

JULIANA OLIVIERI GORDILHO

**Epidermólise bolhosa adquirida:
uma abordagem multidisciplinar com caracterização da
resposta imune através das subclasses de imunoglobulina G**

**São Paulo
2023**

JULIANA OLIVIERI GORDILHO

**Epidermólise bolhosa adquirida:
uma abordagem multidisciplinar com caracterização da
resposta imune através das subclasses de imunoglobulina G**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia
Orientadora: Profa. Dra. Valeria Aoki

**São Paulo
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Gordilho, Juliana Olivieri
Epidermólise bolhosa adquirida : uma abordagem
multidisciplinar com caracterização da resposta
imune através das subclasses de imunoglobulina G /
Juliana Olivieri Gordilho. -- São Paulo, 2023.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Dermatologia.
Orientadora: Valeria Aoki.

Descritores: 1.Epidermólise bolhosa adquirida
2.Autoimunidade 3.Pesquisa multidisciplinar
4.Ensaio de imunoabsorção enzimática
5.Imunoglobulina G 6.Rituximabe

USP/FM/DBD-518/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meus maiores alicerces. À minha mãe Helena, minha inspiração de vida, obrigada pelo apoio além do imaginável, e por preencher minha vida diariamente com tanto amor e cuidado. Ao meu pai Sérgio, por sempre acreditar em mim e ser meu maior incentivador na Medicina. À minha irmã Carolina, minha parceira, é impossível conceber minha existência sem a sua.

Às minhas queridas avós Lourdes e Lygia, exemplos de amor e fé que carrego comigo todos os dias. À toda minha amada família, tias, tios, primas e primos: obrigada por fazerem parte de mim.

À equipe de Doenças Bolhosas Autoimunes do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) pela oportunidade de ter desenvolvido este trabalho. Sou extremamente grata e honrada por ter compartilhado essa jornada com um grupo tão dedicado e especial. À Profa. Dra. Valeria Aoki, minha querida orientadora e mestra, obrigada por seu acolhimento e confiança. Seus ensinamentos e dedicação incansável à pesquisa me inspiram e foram essenciais para a realização deste trabalho e meu desenvolvimento profissional. À Profa. Dra. Claudia Santi, uma pessoa extraordinária que tive a sorte de ter como mentora. Sua paixão pela Dermatologia, cuidado com os pacientes e visão foram, além de fundamentais para concepção do projeto, fontes inesgotáveis de inspiração. À Profa. Dra. Celina Maruta, seu conhecimento e experiência foram pilares essenciais para a realização deste trabalho. Obrigada pelas palavras de incentivo e pela convivência ao longo desses anos. À Profa. Dra. Denise Miyamoto que, além de professora excepcional, também é uma querida amiga. Sua compreensão e apoio foram fundamentais nos momentos mais desafiadores.

Ao Departamento de Dermatologia do HCFMUSP, equipes de Enfermagem, Secretaria e do Laboratório de Imunopatologia, em especial à Alexandre, Ligia e Eliete, pela parceria e suporte em tantos momentos. Aos professores, pelos aprendizados valiosos.

Aos Departamentos de Oftalmologia, Otorrinolaringologia, Gastroenterologia e Ginecologia, em especial à Profa. Dra. Ruth Santo, Dr. Ali Mahmoud, Profa. Dra. Ana Luísa Werneck-Silva, Prof. Dr. Tomás Navarro-

Rodriguez e Profa. Dra. Lanar Aguiar. Suas contribuições foram fundamentais para a realização deste trabalho e, acima de tudo, para o cuidado integral dos pacientes, conferindo um impacto que transcende as páginas desta tese.

Aos meus amigos, essenciais em minha vida. À Gabriela Cravo, pela ajuda inestimável e olhar atento. Aos amigos da residência, em especial à Juliana Horbilon, com quem tive o prazer de iniciar este trabalho. À Igor Borges pelos ensinamentos em análise estatística. Aos meus irmãos de coração Henrique, Natália, Marcela e Renan, que seguraram minha mão nos momentos mais difíceis, sendo fundamentais para conclusão deste trabalho.

Aos pacientes, verdadeira inspiração por trás dessa jornada. Obrigada pela confiança e por me ensinar, em sua maior pureza, tanto sobre a vida.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de símbolos

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de quadros

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	2
2.1	Geral.....	2
2.2	Específicos	2
3	REVISÃO DA LITERATURA	3
3.1	Histórico e epidemiologia	3
3.2	Manifestações clínicas e classificação de gravidade.....	5
3.2.1	EBA clássica ou mecanobolhosa (MB)	5
3.2.2	EBA penfigoide bolhoso-símile	6
3.2.3	EBA penfigoide de membranas mucosas-símile.....	7
3.2.4	EBA dermatose bolhosa por IgA-símile	7
3.2.5	EBA penfigoide de Brusting-Perry-símile.....	7
3.2.6	Acometimento mucoso na EBA	8
3.2.7	Classificação de gravidade	10
3.3	Doenças associadas	10
3.4	Patogênese	11
3.5	Diagnóstico.....	13
3.5.1	Aspectos histopatológicos	14
3.5.2	Aspectos imunológicos	14
3.5.2.1	Autoanticorpos <i>in situ</i>	14
3.5.2.2	Autoanticorpos circulantes	16
3.5.3	Fluxograma para diagnóstico.....	18
3.6	Tratamento	20
3.7	Evolução e prognóstico	22

4	MÉTODOS	23
4.1	Desenho do estudo	23
4.2	Casuística.....	23
4.2.1	Critérios de inclusão	23
4.2.2	Critérios de exclusão	24
4.3	Parecer de ética	24
4.4	Avaliação clínica dos indivíduos.....	24
4.4.1	Avaliação oftalmológica	25
4.4.2	Avaliação otorrinolaringológica	26
4.4.3	Avaliação gastroesofágica	26
4.4.4	Avaliação ginecológica	26
4.4.5	Avaliação anal.....	26
4.5	Avaliação laboratorial dos indivíduos	27
4.5.1	Imunofluorescência direta.....	27
4.5.2	Imunofluorescência indireta	27
4.5.3	Imunofluorescência indireta com subclasses de IgG	27
4.5.4	<i>Salt-split skin</i> indireto	28
4.5.5	ELISA (dosagem de anticorpos anti-COLVII).....	29
4.6	Fluxograma do estudo.....	30
4.7	Análise estatística.....	30
5	RESULTADOS	31
5.1	Dados epidemiológicos	31
5.2	Dados clínicos	32
5.3	Dados laboratoriais.....	40
5.4	Tratamento	43
5.4.1	Rituximabe.....	45
5.4.1.1	Subclasses de IgG em pacientes tratados com rituximabe.....	47
6	DISCUSSÃO	48
7	CONCLUSÕES	56
8	ANEXOS.....	59
9	REFERÊNCIAS	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Mucosa anal
Anti-COLVII	Anti-colágeno VII
AP	Anatomopatológico
APC	<i>Antigen Presenting Cell</i>
AZA	Azatioprina
C	Ciclo
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
COLVII	Colágeno VII
CyA	Ciclosporina
D	Dia
DBAI	Dermatose bolhosa autoimune
DBAL	Dermatose bolhosa por IgA linear
DDS	Dapsona
DII	Doença inflamatória intestinal
E	Mucosa esofágica
EBA	Epidermólise bolhosa adquirida
EBA-IgA	Dermatose bolhosa por IgA linear-símile
EDA	Endoscopia digestiva alta
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
F	Feminino
Fa	Mucosa faríngea
FAN	Fator anti-núcleo
FcγR	<i>Fc-gamma receptors</i>
FITC	<i>Fluorescein isothiocyanate</i>
FOAM	<i>Fluorescent Overlay Antigen Mapping</i>
G	Mucosa genital
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HD	Hipótese diagnóstica
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
Hsp90	<i>Heat shock protein 90</i>
IFD	Imunofluorescência direta
IFI	Imunofluorescência indireta

IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgIV	Imunoglobulina intravenosa
IgM	Imunoglobulina M
L	Mucosa laríngea
LESB	Lúpus eritematoso sistêmico bolhoso
M	Masculino
MB	Mecanobolhosa
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MMF	Micofenolato de mofetila
N	Mucosa nasal
NaCl	Cloreto de sódio
NC1	Não-colagênico 1
NC2	Não-colagênico 2
Oc	Mucosa ocular
Or	Mucosa oral
PAR	Protocolo artrite reumatoide
PB	Penfigoide bolhoso
PCT	Paciente
PDN	Prednisona
PL	Protocolo linfoma
PMM	Penfigoide de membranas mucosas
RTX	Rituximabe
RC	Remissão completa
RP	Remissão parcial
SBD	Sociedade Brasileira de Dermatologia
SCT	Superfície corpórea total
SP	São Paulo
SSS	<i>Salt-split skin</i>
TA	Temperatura ambiente
TBS-Ca ²⁺	<i>Tris-buffered saline/calcium</i>
USA	<i>United States of America</i>
ZMB	Zona de membrana basal

LISTA DE SÍMBOLOS

(%)	por cento
(<)	menor que
(>)	maior que
(=)	igual a
(°)	graus
(°C)	graus Celsius
(+)	positivo
(-)	negativo
(↑)	aumento
(↓)	redução
(g)	grama
(kDa)	quilodalton
(kg)	quilograma
(M)	molar
(m²)	metro ao quadrado
(mg)	miligrama
(mL)	mililitro
(mm)	milímetro
(n)	número
(nm)	nanômetro
(µg)	micrograma
(µl)	microlitro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pacientes com epidermólise bolhosa adquirida descritos por Dinato (1981) na Universidade de São Paulo	4
Figura 2 - Epidermólise bolhosa adquirida clássica.....	6
Figura 3 - Acometimento mucoso oral na epidermólise bolhosa adquirida ...	8
Figura 4 - Imunofluorescência direta na epidermólise bolhosa adquirida....	15
Figura 5 - Imunofluorescência indireta na epidermólise bolhosa adquirida .	17
Figura 6 - <i>Salt-split skin</i> indireto na epidermólise bolhosa adquirida. Fluorescência no lado dérmico da clivagem com anti-IgG (x400).....	17
Figura 7 - Fluxograma para diagnóstico da epidermólise bolhosa adquirida pelo <i>International Bullous Disease Group</i> (2018) adaptado por Miyamoto <i>et al.</i>	19
Figura 8 - Fluxograma de tratamento da epidermólise bolhosa adquirida pela Sociedade Brasileira de Dermatologia (2019)	21
Figura 9 - Fluxograma do estudo.....	30
Figura 10 - Comprometimento cutâneo da epidermólise bolhosa adquirida ..	34
Figura 11 - Evolução de seqüela cutânea em paciente com epidermólise bolhosa adquirida.....	34
Figura 12 - Sequelas cutâneas da epidermólise bolhosa adquirida	35
Figura 13 - Lesões orais da epidermólise bolhosa adquirida	37
Figura 14 - Comprometimento mucoso ativo da epidermólise bolhosa adquirida	37
Figura 15 - Sequelas mucosas da epidermólise bolhosa adquirida	39
Figura 16 - Resumo do acometimento cutâneo e mucoso nos pacientes com epidermólise bolhosa adquirida.....	39
Figura 17 - Exame histopatológico da epidermólise bolhosa adquirida com coloração por hematoxilina-eosina	40
Figura 18 - Imunofluorescência direta na epidermólise bolhosa adquirida...	41
Figura 19 - Imunofluorescência indireta na epidermólise bolhosa adquirida..	42
Figura 20 - Subclasses de IgG por imunofluorescência indireta na epidermólise bolhosa adquirida	43

Figura 21 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 1)	62
Figura 22 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 2)	63
Figura 23 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 3)	64
Figura 24 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 4)	65
Figura 25 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 5)	66
Figura 26 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 6)	67
Figura 27 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 7)	68
Figura 28 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 8)	69
Figura 29 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 9)	70
Figura 30 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 10)	71
Figura 31 - Evolução clínica de paciente com epidermólise bolhosa adquirida tratado com rituximabe	46
Figura 32 - Fluxograma para manejo e acompanhamento multidisciplinar de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida no ambulatório de Dermatologia da Universidade de São Paulo	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados clínicos de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida	31
Tabela 2 - Mudança na forma clínica de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida	33
Tabela 3 - Dados laboratoriais de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida	41
Tabela 4 - Tratamento em pacientes com epidermólise bolhosa adquirida .	44
Tabela 5 - Subclasses de IgG em pacientes com epidermólise bolhosa adquirida tratados com rituximabe	47

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Relação de subclasses de IgG utilizadas na avaliação de amostras de soro de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida 28
- Quadro 2** - *Kit* ELISA utilizado na avaliação de amostras de soro de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida..... 29
- Quadro 3** - Resumo de achados clínicos relevantes nos pacientes com epidermólise bolhosa adquirida..... 53
- Quadro 4** - Resumo de achados laboratoriais relevantes nos pacientes com epidermólise bolhosa adquirida 54
- Quadro 5** - Resumo de tratamento de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida..... 55

RESUMO

Gordilho JO. Epidermólise bolhosa adquirida: uma abordagem multidisciplinar com caracterização da resposta imune através das subclasses de imunoglobulina G [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

INTRODUÇÃO: A epidermólise bolhosa adquirida é uma doença bolhosa autoimune subepidérmica rara que pode afetar a pele e mucosas, com morbidade significativa. Estudos multidisciplinares com caracterização do acometimento cutâneo e mucoso da doença, sua evolução clínico-laboratorial e resposta ao tratamento a longo prazo são escassos na literatura.

