasto, com implicações multicelulares a diferentes níveis, mas com significância fisiopatológica mal definida em muitos distúrbios.<sup>83</sup> Questionamos, assim, qual o

significado e repercussão dos valores séricos elevados de IgE nos nossos doentes, para os quais se excluíram os principais condicionantes etiológicos!

Neste estudo a maioria dos doentes são do sexo feminino, não se distanciando, globalmente, da prevalência observada na urticária crónica.<sup>1,6</sup> Também, a idade e a duração dos sintomas não permitem diferenciar a vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica de outras formas não vasculíticas, pelo que uma avaliação alargada é mandatária. Porém, a eventual ineficácia da instituição terapêutica clássica de antihistamínicos H1 é predictiva deste diagnóstico. A divergência clínica e da população celular do infiltrado foi previamente definida e não pretendemos comparar a eficácia das terapêuticas farmacológicas em estudo, com formas crónicas de urticária idiopática.<sup>28</sup> Aliás, um dos agentes, a sulfasalazina, é francamente ineficaz nesses doentes com estudos histológicos não vasculíticos (resultados pessoais não publicados).

Este estudo constituiu um contributo na caracterização clínico-laboratorial, na definição da população celular dérmica e na proposta de um esquema terapêutico eficaz neste distúrbio, embora não esclarecendo em concreto o mecanismo fisiopatológico subjacente. Defendemos a autonomia *ab initio* desta entidade, mas reconhecemos a eventualidade de representar uma forma evolutiva bidireccional de urticária crónica não vasculítica.

Foi nosso propósito encontrar uma metodologia terapêutica adequada, segura, bem tolerada e se possível redutora do processo celular. Face ao conhecimento actual, a ciclosporina-A, a rapamicina ou o FK506 constituem os agentes com uma implicação mais selectiva no linfócito T, mas representam terapêuticas muito agressivas.<sup>84</sup> Os nossos resultados com sulfasalazina preencheram todos os requisitos: o controlo clínico, a facilidade da administração, a ausência de secundarismos farmacológicos, o baixo custo, a modulação histológica e, globalmente, a inexistência de efeito *rebound* pós-tratamento nos 6 meses posteriores. Necessitamos, todavia, de *follow up* mais prolongado para a validação desta metodologia em doentes com vasculite urticariana linfocitária normocomplementémica.

## BIBLIOGRAFIA

1. Charlesworth EN. The spectrum of urticaria. All that urticates may not be urticaria. In Urticaria. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. E.N. Charlesworth Ed. 1995; 15: 641-57.
2. Kaplan AP. Urticaria and Angioedema. In: Middleton E, Reed CE, Adkinson NF, et al (eds). *Allergy: Principles and Practice*. St. Louis, CV Mosby 4th Ed, 1993; 1553-80.