OBJETIVOS: Avaliar as características clínicas e imunopatológicas e resposta ao tratamento de pacientes com diagnóstico de epidermólise bolhosa adquirida, acompanhados em hospital terciário em São Paulo, Brasil, envolvendo abordagem multidisciplinar.

MÉTODOS: Trata-se de coorte ambispectiva que incluiu pacientes com diagnóstico de epidermólise bolhosa adquirida confirmado por exames clínico, histopatológico, de imunofluorescência direta e indireta e ELISA. O quadro clínico cutâneo-mucoso foi avaliado por equipe multidisciplinar composta por dermatologistas, oftalmologistas, otorrinolaringologistas, gastroenterologistas e ginecologistas. A avaliação laboratorial incluiu a detecção de subclasses de IgG por imunofluorescência indireta para avaliar a distribuição de autoanticorpos em todos os pacientes estudados, e analisar o perfil de subclasses pré e pós-rituximabe. Variáveis categóricas foram descritas com número absoluto e frequência relativa (%), e variáveis contínuas foram descritas com apresentação da mediana.

RESULTADOS: Foram avaliados dez pacientes com epidermólise bolhosa adquirida, dos quais 50% eram do sexo feminino, com idade mediana ao início dos sintomas de 51 anos. Todos os pacientes foram diagnosticados com doença grave ao longo do acompanhamento, sendo 50% dos casos confirmados após a primeira avaliação multidisciplinar. Todos os pacientes apresentaram acometimento cutâneo pela doença, com desenvolvimento de sequelas cutâneas em 90% dos casos. Acometimento mucoso ativo foi

diagnosticado em todos os pacientes, com pelo menos quatro mucosas envolvidas em cada indivíduo. As mucosas mais frequentemente acometidas foram: oral (100%), de via aérea superior (80%), esofágica (80%), ocular (40%), ginecológica (60% das pacientes do sexo feminino) e anal (40%). Sequelas mucosas ocorreram em 90% dos pacientes. A avaliação laboratorial revelou predomínio de IgG e C3 na imunofluorescência direta. Imunofluorescência indireta e *salt-split skin* indireto com deposição dérmica de IgG foram positivos em 90% e 100% dos pacientes, respectivamente. Diferentes subclasses de IgG foram detectadas: IgG4 (90%), IgG1 (50%), IgG2 (50%) e IgG3 (40%). O rituximabe foi utilizado em 70% dos pacientes do estudo por doença grave e todos evoluíram com melhora clínica após o início do tratamento, sendo que 57% evoluíram com remissão completa e 43% com remissão parcial. A persistência de IgG4 circulante após uso do imunobiológico foi observada em pacientes com remissão parcial da doença. **CONCLUSÕES:** A abordagem multidisciplinar é essencial para detecção precoce de lesões mucosas, diagnóstico da doença grave e definição de tratamento. O seguimento clínico regular e a longo prazo dos pacientes é fundamental, uma vez que sequelas se desenvolvem ao longo da evolução da doença. Rituximabe parece ser um tratamento promissor para a epidermólise bolhosa adquirida, melhorando o prognóstico de formas graves da doença. A análise de subclasses de IgG auxilia no seguimento clínico-laboratorial do paciente, sendo a presença de IgG4 um potencial marcador de atividade da doença.

Palavras-chave: Epidermólise bolhosa adquirida. Autoimunidade. Pesquisa multidisciplinar. Ensaio de imunoabsorção enzimática. Imunoglobulina G. Rituximabe.

ABSTRACT

Gordilho JO. Epidermolysis bullosa acquisita: a multidisciplinary approach with characterization of the immune response through immunoglobulin G subclasses [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

INTRODUCTION: Epidermolysis bullosa acquisita is a rare subepidermal autoimmune bullous disease that can affect the skin and mucous membranes, with significant morbidity. Multidisciplinary studies characterizing the disease's skin and mucous membrane involvement, its clinical and laboratory evolution, and its response to long-term treatment are scarce in the literature.

OBJECTIVES: To evaluate the clinical and immunopathological characteristics and response to treatment of patients diagnosed with epidermolysis bullosa acquisita, followed up in a tertiary hospital in São Paulo, Brazil, involving a multidisciplinary approach. **METHODS:** This is an ambispective cohort that included patients with a diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita confirmed by clinical, histopathological, direct and indirect immunofluorescence, and ELISA tests. A multidisciplinary team of dermatologists, ophthalmologists, otorhinolaryngologists, gastroenterologists, and gynecologists evaluated the cutaneous and mucosal clinical manifestations. Laboratory evaluation included the detection of circulating IgG subclasses by indirect immunofluorescence to assess the distribution of autoantibodies in all patients. Additionally, the profile of IgG subclasses before and after treatment with Rituximab was analyzed in patients on this therapy. Categorical variables were described with the absolute number and relative frequency (%), and continuous variables were described with the median presentation. **RESULTS:** Ten patients with epidermolysis bullosa acquisita were evaluated, 50% of whom were female, with a median age of initial symptoms of 51 years. All patients had severe disease during follow-up, and about 50% had a confirmed diagnosis after the first multidisciplinary assessment. All patients had skin involvement by the disease, with cutaneous sequelae in 90% of cases. The mucosal involvement was present in at least four mucosal sites in each patient. Frequency of active lesions in mucous membrane

were: oral (100%), upper airway (80%), esophageal (80%), ocular (40%), gynecological (60% of female patients), and anal (40%). Mucosal sequelae occurred in 90% of patients. Laboratory evaluation revealed a predominance of IgG and C3 deposits by direct immunofluorescence. Positive indirect immunofluorescence and salt-split skin with dermal deposition of IgG occurred in 90% and 100% of patients, respectively. The distribution of different IgG subclasses revealed IgG4 (90%), IgG1 (50%), IgG2 (50%), and IgG3 (40%). Rituximab was used in 70% of the severe patients, and all evolved with clinical improvement after starting use of the drug, with 57% evolving to complete remission and 43% to partial remission. Persistent circulating IgG4 after using Rituximab was observed in patients with partial remission of the disease.

CONCLUSIONS: A multidisciplinary approach to epidermolysis bullosa acquisita is essential for the early detection of mucosal lesions, sealing the presence of severe disease, and defining therapeutic regimen. Regular and long-term clinical follow-up of patients is essential since sequelae usually develop in the course of the disease. Rituximab appears to be a promising treatment for epidermolysis bullosa acquisita, improving the prognosis of severe forms of the disease. The analysis of IgG subclasses is helpful for the clinical and laboratory follow-up of patients with epidermolysis bullosa acquisita once IgG4 may serve as a potential marker of disease activity.

Keywords: Epidermolysis bullosa acquisita. Autoimmunity. Multidisciplinary research. Enzyme-linked immunosorbent assay. Immunoglobulin G. Rituximab.

1 INTRODUÇÃO

As dermatoses bolhosas autoimunes (DBAIs) são caracterizadas clinicamente por lesões bolhosas cutâneas e/ou mucosas, sendo classificadas de acordo com o nível da clivagem epitelial¹. As dermatoses bolhosas intraepidérmicas (pênfigos) são relacionadas com autoanticorpos contra moléculas de adesão epidérmicas, incluindo as desmogleínas 1 e 3, principais componentes dos desmossomos². Já as dermatoses bolhosas subepidérmicas (grupo penfigoide) caracterizam-se por autoanticorpos circulantes contra componentes da zona de membrana basal (ZMB), e incluem o penfigoide bolhoso (PB), penfigoide de membranas mucosas (PMM), epidermólise bolhosa adquirida (EBA), dermatose bolhosa por IgA linear (DBAL), dermatite herpetiforme, penfigoide gestacional, líquen plano penfigoide e lúpus eritematoso sistêmico bolhoso (LESB)³.

A EBA, objeto deste estudo, é uma doença bolhosa autoimune subepidérmica rara causada por autoanticorpos contra o colágeno VII (COLVII), principal componente das fibrilas de ancoragem da ZMB dos epitélios escamosos estratificados⁴. A EBA apresenta grande variedade de manifestações clínicas e possui morbidade significativa, associada ao risco de sequelas cutâneas e mucosas. Entretanto, estudos considerando o acompanhamento multidisciplinar a longo prazo de pacientes com EBA são escassos na literatura, dificultando a compreensão integral da evolução da doença, assim como sua patogênese e fatores prognósticos, o que fundamenta o desenvolvimento de novas pesquisas, principalmente em serviços de referência. A melhor caracterização do acometimento cutâneo e mucoso da EBA, sua evolução clínico-laboratorial e resposta ao tratamento podem, além de permitir melhor compreensão da doença, contribuir para avanços no seu manejo, com subsequente melhora da qualidade de vida dos pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar as características clínicas e imunopatológicas e resposta ao tratamento de pacientes com diagnóstico de epidermólise bolhosa adquirida (EBA), acompanhados em hospital terciário em São Paulo (SP), envolvendo abordagem multidisciplinar.

2.2 Específicos

- Analisar a evolução do comprometimento cutâneo-mucoso em pacientes com EBA desde a fase ativa da doença até desenvolvimento de sequelas;
- Descrever aspectos da histopatologia e avaliar a imunofluorescência direta (IFD), imunofluorescência indireta (IFI), *salt-split skin* (SSS) indireto e ELISA em pacientes com EBA;
- Realizar detecção de subclasses de imunoglobulina G (IgG1, IgG 2, IgG3 e IgG4) por IFI para avaliar a distribuição de autoanticorpos em todos os pacientes estudados e analisar o perfil de subclasses pré e pós-rituximabe;
- Avaliar resposta terapêutica através da evolução clínica em todos os pacientes estudados.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico e epidemiologia

A EBA foi relatada pela primeira vez por Elliot (1895)* *apud* Koga (2019), que descreveu dois casos de uma doença bolhosa adquirida de início na idade adulta, semelhante à epidermólise bolhosa distrófica hereditária⁵. Em 1971, os primeiros critérios diagnósticos para EBA foram estabelecidos por Roegnik *et al.*, e incluíram: lesões clínicas similares à epidermólise bolhosa distrófica; início na idade adulta; ausência de história familiar de epidermólise bolhosa; exclusão de outras doenças bolhosas⁶. Após aproximadamente dois anos, Kushniruk *et al.* detectaram depósitos de IgG e C3 na ZMB por IFD em dois pacientes com diagnóstico de EBA⁷. Em 1981, Dinato descreveu dois pacientes com suspeita de EBA acompanhados no Departamento de Dermatologia da Universidade de São Paulo⁸. Ambos apresentavam lesões bolhosas pós traumáticas de início na idade adulta, cicatrizes atróficas, lesões mucosas e alterações distróficas ungueais, com exame histopatológico, microscopia eletrônica e imunofluorescência compatíveis com a doença (Figura 1)⁸. Em 1984, Woodley *et al.* identificaram uma proteína colagenosa de 290 kDa na ZMB como alvo antigênico da EBA, posteriormente descrito como COLVII^{9,10}.

* Elliott GT. Two cases of epidermolysis bullosa. *J Cutan Genitourin Dis.* (1895) 13:10.



Figura 1 - Pacientes com epidermólise bolhosa adquirida descritos por Dinato (1981) na Universidade de São Paulo⁸. Paciente 1: (A) Anoníquia em quirodáctilos e lesão bolhosa com base eritematosa em antebraço. (B) Anoníquia em pododáctilos. Paciente 2: (C) Cicatriz atrófica com alterações pigmentares no cotovelo. (D) Cicatrizes atróficas, alterações pigmentares e bolhas íntegras nos joelhos

Embora dados exatos de sua prevalência e incidência sejam escassos na literatura, a EBA é reconhecidamente uma doença rara, com incidência anual presumida entre 0,08 a 0,50 casos por milhão de indivíduos^{11,12}. Em contraste, o PB, dermatose bolhosa autoimune subepidérmica mais frequente, possui incidência reportada em até 42,8 casos/milhão de indivíduos/ano¹³. Em um estudo multicêntrico e prospectivo recente realizado na Turquia, dentre 295 pacientes com doenças do grupo penfigoide, 93,2% e 3,1% apresentaram diagnóstico de PB e EBA, respectivamente¹⁴. Ademais, em um estudo sorológico de 100 pacientes com anticorpos contra a ZMB, apenas aproximadamente 5% dos pacientes apresentavam EBA ou LESB¹⁵.