3. Soter NA. Acute and chronic urticaria and angioedema. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 146-54.
4. Huston DP, Bressler RB. Urticaria and Angioedema. *Med Clin North Am* 1992; 76(4): 805-40.
5. Quaranta JH, Rohr AS, Rachelefsky GS, et al. The natural history and response to therapy of chronic urticaria and angioedema. *Ann Allergy* 1989; 62:421-4.
6. Pereira AC, Faria E, Julião MJ, Silva MR, Teixeira Dias E, Pinto Mendes JA. Urticária crónica: rentabilidade do estudo clínico e laboratorial. *Rev Port Imunoalergol* 1993; 2: 61.
7. Phanuphak P, Kohler PF, Stanford RE, et al. Vasculitis in chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 65:436-44.
8. Mehregan DR, Hall MJ, Gibson LE. Urticarial Vasculitis: a histopathologic and clinical review of 72 cases. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26:441-8.
9. Cardoso PA, de Oliveira ZP, Alves VA, et al. Urticarial vasculitis. *Allergol-Immunopathol-Madr* 1990; 18:191-5.
10. Pereira AC, Loureiro AC, Todo Bom A, Faria E, Pinto Mendes J, Chieira C, Robalo Cordeiro AJA. Asma e urticária em dissociação clínica. *Rev Port Imunoalergol* 1994; 2: 161-8.
11. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunology Today* 1993; 14: 75-8.
12. Charlesworth EN. The skin as a model to study the pathogenesis of IgE-mediated acute and late-phase responses. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 1240-50.
13. Holbrook KA, Pincus S, Parker F et al. Structure function, and immunology of the skin. In: Middleton E, Reed CE, Ellis FE, Adkinson NF, et al (eds). *Allergy: Principles and Practice*. St. Louis, CV Mosby, 1993; 390-427.
14. Palma-Carlos AG, Jordão AL. Immunopathology of urticaria. *Allergie et Immunologie* 1991; 23(10):443-6.
15. Bressler RB. Pathophysiology of chronic urticaria. *Immunology and Allergy Clinics of North America* 1995; 15: 659-77.
16. Monroe EW. The role of antihistamines in the treatment of chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 662-5.
17. Claveau J, Lavoie A, Brunet C, Bédard PM, Hébert J. Chronic idiopathic urticaria: possible contribution of histamine-releasing factor to pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 132-7.
18. David B. New insights into mast cell biology. In Proceedings I of the XVI Eur Cong of Allergology and Clin Immunol. Ed A Basomba and J Sastre. *Monduzzi Editore, Bologna Italy*. 1995; 49-54.
19. Wasserman SI. Mast cell biology. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 590-2.
20. Church MK, Okayama Y. Human mast cell surface membrane receptor expression and cytokine production. In Proceedings I of the XVI Eur Cong of Allergology and Clin Immunol. Ed A Basomba and J Sastre. *Monduzzi Editore, Bologna Italy*. 1995; 55-62.
21. Lever WF, Schamburg-Lever G. Histopathology of the skin. *Ed 75 Philadelphia, JB Lippincott*. 1990; 152-3.
22. Murphy GF. Angiocentric Dermatitis. In *Dermatopathology*. George F Murphy Ed. *WB Saunders Company Philadelphia USA*. 1995; 123-138.
23. Peters MS, Winkelmann RK. Neutrophilic urticaria. *Br J Dermatol* 1985; 113: 25-30.
24. Jones RR, Bhogal B, Dash A et al. Urticaria and vasculitis: a continuum of histological and immunopathological changes: *Br J Dermatol* 1983; 108: 695-703.
25. Monroe EW. Urticarial vasculitis: an updated review. *J Am Acad Dermatol*. 1981; 5: 88-95.
26. Natbony SF, Phillips M, Elias JM et al. Histologic studies of chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 71: 177-83.
27. Soter NA. Urticarial vasculitis. In *Urticarias*. Chmpion RH Greaves MW, Kobza-Black A et al Eds. *Churchill Livingstone, Edimburg*. 1985; 144-7.