A EBA não tem predileção por sexo e pode ocorrer em qualquer idade^{5,16,17}. O pico de início da doença é variável segundo a literatura, com descrição de ocorrência entre as 4^a e 5^a décadas de vida¹⁶. Em meta-análise recente com 1159 casos de EBA, 11,3% dos pacientes possuíam idade igual ou superior a 65 anos e 4,6% até 17 anos¹⁸. Este último grupo representa a EBA na infância, definida como a doença de início em indivíduos com idade inferior a 18 anos¹⁹.

3.2 Manifestações clínicas e classificação de gravidade

A EBA é uma doença heterogênea que pode afetar a pele e mucosas, com significativa diversidade de manifestações clínicas. Duas formas principais da doença são descritas: clássica (mecanobolhosa) e não-clássica (não-mecanobolhosa)²⁰. Essa última forma assemelha-se a outras doenças bolhosas autoimunes e inclui os tipos penfigoide bolhoso-símile (PB-símile), penfigoide de membranas mucosas-símile (PMM-símile), dermatose bolhosa por IgA linear-símile (EBA-IgA) e penfigoide de Brunsting-Perry-símile. Já a definição da forma “inflamatória” da doença é inconclusiva na literatura. Em geral, a EBA PB-símile é considerada inflamatória, as EBA PMM-símile e EBA-IgA são variáveis, e a forma penfigoide de Brunsting-Perry-símile é, em geral, não-inflamatória²⁰.

Alguns pacientes podem apresentar mudança das manifestações clínicas durante a evolução da EBA, por vezes cursando com lesões de duas formas diferentes da doença simultaneamente^{16,21}.

Em geral, as duas apresentações mais comuns são a EBA clássica e a PB-símile, com frequência variável na literatura⁵. Em estudo de 30 pacientes com EBA na Coreia do Sul, a forma PB símile foi a mais comum, ocorrendo em 46,7% dos pacientes²². Já em um estudo com 12 pacientes com EBA na Espanha, a forma clássica foi a mais frequente, ocorrendo em 42% dos pacientes²¹.

Na EBA da infância, a forma clínica inflamatória e a presença de lesões mucosas, principalmente orais, são mais frequentes^{23,24}.

Devido à clivagem subepidérmica, as bolhas na EBA costumam ser tensas, podendo persistir por dias e apresentar conteúdo hemorrágico^{4,5}.

3.2.1 EBA clássica ou mecanobolhosa (MB)

A EBA clássica caracteriza-se por fragilidade cutânea, vesículas, bolhas tensas e erosões, principalmente em áreas propensas à trauma, como dorso das mãos, cotovelos, joelhos e pés (Figura 2)²⁵. As lesões costumam ocorrer em áreas de pele não inflamada e evoluir com formação de cicatrizes atróficas,

hiper e/ou hipopigmentação pós-inflamatória e milia, podendo também ocorrer onicodistrofia e alopecia cicatricial^{26,27}. Embora seja descrito como não predominante, o acometimento mucoso pode ocorrer, com risco de estenoses^{5,28}. Casos leves da forma MB tem a porfiria cutânea tarda como diagnóstico diferencial, enquanto formas graves podem assemelhar-se à epidermólise bolhosa hereditária distrófica recessiva^{12,29}. Em tais casos, fibrose dos dedos e das mãos pode levar à deformidades com importante impacto na qualidade de vida dos pacientes.



Figura 2 - Epidermólise bolhosa adquirida clássica. (A) Bolhas, erosões, manchas hipercrômicas e cicatrizes atróficas em coxas, joelhos, região pré-tibial e dorso dos pés, e anoníquia em pododáctilos. (B) Bolhas, erosões, manchas hipercrômicas, cicatrizes atróficas e milia no dorso das mãos e dedos, com contratura em flexão dos terceiros quirodáctilos. (C) Manchas hipercrômicas, cicatrizes atróficas e milia em cotovelos

3.2.2 EBA penfigoide bolhoso-símile

O quadro clínico da EBA PB-símile é caracterizado por vesículas e bolhas tensas sobre placas urticariformes, principalmente em tronco e regiões de dobras, com prurido associado²⁰. Lesões de EBA clássica podem ocorrer, incluindo cicatrizes atróficas e milia, assim como o acometimento mucoso^{4,5}.

3.2.3 EBA penfigoide de membranas mucosas-símile

A EBA PMM-símile apresenta-se com envolvimento primariamente mucoso, ocorrendo em 5-10% dos pacientes com EBA²⁵. As erosões e cicatrizes mucosas são similares ao PMM⁵. Entretanto, bolhas de ruptura tardia são mais frequentes nessa forma de EBA⁴. Diferentemente da EBA clássica, pacientes com a forma PMM-símile comumente não apresentam fragilidade cutânea e lesões em áreas de trauma¹⁶.

3.2.4 EBA dermatose bolhosa por IgA-símile

A EBA-IgA é caracterizada pela deposição de IgA linear na ZMB⁵. A classificação dessa forma clínica é controversa na literatura, com debate em relação a ser considerada parte do espectro clínico da DBAL ou uma entidade separada. Achados de um estudo de coorte recente sugerem que a IgA-EBA deve ser considerada uma entidade de doença à parte, fenotipicamente mais próxima da EBA, podendo exigir tratamento sistêmico mais intensivo do que a DBAL³⁰.

A EBA-IgA pode se assemelhar clinicamente à DBAL, com vesículas tensas e placas urticadas de padrão anular ou policíclico²⁵. Em uma revisão da literatura sobre EBA-IgA, acometimento mucoso foi observado em 30% dos casos³¹.

3.2.5 EBA penfigoide de Brunsting-Perry-símile

A EBA penfigoide de Brunsting-Perry-símile é definida como uma erupção vesicobolhosa crônica e recorrente, tipicamente localizada na região da cabeça e pescoço, que evolui com cicatrizes, porém com envolvimento mucoso ausente ou mínimo^{32,33}.

3.2.6 Acometimento mucoso na EBA

A EBA pode acometer mucosas de epitélios escamosos estratificados, incluindo as mucosas ocular, oral, faríngea, esofágica, nasal, laríngea, genital e anal²⁰. O relato da frequência do acometimento mucoso da EBA apresenta importante variação na literatura. Há estudos que estimam que lesões mucosas ocorram em 50-65% dos pacientes com EBA²⁵. Entretanto, estudos com avaliação global e detalhada do acometimento mucoso da doença são escassos¹⁸.

A mucosa oral é a mais acometida na EBA³⁴. Erosões nos lábios, mucosa jugal e língua, além de gengivite descamativa, podem ocorrer (Figura 3)³⁵. Complicações associadas incluem anquiloglossia, restrição da abertura bucal, cáries e perda de osso alveolar³⁶.



Figura 3 - Acometimento mucoso oral na epidermólise bolhosa adquirida. (A) Bolhas de conteúdo hemorrágico e erosões na mucosa jugal e lábios. (B) Bolhas flácidas de conteúdo hialino com eritema circunjacente no palato

O acometimento faringo-laríngeo na EBA é infrequente e caracteriza-se por erosões, mudanças na voz, espessamento da epiglote, sinéquias e estenose supraglótica que, em casos graves, pode requerer traqueostomia³⁷⁻⁴⁰. Para prevenir tais complicações, terapia imunossupressora sistêmica é

indicada em casos de lesões laríngeas⁴¹. O acometimento da traqueia e brônquios pode ocorrer raramente⁵.

Lesões oculares na EBA incluem conjuntivite, simbléfaro, ceratite, perfuração e opacificação corneanas e, em casos graves, amaurose⁴²⁻⁴⁹. Em uma série de casos com nove pacientes portadores de EBA ocular, observou-se fibrose conjuntival progressiva em quatro pacientes, apesar de tratamento sistêmico da doença⁴². O acometimento ocular pela EBA pode ser indistinguível do PMM, e pacientes com predomínio de autoanticorpos do tipo IgA em EBA apresentam maior frequência de lesões oculares graves⁴⁶⁻⁴⁸.

O acometimento esofágico nas DBAIs é raro e sua incidência precisa é desconhecida⁵⁰. Na EBA, relatos de casos com erosões, membranas e estenose esofágicas foram reportados^{36,51-54}. As lesões geralmente ocorrem no terço superior do esôfago e podem causar disfagia, perda ponderal e desnutrição⁵. Em particular, a disfagia pode ser secundária a lesões ativas ou estenose, devendo ser abordada com tratamento imunossupressor e, em alguns casos, intervenções invasivas, a exemplo da dilatação esofágica e injeção intralesional de corticoesteróide^{36,55,56}.

Lesões genitais e anais ocorrem em 14,1% e 3,0% dos pacientes, respectivamente¹⁸.

O acometimento de outras mucosas na EBA é raro, com caracterização limitada na literatura. Em geral, a avaliação do trato urinário inferior de rotina é pouco descrita nas DBAIs, com predomínio de relatos de caso de lesões uretrais em PMM^{57,58}. Em uma série de casos com 14 pacientes com pênfigo vulgar, PB e PMM submetidos à uretrocistoscopia, 93% apresentaram lesões no trato urinário inferior, apesar da ausência de sintomas⁵⁷. Estudos similares em EBA não são descritos na literatura até o momento. Um caso isolado de EBA com suspeita de cistite vesicular foi reportado em 1988⁵⁹.

Lesões mucosas em EBA são assintomáticas em 30% dos casos⁵. O acometimento mucoso pode ser silencioso, com progressão subclínica e risco de complicações graves, por vezes com necessidade de intervenções invasivas e importante impacto na qualidade de vida dos doentes^{52,60-64}.

3.2.7 Classificação de gravidade

Não existe uma classificação de gravidade padronizada e universalmente aceita para EBA. O consenso da Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) sobre o tratamento de DBAIs classifica a doença em⁶⁵:

(i): EBA não-grave: até 10% de envolvimento da superfície corpórea total (SCT) sem alteração funcional (contratura em flexão dos dedos) e ausência de envolvimento mucoso grave (ocular, laríngeo ou esofágico);

(ii): EBA grave: envolvimento maior que 10% da SCT, e/ou presença de alteração funcional (contratura em flexão dos dedos), e/ou envolvimento mucoso grave (ocular, laríngeo ou esofágico), e/ou EBA não-grave que não responsiva ao tratamento proposto.

3.3 Doenças associadas

Diferentes doenças sistêmicas têm sido reportadas em associação à EBA, como tireoidite, artrite reumatoide, fibrose pulmonar, timoma, amiloidose e diabetes mellitus¹⁰. Entretanto, a maioria desses relatos são isolados, sem interação patogênica clara com a EBA¹⁸.

Em contrapartida, a associação com a doença inflamatória intestinal (DII), particularmente a doença de Crohn, presente em aproximadamente 30% dos pacientes com EBA, é bem estabelecida^{10,18}. Diferentes estudos identificaram o COLVII no intestino grosso^{66,67}. Além disso, 6-60% dos pacientes com DII ativa apresentam anticorpos contra o COLVII^{66,68}. Diferentes teorias foram desenvolvidas para explicar a associação entre as duas doenças, como: na DII, a resposta inflamatória poderia expor novos antígenos, com subsequente formação de anticorpos anti-COLVII e/ou, na EBA, a inflamação gastrointestinal induzida por anticorpos anti-COLVII poderia influenciar a patogênese da DII⁶⁹.

3.4 Patogênese

O antígeno-alvo da EBA é o COLVII, principal componente das fibrilas de ancoragem, localizado na sublâmina densa da ZMB⁴. O COLVII é uma proteína de 290 kDa formada por um domínio central colagênico triplo-helicoidal flanqueado pelos domínios não-colagênicos NC1 e NC2^{70,71}. As moléculas de COLVII formam dímeros antiparalelos cauda-a-cauda, estabilizados por ligações dissulfeto, que se juntam lateralmente para formar as fibrilas de ancoragem^{10,72}. O domínio NC1 facilita a ligação de COLVII a outros componentes da ZMB e matriz extracelular e estabiliza a adesão da ZMB à derme subjacente¹⁰. Na EBA, os epítomos localizam-se predominantemente no domínio NC1⁷³. Entretanto, reatividade contra os domínios colagênico e NC2 pode ocorrer em alguns pacientes⁷⁴⁻⁷⁶. Casos de crianças menores de 10 anos com quadro de EBA inflamatória e autoanticorpos contra os domínios colagênico e NC2 foram descritos²⁴. Contudo, não existe evidência científica robusta de correlação entre epítomos e tipos clínico-patológicos em EBA até o momento¹⁰.

Pacientes com EBA apresentam autoanticorpos contra o COLVII circulantes e ligados ao tecido (*in situ*), predominantemente do tipo IgG¹⁶. Autoanticorpos do tipo IgA são encontrados em aproximadamente 10% dos pacientes e, menos frequentemente ainda os tipos IgM e IgE⁵.

A relevância patogênica dos anticorpos anti-COLVII na EBA foi demonstrada em diversos estudos experimentais, incluindo a separação derme-epidérmica em criocortes de pele humana induzida por anticorpos e a formação de bolhas semelhantes à EBA em camundongos após transferência passiva de anticorpos ou imunização com COLVII recombinante^{72,77-80}.

Nas últimas décadas, diferentes modelos animais experimentais em EBA permitiram um avanço significativo na compreensão da patogênese da doença, principalmente em sua forma inflamatória. Os eventos fisiopatológicos da EBA podem ser divididos em três fases principais: perda de tolerância ao COLVII (fase de indução ou aferente), manutenção da produção de autoanticorpos, e lesão tecidual induzida por autoanticorpos (fase eferente)^{17,81}.

Fatores genéticos e ligados ao microbioma cutâneo contribuem para a perda de tolerância ao COLVII⁵. Diferentes evidências sugerem a participação de fatores genéticos no desenvolvimento da EBA, a exemplo de raros casos familiares reportados na literatura^{82,83}. A susceptibilidade genética à doença ocorre especialmente relacionada ao HLA, incluindo HLA-DR2, HLA-DRB1*15:03 em pacientes negros de descendência africana na França, e HLA-DRB1*13 em pacientes coreanos⁸⁴⁻⁸⁷. Entretanto, genes não relacionados ao complexo principal de histocompatibilidade (*major histocompatibility complex* – MHC) também se associam à EBA⁸⁸. Já a microbiota cutânea tem sua influência na patogênese da doença sugerida por alguns modelos animais em EBA⁵. Na EBA induzida por imunização em camundongos geneticamente idênticos, uma maior riqueza e diversidade da microbiota parece ter prevenido a formação de bolhas em alguns animais⁸⁹.

Com a perda da tolerância ao COLVII, um processo complexo com interação entre diferentes células do sistema imune é iniciado. Na EBA experimental, linfócitos TCD4+ são fundamentais para indução da formação de autoanticorpos⁹⁰. A demonstração direta da relevância das células T foi observada na EBA induzida por imunização em camundongos deficientes em células T, que não desenvolveram a doença⁹¹. Em outro estudo, a depleção de linfócitos TCD4+, mas não de TCD8+, atrasou a produção de autoanticorpos e formação de bolhas em camundongos⁹². Por sua vez, a ativação dos linfócitos TCD4+ depende das células apresentadoras de antígenos (*antigen presenting cells* - APC), que incluem células B, células dendríticas e macrófagos⁵. Nesse contexto, existe evidência na EBA experimental da contribuição do fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos e neutrófilos na formação de autoanticorpos, presumidamente ao mediar o influxo de APCs nos linfonodos periféricos⁹³. Outro aparente fator importante para produção de autoanticorpos é a proteína de choque térmico (*heat shock protein* 90 - Hsp90)⁵. A inibição farmacológica da Hsp90 suprime a produção de autoanticorpos na EBA experimental⁵. De forma geral, as interações entre as APCs e linfócitos T e B autorreativos causam expansão clonal e diferenciação em células plasmáticas, com subsequente liberação de autoanticorpos contra o COLVII na circulação⁵.

A meia-vida dos autoanticorpos é controlada pelo receptor Fc neonatal, que os protege do catabolismo⁹⁰. O *clearance* de autoanticorpos anti-COLVII varia de quatro a oito semanas na EBA experimental⁹⁴.

A fase eferente da EBA é caracterizada pela inflamação e formação de bolhas induzidas pelos autoanticorpos⁵. A lesão tecidual inicia-se pela deposição de autoanticorpos na junção dermo-epidérmica, com formação de um ambiente pró-inflamatório que inclui a ativação do complemento e liberação de citocinas pró-inflamatórias, com posterior recrutamento de neutrófilos para a pele^{12,81}. A formação dos imunocomplexos também ativa células T *natural killer* e $\gamma\delta$ -T, que contribuem adicionalmente para a atração de neutrófilos⁹⁵.

Após a migração para a pele, os neutrófilos são ativados ao ligar-se aos imunocomplexos *in situ* através do receptor Fc γ R (*Fc-gamma receptors*)⁸¹. Na EBA experimental, as interações Fc- Fc γ R são centrais na inflamação cutânea e formação de bolhas¹². Ocorre então a secreção de espécies reativas de oxigênio e metaloproteinases pelos neutrófilos ativados, que causam danos direto à junção dermo-epidérmica⁸¹. Pacientes com EBA apresentam número reduzido de fibrilas de ancoragem, que leva à fragilidade cutânea e bolhas subepidérmicas²⁶.

Em contrapartida, conhecimento relacionado à patogênese da EBA clássica é limitado. É possível que os autoanticorpos comprometam o COLVII, perturbando interações diretas críticas com componentes da ZMB e derme superior, como o colágeno tipo IV, laminina-332 e fibronectina¹⁰. Além disso, os autoanticorpos podem interferir diretamente na formação do dímero antiparalelo do COLVII, desestabilizando as fibrilas de ancoragem⁹⁶. Ambos os mecanismos explicam a fragilidade da pele e formação de bolhas em pacientes com o fenótipo clássico de EBA, que não apresentam inflamação significativa nas lesões, mas apresentam aderência dermo-epidérmica defeituosa¹⁶.

3.5 Diagnóstico

A EBA é definida como uma DBAI subepidérmica caracterizada pela presença autoanticorpos *in situ* contra o COLVII, presente na ZMB de epitélios

escamosos estratificados²⁰. Tendo em vista a heterogeneidade clínica e morbidade da doença, seu diagnóstico precoce e correto, com diferenciação de outras dermatoses bolhosas, é fundamental para seguimento e tratamento adequado dos pacientes⁹⁷. Além de aspectos clínicos e histopatológicos, o diagnóstico de EBA deve ser realizado com base na detecção de autoanticorpos contra o COLVII *in situ* e/ou circulantes⁴. Entretanto, tais exames têm disponibilidade restrita, geralmente limitada a grandes centros de pesquisa.

3.5.1 Aspectos histopatológicos

A análise histopatológica em biópsia de lesão cutânea ou mucosa, em pacientes com EBA, revela clivagem subepidérmica ou subepitelial com variabilidade de infiltrado inflamatório, além de presença de milia ou fibrose em lesões antigas²⁰. A forma MB comumente cursa com inflamação mínima, enquanto formas inflamatórias da EBA apresentam infiltrado inflamatório neutrofílico ou misto, com número variável de eosinófilos e linfócitos¹⁰. Na EBA, a histopatologia não é suficiente para diferenciação com outras doenças bolhosas subepidérmicas.

3.5.2 Aspectos imunológicos

3.5.2.1 Autoanticorpos *in situ*

A análise por IFD de pele perilesional em pacientes com EBA geralmente revela deposição linear de IgG e C3 na ZMB (Figura 4)⁵. Menos frequentemente, IgA e IgM podem ser detectados⁹⁸. A análise do padrão de serrilhado por IFD pode auxiliar na confirmação diagnóstica da EBA e no diagnóstico diferencial com outras doenças bolhosas subepidérmicas: enquanto o padrão u-serrilhado na ZMB sugere diagnóstico de EBA ou LESB, o padrão n-serrilhado é sugestivo de outras doenças penfigoides, como PB e PMM⁹⁹⁻¹⁰¹. A técnica de SSS com incubação da pele perilesional em solução

de NaCl 1M também pode ser realizada, porém seu uso é limitado pelo risco de destruição da amostra²⁵.

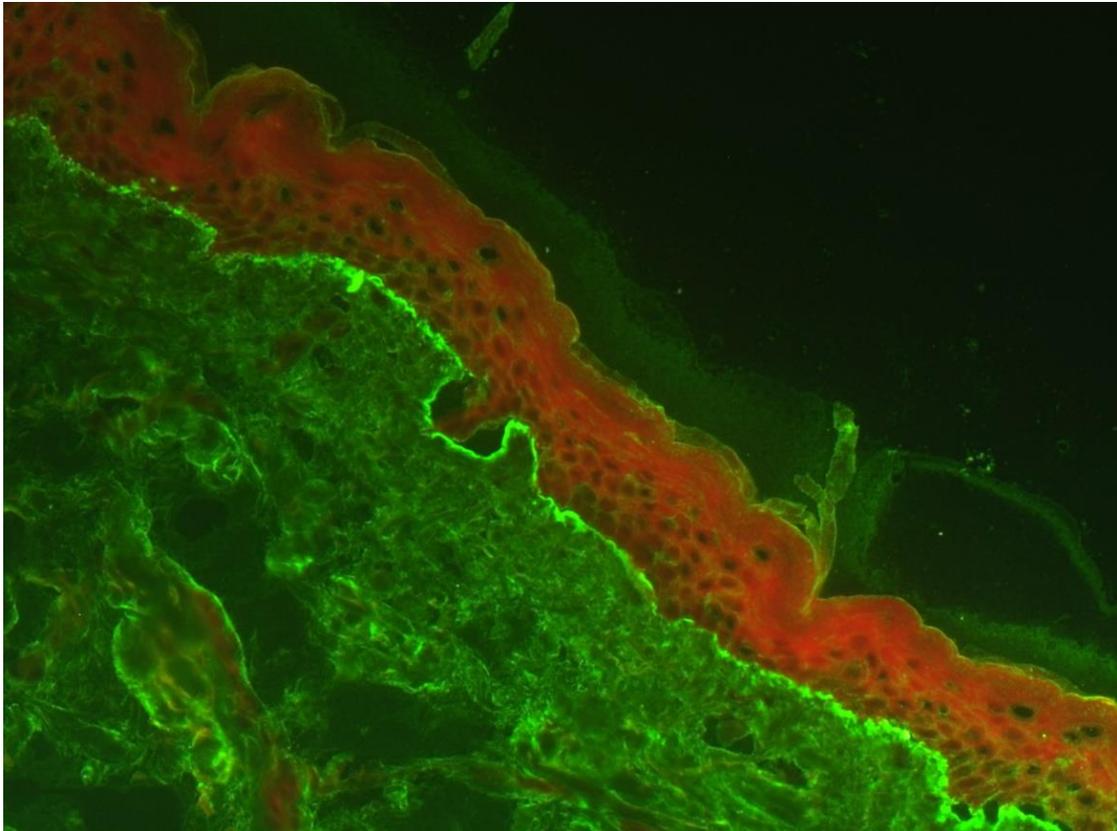


Figura 4 - Imunofluorescência direta na epidermólise bolhosa adquirida. Fluorescência linear intensa e contínua na zona da membrana basal com anti-IgG (x400)

Nos casos em que o padrão de serrilhado pela IFD não pode ser determinado, o nível de deposição de anticorpos pode ser analisado pelo mapeamento de antígenos por sobreposição de fluorescência (*Fluorescent Overlay Antigen Mapping – FOAM*), que se baseia na visualização do antígeno-alvo em relação a um marcador topográfico conhecido com utilização de cores fluorescentes⁵.

A imunomicroscopia eletrônica fornece uma localização mais detalhada dos depósitos, permitindo sua visualização na sublâmina densa em pacientes com EBA¹⁰².

3.5.2.2 Autoanticorpos circulantes

A determinação de autoanticorpos circulantes é importante para diagnóstico e monitoramento do curso da doença e sucesso terapêutico nas DBAIs¹⁰³. Na EBA, os autoanticorpos são principalmente da classe IgG, com predomínio das subclasses IgG1 e IgG4^{5,12,104-107}. Em contraste, autoanticorpos no LESB, doença que também se associa à autoanticorpos contra o COLVII, pertencem principalmente às subclasses IgG2 e IgG3¹⁰⁸. A correlação entre as subclasses de IgG, habilidade de fixação de complemento e formas clínicas não foi estabelecida na EBA, e o papel específico na patogênese da doença de cada subclasse é incerto^{16,103,106,109}.

A IFI permite a identificação de anticorpos IgG anti-ZMB circulantes em 25-50% dos pacientes com EBA, com padrão de fluorescência similar ao PB (Figura 5)¹¹⁰. O exame de SSS indireto pode auxiliar na distinção entre as duas doenças. Na EBA, autoanticorpos anti-ZMB são detectados em 74,7% dos pacientes, com reatividade no lado dérmico da clivagem (Figura 6)¹². Em contrapartida, fluorescência no lado epidérmico ou em ambos os lados da clivagem é observada no PB¹¹⁰. Entretanto, a fluorescência no lado dérmico não é exclusiva da EBA, podendo também ser observada no penfigoide anti-p200 e PMM anti-laminina 332^{111,112}.