28. Pereira AC, Todo Bom A, Julião MJ et al. Fenotipagem linfocitária na vasculite urticariana. *Rev Port Imunoalergol* 1995; 3: 77-83
29. Rosenstreich DL. Chronic urticaria, activated T cells, and mast cell releasability. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 1099-1102.
30. Barlow RJ, Ross EL, MacDonald DM, Black AK, Greaves MW. Mast cells and T Lymphocytes in chronic urticaria. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 317-22.
31. Elias J, Boss E, Kaplan AP. Studies of the cellular infiltrate of chronic idiopathic urticaria: prominence of T-lymphocytes, monocytes, and mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 914-8.
32. Asherson RA, Buchanan N, Kenwright S, et al. The normocomplementemic urticarial vasculitis syndrome: report of a case and response to colchicine. *Clin Exp Dermatol* 1991; 16: 424-7.
33. Hassan ML, Perez-Cejudo JA, del Pino EY, Schroh RG. Vasculitis urticaria: study of 12 cases. *Med Cutan Ibero Lat Am* 1990; 18:179-84.
34. Sanchez NP, Winkelmann RK, Schroeter AL, et al. The clinical and histopathologic spectrums of urticarial vasculitis: a study of forty cases. *J Am Acad Dermatol* 1982; 7: 599-605.
35. Epstein MM, Watsky KL, Lanzi RA. The role of diet in the treatment of a patient with urticaria and urticarial vasculitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 30: 414-5.
36. Lawrence ID. Traditional therapy in chronic urticaria. In Interest section symposia. *Am Acad of Allergy Asthma and Immunol, 52nd Annual Conference* 1996; 83-6.
37. Hide M, Francis DM, Grattan CEH, et al. The pathogenesis of chronic idiopathic urticaria: new evidence suggests an auto-immune basis and implications for treatment. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 624-7.
38. Hide M, Francis DM, Grattan CEH, et al. Auto antibodies against the high affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *New Eng J Med* 1993; 328: 1599-604.
39. Greaves MW, O'Donnell BF, Winkelmann RK. Chronic urticaria-evidence for autoimmunity. *ACI News* 1995; 7: 36-8, 64.
40. Grattan CEH, Francis DM, Slater NGP, Barlow RJ, Greaves MW. Plasmapheresis for severe unremitting chronic urticaria. *Lancet* 1992; 339: 1078-80.
41. Brestel EP, Thrush LB. The treatment of glucocorticosteroid-dependent chronic urticaria with stanozolol. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 265-9.
42. O'Donnell BF, Barlow RJ, Black AK, Greaves MW. Response of severe chronic urticaria to intravenous immunoglobulin (IVIG). *Br J Dermatol* 1994; 131: 23-4.
43. Barlow RJ, Black AK, Greaves MW. Treatment of severe chronic urticaria with cyclosporin A. *Eur J Dermatol* 1993; 3: 273-5.
44. Venzor J, Baer SC, Huston DP. Urticarial vasculitis. In *Urticaria*. Immunology and Allergy Clinics of North America. E.N. Charlesworth Ed. 1995; 15: 761-74.
45. Stafford CT. Urticaria as a sign of systemic disease. *Ann Allergy* 1990; 64: 264-70.
46. Werni RM, Schwartz TH, Gschnait F. Colchicine treatment of urticarial vasculitis. *Dermatologica* 1986; 172: 36-40.
47. Wiles JC, Hansen RC, Lynch PJ. Urticarial vasculitis treated with colchicine. *Arch Dermatol* 1985; 121: 802-5.
48. Fortson JS, Zone JJ, Hammond ME, et al. Hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome responsive to dapsone. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 1437-42.
49. Lopez LR, Davis KC, Kohler PF, et al. The hypocomplementemic urticarial-vasculitis syndrome: therapeutic response to hydroxychloroquine. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 600-3.