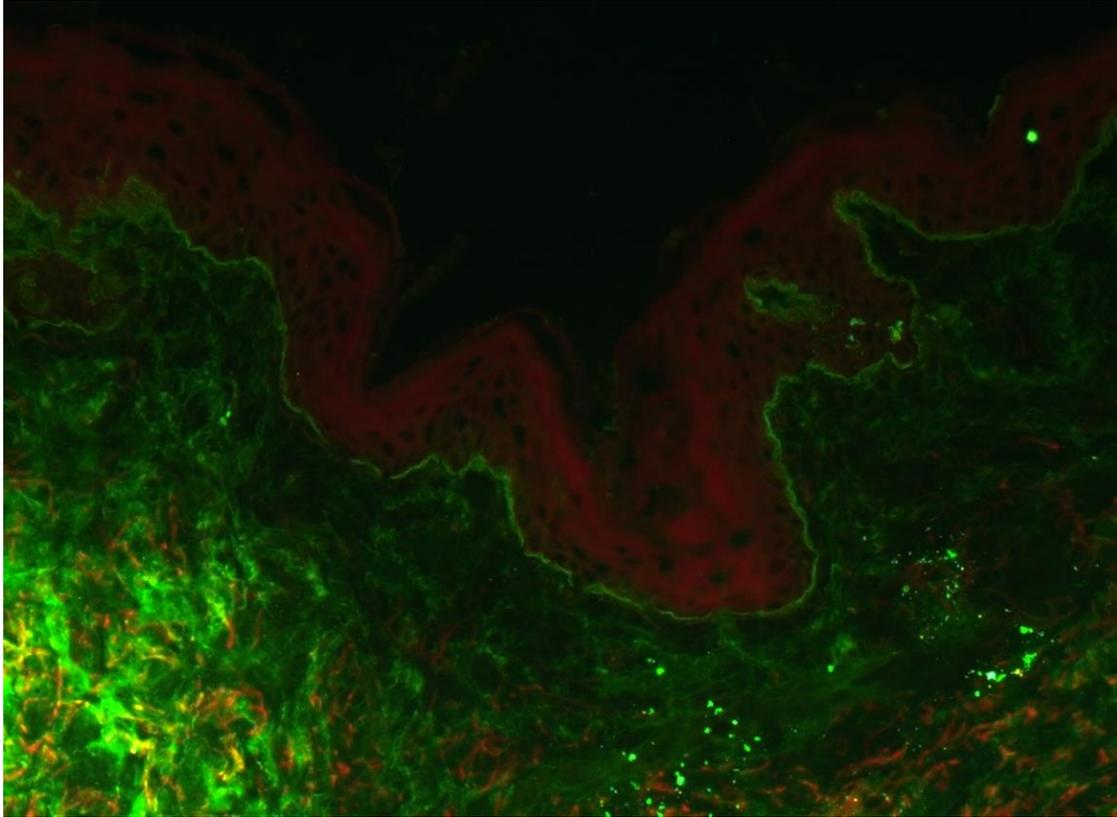


Figura 5 - Imunofluorescência indireta na epidermólise bolhosa adquirida. Fluorescência linear na zona da membrana basal com anti-IgG (x400)

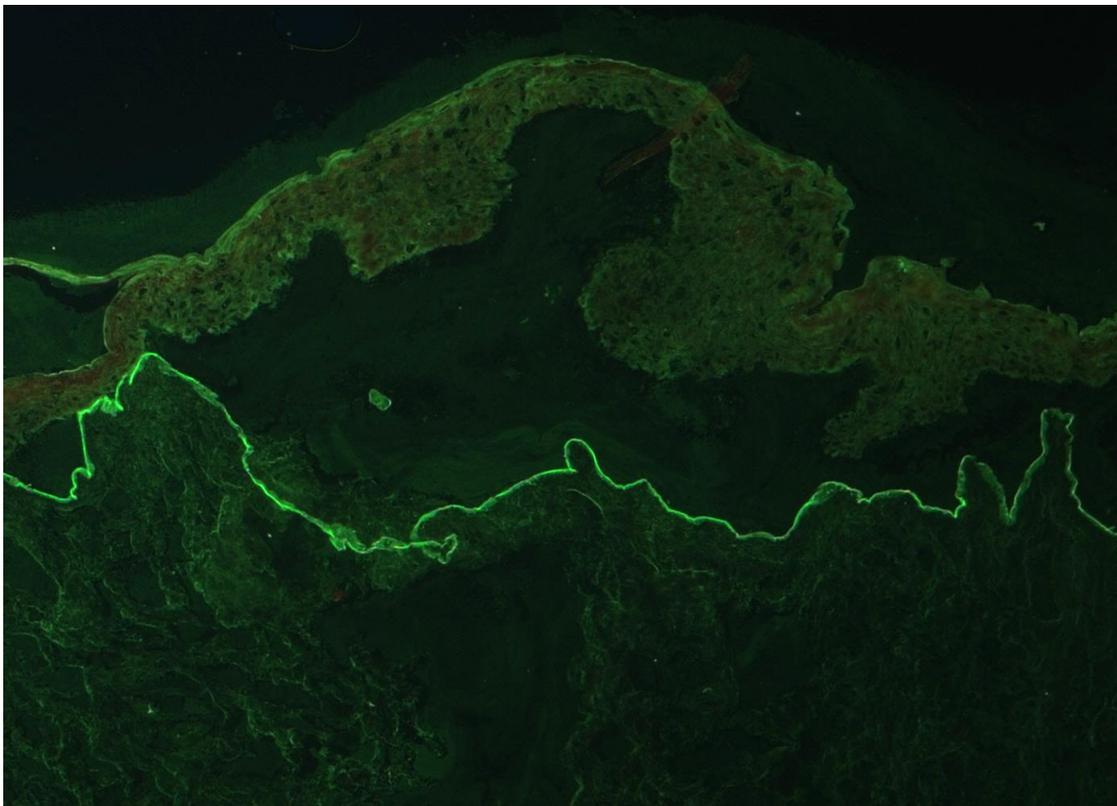


Figura 6 - *Salt-split skin* indireto na epidermólise bolhosa adquirida. Fluorescência no lado dérmico da clivagem com anti-IgG (x400)

Autoanticorpos circulantes contra o COLVII podem ser detectados e quantificados através de diferentes tipos de ensaio de imunoabsorção enzimática (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA), que se distinguem pelo epítopo utilizado¹¹³. O ELISA com NC1 e NC2 recombinantes apresentou sensibilidade de 93,8% e especificidade de 98,1% durante seu desenvolvimento¹¹⁴. Entretanto, a sensibilidade do ELISA na EBA é bastante variável, entre 23 e 98%, possivelmente devido às diferenças de epítopo entre os testes disponíveis e à seleção de soro com resultado positivo no exame de SSS em alguns estudos¹². O nível de autoanticorpo IgG anti-COLVII detectado por ELISA correlaciona-se com a atividade e gravidade da doença¹¹³.

A técnica de *Immunoblotting* detecta anticorpos circulantes anti-COLVII utilizando extratos de tecidos ou de células, ou proteínas recombinantes, com sensibilidade de 60 a 80% em pacientes com EBA¹¹⁵.

A IFI em *biochip* com células transfectadas com domínio NC1 foi recentemente desenvolvida e permite a identificação de autoanticorpos circulantes contra o COLVII, com sensibilidade e especificidade comparáveis ao ELISA NC1/NC2^{12,116}.

3.5.3 Fluxograma para diagnóstico

Devido à complexidade da EBA, com ampla variedade de apresentações clínicas e diferentes testes diagnósticos disponíveis, um consenso internacional para diagnóstico da doença foi estabelecido em 2018 pelo *International Bullous Disease Group* (Figura 7)²⁰. Em pacientes com clínica compatível, histopatologia com bolha subepidérmica, IFD com fluorescência na ZMB e teste sorológico positivo para anticorpos anti-COLVII, o diagnóstico de EBA é altamente provável e nenhum outro teste é necessário. Em pacientes soronegativos, o diagnóstico definitivo pode ser estabelecido pelos critérios 1, 3 e pesquisa positiva para autoanticorpos *in situ*. Entretanto, caso tais técnicas não sejam disponíveis, o diagnóstico de EBA é possível se critérios 1, 3 e SSS com fluorescência do lado dérmico da clivagem presentes.

1 Características clínicas de EBA	Mecano-bolhosa Lesões em área de trauma, fragilidade cutânea, mília, cicatriz	Não mecano-bolhosa Bolha, placas urticariformes			
2 Exame anátomo-patológico	Mecano-bolhosa Pauci-inflamatória, fibrose, mília	Não mecano-bolhosa Infiltrado rico em neutrófilos, eosinófilos, linfócitos			
3 Imunofluorescência direta	Fluorescência linear na zona de membrana basal IgG > C3 > IgA > IgM				
4 Autoanticorpos circulantes	IEM eletrônica indireta	ELISA NCI e/ou NC2	IFI negativa Pele deficiente em colágeno VII	IFI Biochip Fluorescência positiva	Western blot Banda 290kDa e/ou 145kDa
5 Autoanticorpos <i>in situ</i>	IEM eletrônica direta	IFD Padrão em "u"	FOAM		
6 Salt-split skin	IFD Pele obtida do paciente Fluorescência do lado dérmico		IFI Pele humana normal Florescência do lado dérmico		

■ **Alta probabilidade:** quadro clínico + IFD + anticorpos circulantes positivos
■ **Definitivo** (se autoanticorpos circulantes negativos): IFD "u" ou IEM eletrônica direta ou FOAM
■ **Possível** (se autoanticorpos circulantes negativos): salt-split skin do lado dérmico

FOAM, *fluorescence overlay antigen mapping*; IEM, imunoeletromicroscopia eletrônica; IFD, imunofluorescência direta; IFI, imunofluorescência indireta; NC, domínio não-colagênico; SSS, *salt-split skin*

Figura 7 - Fluxograma para diagnóstico da epidermólise bolhosa adquirida pelo *International Bullous Disease Group* (2018) adaptado por Miyamoto *et al.*^{4,20}

Embora a histopatologia, IFD e IFI sejam exames laboratoriais amplamente disponíveis, permitindo o diagnóstico de uma DBAI subepidérmica, eles não são capazes de distinguir a EBA de outras doenças bolhosas do mesmo grupo²⁰. Em casos de suspeita de EBA, além da correlação clínico-patológica e IFD positiva, a recomendação atual é que o diagnóstico da doença seja confirmado por pelo menos um dos seguintes exames: imunomicroscopia eletrônica direta; padrão do serrilhado da IFD; FOAM ou detecção de anticorpos circulantes contra o COLVII, incluindo através do ELISA²⁰. Tais exames, em geral, estão disponíveis apenas em centros de pesquisa e serviços especializados, o que dificulta o diagnóstico adequado da doença.

3.6 Tratamento

A EBA é uma doença crônica de difícil tratamento, muitas vezes com refratariedade à diferentes modalidades terapêuticas. Pacientes com EBA comumente evoluem com episódios de exacerbação da doença, mesmo em tratamento, e formação de sequelas, com dificuldade de remissão a longo prazo^{65,117}. Além disso, não existem ensaios clínicos randomizados para tratamento da EBA, o que dificulta a seleção de terapia ideal¹¹⁸.

A avaliação multidisciplinar das mucosas é fundamental para definição de gravidade, tratamento e seguimento clínico de pacientes com EBA⁶⁵. O acometimento mucoso é uma das principais causas de morbidade da doença e tratamentos específicos de sequelas, como dilatação esofágica, podem ser necessários¹¹⁹.

Medidas gerais de suporte, incluindo drenagem de bolhas com agulha estéril, curativos não-aderentes, limpeza local e prevenção de traumas, são extremamente importantes e devem ser orientadas a todos os pacientes^{117,120}.

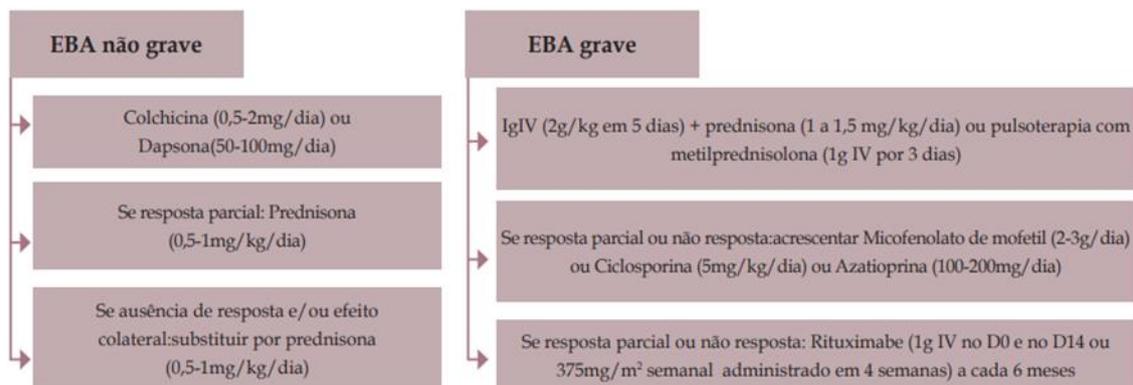
Corticosteroides sistêmicos são, em geral, primeira linha no tratamento da EBA⁵. Entretanto, diferentemente de outras DBAIs, a resposta terapêutica à corticoterapia é frequentemente limitada na EBA, principalmente na forma MB¹¹⁹. A maioria dos pacientes requer tratamento adjuvante para controle da doença ou prevenção de eventos adversos associados à corticoterapia crônica^{4,65}.

Agentes poupadores de corticoide incluem drogas anti-inflamatórias, como colchicina e dapsona, e agentes imunossupressores, a exemplo de metotrexato, azatioprina, ciclosporina, ciclofosfamida e micofenolato de mofetila^{5,65}. Outras opções terapêuticas, geralmente utilizadas em casos recalcitrantes de EBA, incluem fotoférese extracorpórea, imunoadsorção, imunoglobulina intravenosa (IgIV) e rituximabe (RTX)^{41,121–128}.

O RTX, um anticorpo monoclonal anti-CD20, tem mostrado resultados favoráveis em casos de EBA refratários à terapia imunossupressora convencional^{129–131}. Em uma meta-análise recente, IgIV e RTX foram associados à remissão completa (RC) na EBA em geral¹⁸. A análise de subgrupo por forma clínica da doença demonstrou que apenas a IgIV foi

associada à RC na EBA MB, enquanto que nenhum tratamento foi associado à RC na EBA não-MB¹⁸.

Guidelines internacionais são escassos na EBA e, em geral, diferem em recomendações para tratamento de primeira linha¹³². O consenso sobre tratamento de DBAIs da SBD recomenda como primeira opção de tratamento para a EBA não-grave a colchicina (0,5 – 2 mg/dia) ou a dapsona (50 – 100 mg/dia), com introdução de prednisona (0,5-1 mg/kg/dia) se resposta parcial ou ausente. Na EBA grave, a primeira opção terapêutica sugerida é a IgIV (2 g/kg em cinco dias) associada a corticosteroide sistêmico oral (1 - 1,5mg/kg/dia) ou pulsoterapia com metilprednisolona (1 g intravenoso por três dias). Medicação imunossupressora, como micofenolato de mofetila (2 – 3 g/dia), ciclosporina (5 mg/kg/dia) ou azatioprina (100-200 mg/dia), deve ser introduzida se resposta parcial ou ausente. O RTX é indicado em casos refratários da doença, na dose de 1 g IV no D0 e no D14, ou 375 mg/m² semanal administrados em quatro semanas a cada seis meses (Figura 8)⁶⁵.



D, dia; g, grama; IgIV, imunoglobulina intravenosa; kg, quilograma; m², metro ao quadrado; mg, miligrama

Figura 8 - Fluxograma de tratamento da epidermólise bolhosa adquirida pela Sociedade Brasileira de Dermatologia (2019)⁶⁵

3.7 Evolução e prognóstico

A EBA é uma doença crônica, caracterizada por períodos de exacerbação e remissão, e associada à morbidade significativa pelo risco de sequelas, que podem ocorrer subclínicamente^{4,5}. RC da doença é incomum e terapias de longa duração são necessárias na maioria dos casos⁵³.

O prognóstico da EBA está associado à sua gravidade no momento do diagnóstico e tratamento proposto correspondente, e casos graves da doença podem evoluir com cicatrização aberrante rápida, por vezes ameaçadora à vida⁵. Entretanto, o prognóstico destas formas pode potencialmente melhorar considerando o sucesso terapêutico da IgIV e RTX em diferentes estudos^{5,127}.

O prognóstico da EBA e resposta ao tratamento parecem ser mais favoráveis em crianças do que em adultos^{133,134}. Em um estudo retrospectivo com 30 pacientes adultos com EBA, RC foi atingida em 33% dos pacientes²². Em contrapartida, em uma revisão de 40 casos de EBA pediátrica, 65% dos casos apresentaram controle ou RC da doença¹³³.

4 MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de coorte ambispectiva, que consistiu em uma fase retrospectiva (2009 a março de 2018) e prospectiva (abril de 2018 a março de 2022).

4.2 Casuística

4.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes com o diagnóstico de EBA, atendidos no Ambulatório de DBAIs do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), no período de janeiro de 2009 a março de 2022. A confirmação diagnóstica foi realizada através de:

- (i) Características clínicas e histopatológicas compatíveis;
- (ii) IFD com fluorescência linear (IgA, IgG, IgM, C3) na ZMB;
- (iii) IFI com SSS (depósito de IgG linear no assoalho da clivagem);
- (iv) Autoanticorpo circulante detectado através de ELISA anti-COLVII.

4.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos pacientes:

- (i) Sem confirmação diagnóstica de EBA por ELISA;
- (ii) Sem material biológico armazenado no laboratório do HCFMUSP;
- (iii) Gestantes;
- (iv) Idade inferior a 18 anos.

4.3 Parecer de ética

Esse projeto de pesquisa foi submetido à avaliação, e aprovado (parecer 2.574.697; CAAE: 68014217.7.0000.0068) pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HCFMUSP (Anexo A).

4.4 Avaliação clínica dos indivíduos

Os pacientes foram avaliados em consultas e através da revisão de prontuários. A forma clínica foi definida de acordo com a classificação dos cinco fenótipos da EBA. A gravidade da doença foi definida com base no consenso sobre tratamento de dermatoses bolhosas autoimunes da SBD⁶⁵:

- EBA não grave: até 10% de envolvimento da superfície corpórea envolvida, sem alteração funcional (contratura em flexão dos dedos) e ausência de envolvimento mucoso grave (ocular, laríngeo ou esofágico);
- EBA grave: envolvimento da superfície corpórea maior que 10% e/ou presença de alteração funcional (contratura em flexão dos dedos) e/ou envolvimento mucoso grave (ocular, laríngeo ou esofágico) e/ou EBA não grave não responsiva ao tratamento proposto.

As mucosas ocular, nasal, oral, faríngea, laríngea, esofágica, genital e anal foram avaliadas por equipe multidisciplinar composta por dermatologistas, oftalmologistas, otorrinolaringologistas, gastroenterologistas e ginecologistas.

As opções de tratamento da EBA e a resposta terapêutica foram avaliadas em cada paciente. Tal resposta foi classificada de acordo com padrões de remissão adaptados do consenso sobre tratamento dos pênfigos^{64,135}:

- (i) RC sem terapia: ausência de novas lesões em paciente sem tratamento sistêmico por pelo menos dois meses;
- (ii) RC com terapia: ausência de lesões em paciente em terapia mínima por pelo menos dois meses. Terapia mínima é definida como prednisona ≤ 10 mg/dia (ou equivalente) e/ou terapia adjuvante mínima;
- (iii) RP sem terapia: lesões transientes que curam sem tratamento em paciente sem uso de terapia sistêmica;
- (iv) RP com terapia: poucas lesões em uso de terapia sistêmica;
- (v) RP com terapia mínima: lesões transientes enquanto o paciente faz uso de terapia mínima (prednisona < 10 mg/dia ou tratamento tópico);
- (vi) Reativação: surgimento de lesões que não curam espontaneamente ou extensão de lesões estabelecidas.

O diagnóstico de LESB foi excluído em todos os pacientes.

4.4.1 Avaliação oftalmológica

A avaliação oftalmológica foi realizada através de consultas regulares no Grupo de Córnea da Divisão de Oftalmologia do HCFMUSP, com realização de exame de biomicroscopia de segmento anterior com luz de fenda. Foi utilizado o corante fluoresceína 1%.

4.4.2 Avaliação otorrinolaringológica

O acometimento da mucosa oral e das vias aéreas superiores (fossas nasais, faringe e laringe) foi avaliado em consultas regulares no Ambulatório de Estomatologia do grupo Buco-Faringo-Laringologia da Divisão de Otorrinolaringologia do HCFMUSP. Os pacientes foram submetidos a exame clínico, incluindo oroscopia e rinoscopia, e nasofibrolaringoscopia flexível com nasofibrolaringoscópio (modelo Olympus 3,4 mm, Tipo ENF P4, Tóquio, Japão) ou laringoscópio rígido de 70° (Storz Hopkins, Tuttlingen, Alemanha), após anestesia com lidocaína tópica 2% nas fossas nasais e lidocaína tópica 10% na cavidade oral.

4.4.3 Avaliação gastroesofágica

O acometimento esofágico foi avaliado por meio de consultas regulares no Ambulatório de Esôfago da Divisão de Gastroenterologia do HCFMUSP e através da realização de endoscopia digestiva alta (EDA) com videoscópio Olympus série 180 ou ultrafino. Foram utilizadas anestesia tópica com lidocaína spray sem vasoconstritor e sedação intravenosa com midazolam (0,025 - 0,100 mg/kg), associado a fentanil (0,7 – 2,0 µg/kg) e propofol (0,5 – 1,0 mg/kg).

4.4.4 Avaliação ginecológica

O acometimento genital em pacientes do sexo feminino foi avaliado através de exame clínico e ginecológico pela equipe de Ginecologia do HCFMUSP.

4.4.5 Avaliação anal

O acometimento anal foi avaliado através de exame clínico pela equipe de Dermatologia do HCFMUSP.

4.5 Avaliação laboratorial dos indivíduos

4.5.1 Imunofluorescência direta

A análise de IFD foi realizada em espécime de pele perilesional previamente obtido por biópsia e estocado a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. A amostra foi crioseccionada em fragmentos com espessura de quatro micra. Posteriormente, cada lâmina foi incubada com anticorpo anti-humano primário conjugado ao isotiocianato de fluoresceína (*fluorescein isothiocyanate - goat anti-human-FITC*, Sigma, USA), diluído em azul de Evans (anti-IgG 1:130; anti-IgA 1:20; anti-IgM 1:20; anti-C3 1:20), por 30 minutos, em temperatura ambiente (TA), em câmara escura e úmida. Foi realizada a lavagem (20 minutos) com tampão trizma base/cálcio (*trizma base buffer/calcium - TBS- Ca^{2+}*). Em seguida, foram feitas secagem e montagem das lâminas, com leitura através de microscópio *Zeiss* de epiluminescência.

4.5.2 Imunofluorescência indireta

A análise de IFI foi realizada em amostra de soro previamente coletada e armazenada a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. A pele de prepúcio humano normal foi utilizada como substrato, sendo seccionada em um criostato em fragmentos de quatro micra de espessura, colocados em lâminas silanizadas. O soro testado, diluído a partir de 1:20 até negatificação da sorologia, foi incubado com o substrato por 30 minutos. Em seguida, lavagem (20 minutos) com TBS- Ca^{2+} foi realizada. Depois, foi feita incubação com anticorpo anti-humano secundário (*goat anti-human-FITC*, Sigma, USA), diluído em azul de Evans (anti-IgG 1:130; anti-IgA 1:20; anti-IgM 1:20). Em seguida, nova lavagem (20 minutos) com TBS- Ca^{2+} foi realizada. Por fim, as lâminas foram submetidas à secagem e montagem, com leitura através de microscópio *Zeiss* de epiluminescência.

4.5.3 Imunofluorescência Indireta com subclasses de IgG

A detecção de subclasses de imunoglobulinas do tipo IgG foi realizada por IFI em amostra de soro dos pacientes. O soro foi diluído inicialmente a 1:20

em TBS-Ca²⁺. A pele de prepúcio humano normal foi utilizada como substrato para reação, sendo crioseccionada em fragmentos de quatro micra de espessura e colocada em lâminas silanizadas. Foi realizada a incubação com o soro por 30 minutos em câmara úmida, em TA, e protegidas da luz. A seguir, as lâminas foram lavadas em TBS-Ca²⁺ por 20 minutos com posterior incubação com anticorpo secundário anti-humano das subclasses IgG1 (1:500), IgG2 (1:500), IgG3 (1:500) e IgG4 (1:1000), produzido em camundongos imunizados (Sigma, Saint Louis, MO, USA - Quadro 1). A seguir, as lâminas foram novamente lavadas em TBS-Ca²⁺ por 20 minutos. O imunocomplexo formado foi detectado e localizado utilizando-se a imunoglobulina da classe IgG anti-camundongo conjugada com FITC (Sigma, USA), diluída em azul de Evans na razão de 1:30. Os cortes permaneceram com o conjugado por 30 minutos, em câmara úmida em TA, protegidos da luz. Em seguida, as lâminas foram lavadas em TBS-Ca²⁺ por 20 minutos e posteriormente montadas com glicerina tamponada (pH 8,5 a 9,0) e lamínula de vidro. A leitura foi realizada em microscópio Zeiss de epiluminescência, com o resultado dado em título, até diluição de 1:160.