50. **Stack PS.** Methotrexato for urticarial vasculitis. *Ann Allergy* 1994; 72: 36-8.
51. **Broide D.** Clinical studies with cetirizine in allergic rhinitis and chronic urticaria. *Allergy* 1995; 50: 31-35.
52. **Andri L, Senna GE, Betteli C, Givanni S, Andri G.** A comparison of the efficacy of cetirizine and terfenadine. A double blind controlled study of chronic idiopathic urticaria. *Allergy* 1993; 48: 358-65.
53. **Kennard CD.** Evaluation and treatment of urticaria. In *Urticaria. Immunology and Allergy Clinics of North America. E.N. Charlesworth Ed.* 1995; 15: 785-801.
54. **Estelle F, Sussman GL, Simons KJ.** Effect of the H<sub>2</sub>-antagonist cimetidine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the H1-antagonists hydroxyzine and cetirizine in patients with chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 685-93.
55. **Bagnasco M, Canonica GW.** Influence of H1-receptor antagonists on adhesion molecules and cellular traffic. *Allergy* 1995; 50: 17-23.
56. **Picker LJ.** Regulation of tissue-selective T-lymphocyte homing receptors during the virgin to memory/effector cell transition in human secondary lymphoid tissues. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: s47-s54.
57. **Schleimer RP.** Glucocorticosteroides. Their mechanisms of action and use in allergic diseases. In: **Midleton E, Reed CE, Adkinson NF, et al (eds).** *Allergy: Principles and Practice. St. Louis, CV Mosby* 4th Ed, 1993; 893-925.
58. **Dickler HB, Albright FJ.** Immunossuppression in the treatment of disease. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 669-76.
59. **Detjen PF.** Corticosteroids in the treatment of allergic diseases. In: **Roy Patterson, Leslie C Grammer, Paul A Greenberger, C Raymond Zeiss (eds).** *Allergic Diseases, diagnosis and management. JB Lippincott Company, Philadelphia,* 4th Ed, 1993, 853-90.
60. **Dapsone Systemic.** *US Pharmacopeial Convention* 1991; 570-3.
61. **Sulfones. Dapsone.** *AHFS Drug Information* 1992; 445-9.
62. **Ghei SK, Sengupta U, Desikan KV.** In vitro effect of DDS on phytohaemagglutinin (PHA)-induced lymphocyte transformation. *Hansen Int* 1980; 5:112-8.
63. **Ruzicka T, Wasserman SI, Soter NA, Printz MP.** Inhibition of rat mast cell arachidonic acid cyclooxygenase by dapsone. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 72:365-70.
64. **Watkinson G.** Sulphasalazine: a review of 40 years' experience. *Drugs* 1986; 32: 1-11.
65. **Gaginella TS, Walsh RE.** Sulfasalazine. Multiplicity of action. *Digestive Dis and Sciences* 1992; 37: 801-12.
66. **Rains CP, Noble S, Faulds.** Sulfasalazine. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the treatment of rheumatoid arthritis. *Drugs* 1995; 50: 137-56.
67. **Cash JM, Klippel JH.** Second-line drug therapy for rheumatoid arthritis. *New Eng J Med* 1994; 330: 1368-75.
68. **Wolf EJ, Fox CC, Kagey-Sobotka A, Bayless TM, Lechtentstien LM.** Inhibition of histamine release from human mucosal mast cells by drugs used in the treatment of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1985; 88: 1631-5.
69. **Barret KE, Tashof TL, Metcalfe DD.** Inhibition of IgE-mediated mast cell desgranulation by sulphasalazine. *Eur J Pharmacol* 1985; 107: 279-81.
70. **Symmons DP, Salmon M, Farr M, et al.** Sulfasalazine treatment and lymphocyte function in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1988; 15: 575-9.
71. **Comer SS, Jasin HE.** In vitro immunomodulatory effects of sulfasalazine and its metabolites. *J Rheumatol* 1988; 15: 580-6.
72. **Samanta A, Webb C, Grindulis KA, et al.** Sulphasalazine therapy in rheumatoid arthritis: qualitative changes in lymphocytes and correlation with clinical response. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 259-63.
73. **Jaffer AM.** Sulfasalazine in the treatment of corticosteroid-dependent chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 964-5.
74. **Lathan GR, D'Ardenne AJ.** Routine Laboratory Methods. In: **Stansfeld Ag, D'Ardenne AJ (eds).** *Lymph Node Biopsy Interpretation. London, Longman Group* 1992; 469-81.
75. **Okayama Y, Church MK.** Comparison of the modulatory effect of ketotifen, sodium cromoglycate, procaterol and salbutamol in human skin, lung and tonsil mast cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 97: 216-25.
76. **Church MK, Skinner SP, Burrows LJ, Bewley AP.** Microdialysis in human skin. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 1027-9.
77. **Michel L, Dubertret.** La chambre cutanée: une fenêtre ouverte sur l'inflammation. *Médecine sciences* 1988; 4: 109-14.
78. **Luger TA, Schwarz T.** The role of cytokines and neuroendocrine hormones in cutaneous immunity and inflammation. *Allergy* 1995; 50: 292-302.
79. **Engler RJM, Squire E, Benson P.** Chronic sulfasalazine therapy in the treatment of delayed pressure urticaria and angioedema. *Ann of Allergy, Asthma Immunol* 1995; 74: 155-9.
80. **Kos FJ, Engleman EG.** Immune regulation: a critical link between NK cells and CTLs. *Immunology Today* 1996; 17: 174-6.
81. **Luger TA.** Cytokine regulation in the skin. Postgraduate course in allergological aspects of dermatology. *EAACI '94, Stockolm.* 1994; 26-34.
82. **Mecheri S, David B.** Mast cells as antigen presenting cells. In *Proceedings I of the XVI Eur Cong of Allergology and Clin Immunol.* Ed **A Basomba and J Sastre. Monduzzi Editore, Bologna Italy.** 1995; 79-86.
83. **Capron AR, Dessaint JP, Joseph M, Capron M.** The immunobiological functions of immunoglobulin E (IgE) and IgE receptors. In *Advances in Allergology and clinical Immunology.* **Ph Godard, J Bousquet, FB Michel Eds. The Parthenon Publishing Group, England.** 1992; 49-58.
84. **Michel G, Kemény L, Homey B, Ruzicka T.** FK506 in the treatment of inflammatory skin disease: promises and perspectives. *Immunology Today* 1996; 17: 106-8.