Quadro 1 - Relação de subclasses de IgG utilizadas na avaliação de amostras de soro de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

Anticorpo	Origem	Marca e Referência	Diluição
Monoclonal anti-IgG1	Camundongo	Sigma I9388	1:500
Monoclonal anti-IgG2	Camundongo	Sigma I9513	1:500
Monoclonal anti-IgG3	Camundongo	Sigma I7260	1:500
Monoclonal anti-IgG4	Camundongo	Sigma I7385	1:1000
Anti-camundongo IgG-FITC	Cabra	Sigma F8521	1:30

FITC, Isotiocianato de fluoresceína; IgG, imunoglobulina G

4.5.4 *Salt-split skin* indireto

Após a limpeza para retirada de excesso de tecido conjuntivo, a pele humana (prepúcio) foi acondicionada em recipiente contendo 50 ml de solução de NaCl 1 M e levada à refrigeração (2-8 °C). A solução de NaCl foi trocada a

cada 24 horas por três dias. Após uma média de 72 horas, obteve-se a pele com *split* (separação artificial da pele), que foi crioseccionada na espessura de quatro micra. Sobre o corte, o soro do paciente diluído na proporção de 1:20 em TBS-Ca²⁺ foi adicionado por um período de 30 minutos. A seguir, lavagem com TBS-Ca²⁺ foi realizada por 20 minutos seguida por incubação com o anticorpo anti-humano IgG conjugado a FITC por 30 minutos. Após a última lavagem de 20 minutos, as lâminas foram montadas e lidas em microscópio Zeiss de epiluminescência. Observou-se a presença de fluorescência do lado dérmico ou epidérmico da clivagem provocada (resultado positivo) ou ausência de fluorescência (resultado negativo).

4.5.5 ELISA (dosagem de anticorpos anti-COLVII)

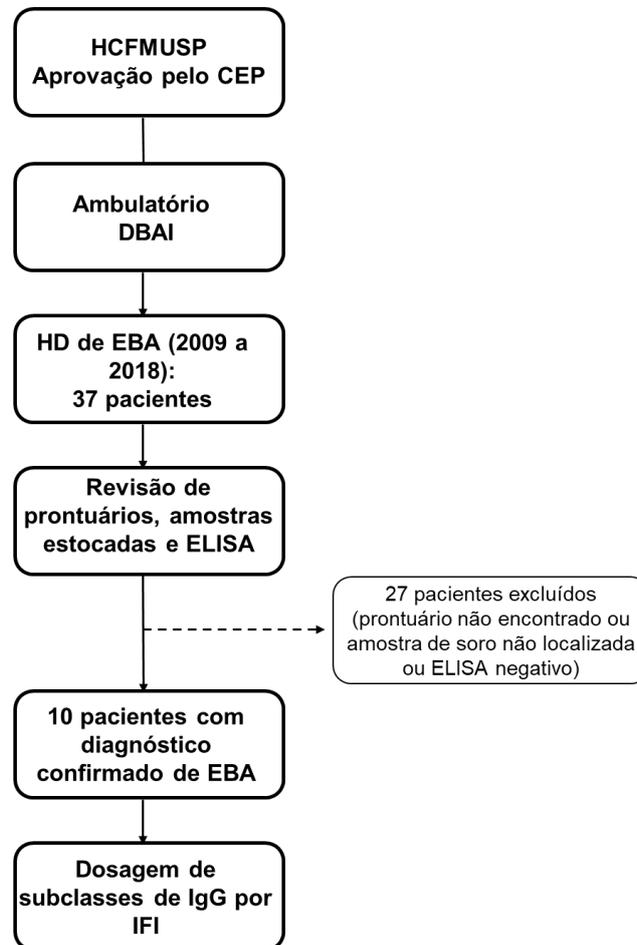
A técnica de ELISA foi realizada com o *Anti-Skin Profile ELISA Kit* (MBL, Nagoya, Japão) (Quadro 2), que permite a detecção qualitativa de anticorpos anti-IgG circulantes contra Dsg1, Dsg3, BP180, BP230 e COLVII (antígeno recombinante: NC1 e NC2). Para o presente estudo, foram especificados os resultados referentes à dosagem de anticorpos anti-COLVII, confirmatória para o diagnóstico de EBA.

O procedimento foi iniciado com a incubação do soro dos pacientes nos micropoços revestidos com antígeno de A a H (100 µl em cada), cobertos com um selador por 30 minutos em TA. Em seguida, a lavagem foi realizada quatro vezes. A solução de conjugado (100 µl) foi adicionada aos micropoços, que foram cobertos com um selador por 30 minutos em TA e lavados na sequência. Posteriormente, o substrato (100 µl) foi adicionado por 15 minutos em TA. Por fim, a solução *stop* (100 µl) foi acrescentada, com leitura da absorbância de cada poço a 450 nm. O teste foi considerado positivo se ≥ 15 .

Quadro 2 - *Kit* ELISA utilizado na avaliação de amostras de soro de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

Kit	Marca	Código
<i>Anti-Skin Profile ELISA Kit</i> (RUO), 8 x 12 wells	MBL <i>International</i>	RG-7115R

4.6 Fluxograma do estudo



CEP, Comitê de Ética em Pesquisa; DBAI, dermatose bolhosa autoimune; EBA, epidermólise bolhosa adquirida; ELISA, ensaio de imunoadsorção enzimática; HCFMUSP, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; HD, hipótese diagnóstica; IFI, imunofluorescência indireta; IgG, imunoglobulina G

Figura 9 - Fluxograma do estudo

4.7 Análise estatística

Os dados foram armazenados e organizados no software *Excel® for Windows*. Variáveis categóricas foram descritas com número absoluto e frequência relativa (%), e variáveis contínuas foram descritas com apresentação da mediana e percentis 25 e 75, já que apresentaram distribuição não normal. Não foi realizada análise inferencial devido ao restrito tamanho amostral.

5 RESULTADOS

5.1 Dados epidemiológicos

Foram avaliados 10 pacientes, dos quais 5/10 (50%) eram do sexo feminino. A idade mediana ao início dos sintomas foi de 51 anos (42 – 57 anos). O intervalo mediano entre início dos sintomas e o diagnóstico de EBA foi de 20 meses (9 – 44 meses) e o período mediano de seguimento foi de 98 meses (73 – 130 meses) (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados clínicos de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

PCT	Sexo	Idade ao início do quadro clínico (anos)	Intervalo entre início dos sintomas e diagnóstico (meses)	Tempo de seguimento (meses)	Forma clínica	Acometimento mucoso ativo*	Acometimento mucoso sequelar*
1	M	31	133	44	MB	Or, A, E, Oc	Oc
2	M	48	27	104	MB	Or, Oc, L, A, Fa	Ausente
3	F	57	12	135	MB	Or, N, L, Fa, G	Or
4	M	58	10	91	MB	Or, Fa, L, N, E	N, Or
5	F	51	36	82	MB	Or, Fa, L, E	Or, Fa, E
6	F	46	66	47	Não-MB	Or, L, E, Fa	E, Or
7	M	60	7	90	MB	Or, Oc, E, L, N, Fa	Oc, N, L, Fa, E
8	F	22	32	128	MB	Or, G, E, A	Or, E
9	M	51	5	114	MB	Or, Fa, L, E, Oc	E, Oc, L
10	F	52	11	156	MB	Or, G, Fa, E, A, N, L	E, Or, G

A, mucosa anal; E, mucosa esofágica; F, feminino; Fa, mucosa faríngea; G, mucosa genital; L, mucosa laringea; M, masculino; MB, mecanobolhosa; N, mucosa nasal; Oc, mucosa ocular; Or, mucosa oral; PCT, paciente

*Acometimento mucoso representado na ordem de detecção pela avaliação multidisciplinar

5.2 Dados clínicos

No momento do diagnóstico, a forma MB de EBA foi a predominante (n = 9; 90%), com 1/10 caso (10%) de EBA não-clássica (forma PB-símile) (Tabela 1).

Mudança na forma clínica da doença foi observada em quatro pacientes (40%) (#2, #5, #6, #10) ao longo do seguimento clínico (Tabela 2). Dois pacientes com EBA MB (#2, #5) evoluíram com lesões transitórias do tipo PB-símile, uma paciente com EBA MB (#10) evoluiu com surto isolado de PB e a única paciente com EBA PB-símile inicial (#6) evoluiu com a forma PMM-símile. Após aproximadamente oito anos do início da doença clássica, o paciente #2 apresentou surto transitório de placas eritematosas urticadas encimadas por bolhas em tronco, sem exames complementares realizados na ocasião por seguimento irregular. A paciente #5 apresentou vesículas, bolhas e placas eritematoedematosas na região cervical, tórax e abdome por cerca de dois meses após aproximadamente dez anos do início da EBA clássica. Já a paciente #6 apresentou quadro inicial de bolhas tensas e erosões em região axilar e inguinal, com prurido associado, e lesões orais, evoluindo com quadro predominantemente mucoso após aproximadamente dois anos do início do quadro. Além disso, a paciente #10 com EBA MB apresentou um quadro transitório de placas eritematosas urticadas, bolhas e erosões nos membros e dorso após aproximadamente dez anos do início da doença. Exames complementares revelaram clivagem e bolha subepidérmica paucicelular associada à dermatite perivascular superficial leve com alguns eosinófilos, IFI com fluorescência na ZMB com anti-IgG e SSS indireto com fluorescência no lado epidérmico. As lesões resolveram-se após aproximadamente dois meses, e a interpretação para a evolução clínica foi de surto isolado de PB em paciente com EBA clássica.

Tabela 2 - Mudança na forma clínica de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

PCT	Forma clínica inicial	Tipo de mudança clínica	Duração (meses)	IFD	SSS indireto
2	MB	Transitória (lesões PB-símile)	3	NA*	NA*
5	MB	Transitória (lesões PB-símile)	2	IgG, IgM, IgA, C3	Fluorescência dérmica
6	Não-MB (PB-símile)	Permanente (PMM-símile)	NA	IgG, IgM, IgA, C3	Fluorescência dérmica
10	MB	Transitória (PB – <i>epitope spreading</i>)	2	NA**	Fluorescência epidérmica

IFD, imunofluorescência direta; IgA, imunoglobulina A; IgG, imunoglobulina G; IgM, imunoglobulina M; MB, mecanobolhosa; NA, não aplicável; PB, penfigoide bolhoso; PCT, paciente; PMM, penfigoide de membranas mucosas; SSS, *salt-split skin*

* Exames não coletados (seguimento irregular)

** Amostra insuficiente

Na primeira consulta dermatológica, oito pacientes (#1, #3, #4, #5, #6, #8, #9, #10) foram classificados como EBA não-grave, e dois pacientes (#2, #7) como EBA grave. A primeira avaliação multidisciplinar das mucosas ocular, laringofaríngea e esofágica foi realizada com mediana de 4 meses (1 – 16) após a primeira consulta no ambulatório. Dentre os oito pacientes classificados inicialmente com a forma não-grave da doença, cinco (#1, #5, #8, #9, #10) foram diagnosticados com EBA grave após primeira avaliação multidisciplinar. Os demais pacientes (#3, #4, #6) evoluíram com EBA grave nas avaliações subsequentes.

Todos os pacientes apresentaram acometimento cutâneo relacionado à EBA (Figura 10). Nove (90%) pacientes apresentaram sequelas cutâneas, sendo as principais alterações cicatrizes atróficas (n = 9/9; 100%), anoníquia (n = 6/9; 66%), contratura em flexão das mãos (n = 3/9; 33%) e alopecia cicatricial (n = 3/9; 33%) (Figuras 11 e 12).



Figura 10 - Comprometimento cutâneo da epidermólise bolhosa adquirida. (A) Forma mecanobolhosa com erosões, crostas e cicatrizes atróficas e hipercrômicas nos joelhos e região pré-tibial. (B) Forma mecanobolhosa com erosões e vesículas no dorso dos pés. (C) Forma penfigoide bolhoso-símile com pápulas eritematoedematosas encimadas por vesículas, bolhas e erosões no tronco. (D) Forma penfigoide bolhoso-símile com pápulas acastanhadas, erosões e escoriações em axila direita



Figura 11 - Evolução de seqüela cutânea em paciente com epidermólise bolhosa adquirida. (A e B) Erosões, cicatrizes atróficas e milia em mãos de paciente após 1 ano do início do quadro. (C e D) Evolução com formação de contração em flexão dos dedos, cicatrizes atróficas e anoníquia após 10 anos



Figura 12 - Sequelas cutâneas da epidermólise bolhosa adquirida. (A) Erosões, cicatrizes atróficas e milia nos pés de paciente após 1 ano do início do quadro. (B) Evolução com anoníquia e atrofia generalizada após 8 anos. (C) Cicatrizes atróficas e milia em cotovelos. (D) Placa com alopecia cicatricial

Acometimento mucoso ativo foi diagnosticado em todos os pacientes ao longo do seguimento clínico, com pelo menos quatro mucosas envolvidas em cada indivíduo (Tabela 1). Todos (100%) os pacientes apresentaram lesões ativas orais (Figura 13). Acometimento otorrinolaringológico ativo foi identificado em 8/10 (80%) pacientes. Lesões nasais ocorreram em 4/8 (50%) pacientes, com presença de crostas em septo e cornetos nasais ($n = 2/4$; 50%) e bolhas em coanas ($n = 1/4$; 25%). A descrição da lesão elementar nasal de uma das pacientes não foi especificada. Lesões faríngeas foram diagnosticadas em 8/8 (100%) pacientes, com descrição de processo inflamatório não especificado em hipofaringe ($n = 5/8$; 63%), exulceração em hipofaringe ($n = 2/8$; 25%) e bolhas em orofaringe ($n = 1/8$ [13%]). Lesões laríngeas ocorreram em 8/8 (100%) pacientes, com diferentes regiões anatômicas acometidas (epiglote: $n = 7/8$ [88%]; aritenoides: $n = 4/8$ [50%]; região interaritenóidea: $n = 3/8$ [38%]; prega ariepiglótica: $n = 2/8$ [25%]; retrocricóide: $n = 1/8$ [13%]). Acometimento esofágico ativo foi detectado em 8/10 (80%) casos, com descrição de úlcera ($n = 4/8$; 50%), área descamativa ($n = 4/8$; 50%) e mucosa de aspecto friável ($n = 3/8$; 38%) na EDA. Dentre esses

últimos pacientes, o paciente #1 apresentou lesão descamativa em esôfago proximal, que foi submetida à análise histopatológica e IFD, com evidência de esofagite crônica discreta, e deposição de IgG e C3 na ZMB, respectivamente. Lesões oculares ativas foram observadas em 4/10 (40%) pacientes, a exemplo de erosões conjuntivais (n = 4/4; 100%) e úlcera de córnea (n = 1/4; 25%). Envolvimento ginecológico ocorreu em 3/5 (60%) pacientes, com presença de erosões vaginais (n = 2/3; 66%) e em pequenos e grandes lábios (n = 1/3; 33%). Erosões anais foram descritas em 4/10 (40%) casos (Figura 14).

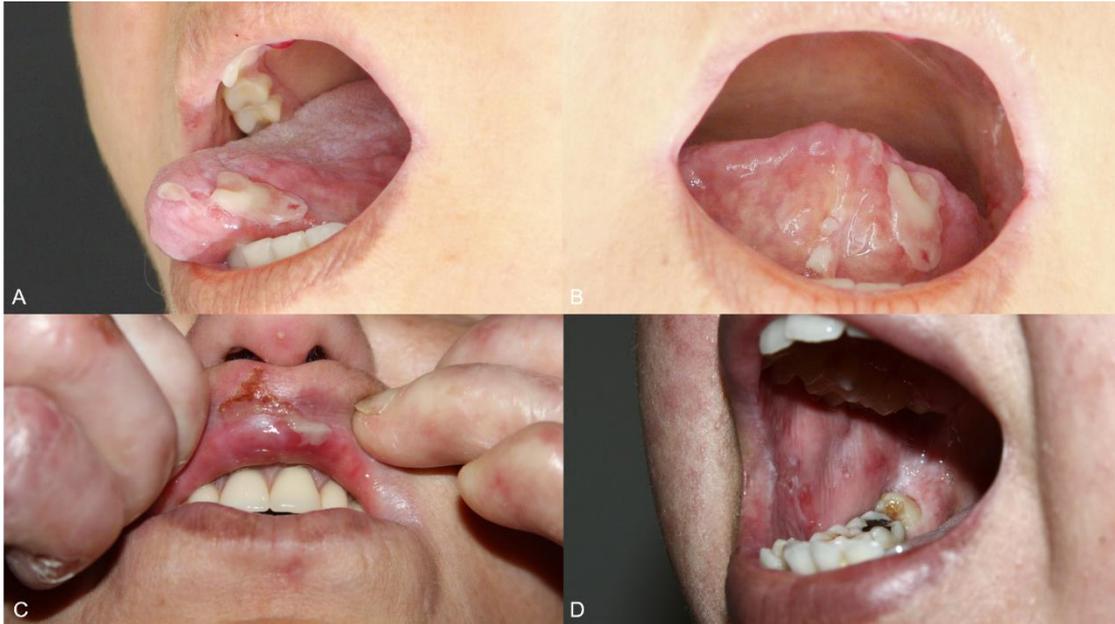


Figura 13 - Lesões orais da epidermólise bolhosa adquirida. (A e B) Erosões na lateral e ventre da língua, (C) Mucosa labial e (D) Mucosa jugal

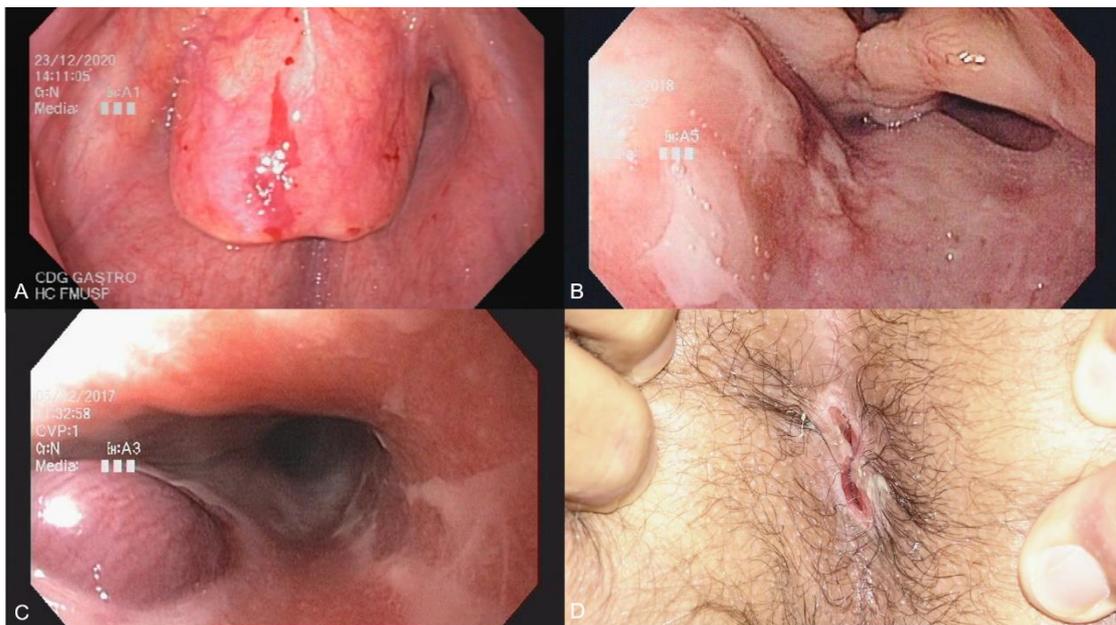


Figura 14 - Comprometimento mucoso ativo da epidermólise bolhosa adquirida. (A) Erosão na epiglote. (B) Erosões na parede posterior da faringe. (C) Bolha de conteúdo hemorrágico e úlcera na mucosa esofágica. (D) Erosão anal

Sequelas mucosas ocorreram em 9/10 (90%) pacientes durante o seguimento clínico (Tabela 1). Dois pacientes (#5, #7; n = 2/9; 22%) foram diagnosticados com sequelas já na primeira avaliação multidisciplinar, ambos com lesões esofágicas e um (#7) com sequelas laríngea e ocular. Sequelas orais foram descritas em 6/9 (67%) pacientes, com cicatriz na língua (n = 4/6; 67%), gengiva (n = 1/6; 17%) e palato (n = 1/6; 17%). Dentre os pacientes com cicatriz na língua, uma paciente (#10) evoluiu com dificuldade de protusão, mastigação e fala. Sequelas otorrinolaringológicas ocorreram em 4/9 (44%) pacientes, com sinéquia em fossa nasal (n = 2/4; 50%), faríngea (n = 2/4; 50%) e laríngea (n = 2/4; 50%), sem comprometimento do fluxo aéreo. Sequelas esofágicas foram detectadas em 6/9 (67%) pacientes, com presença de estenose (n = 5/6; 83%) e subestenose (n = 3/6; 50%). Todas as lesões estavam localizadas no terço superior do esôfago. Durante a realização de EDA nos pacientes do presente estudo, dificuldade na progressão do aparelho foi observada em 3/10 (30%), com interrupção do exame por risco de laceração do órgão em dois destes. Devido ao quadro de estenose, 3/5 (60%) pacientes necessitaram de dilatação esofágica, dentre os quais uma paciente evoluiu com necessidade de gastrostomia cirúrgica temporária. Sequelas oculares foram identificadas em 3/9 (33%) casos, com cicatriz conjuntival em todos. Dois (n = 2/3; 67%) pacientes apresentaram obstrução do ducto lacrimal, entrópico, triquíase e simbléfaro, com necessidade de cirurgia plástica ocular. Um (n = 1/3; 33%) paciente evoluiu com leucoma corneano e amaurose. Sequela ginecológica, com atrofia de pequenos lábios e fimose do clitóris, foi identificada em uma (11%) paciente. Sequelas anais não foram identificadas (Figura 15). Um resumo do acometimento cutâneo e mucoso pode ser encontrado na Figura 16.

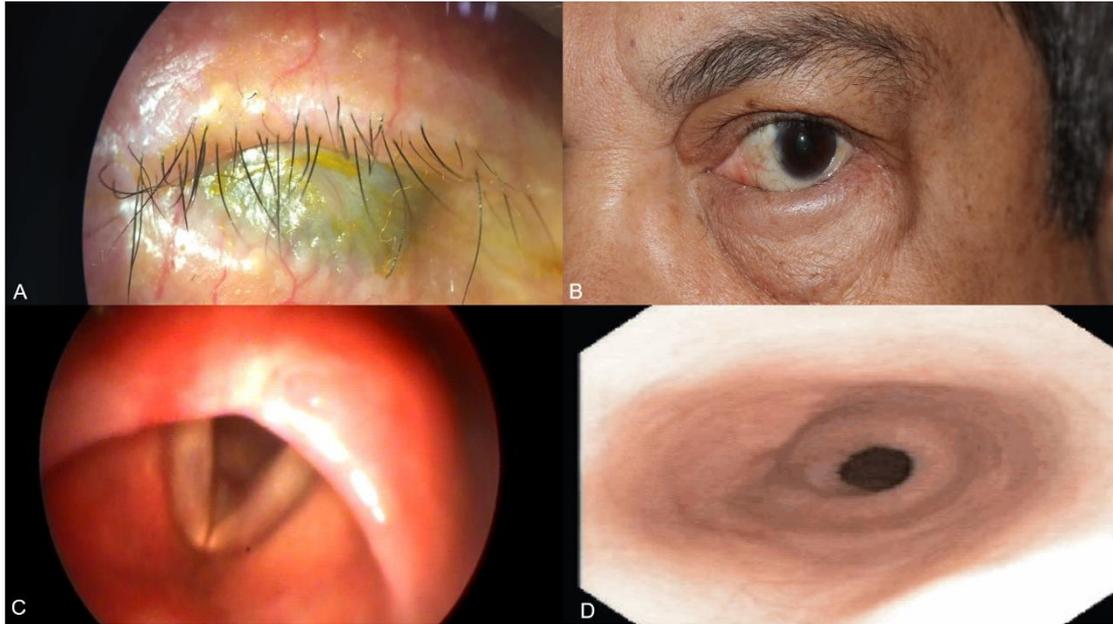
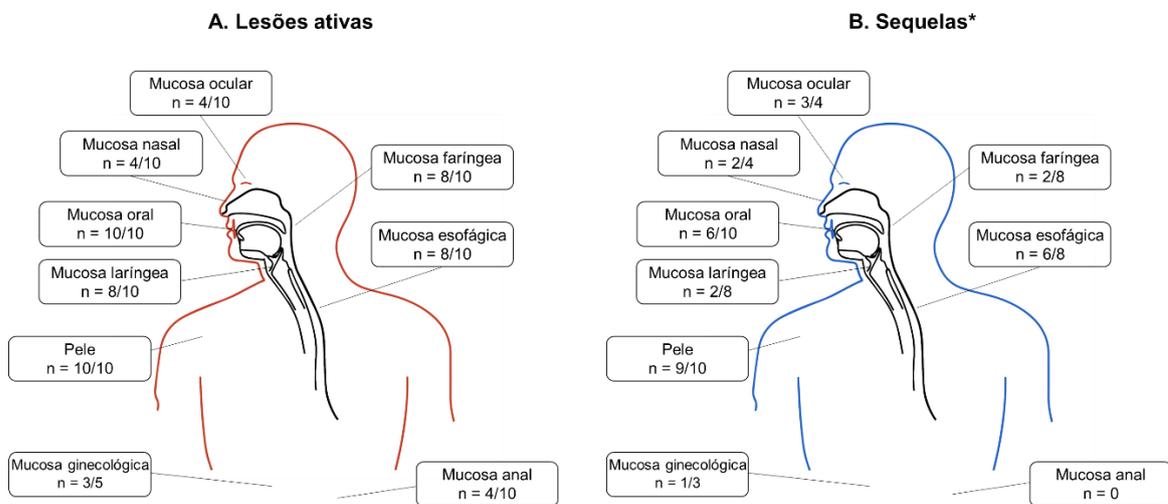


Figura 15 - Sequelas mucosas da epidermólise bolhosa adquirida. (A) Leucoma corneano total e simbléfaro no olho esquerdo. (B) Entrópio de olho esquerdo. (C) Sinéquia na região posterior da laringe. (D) Estenose esofágica



n, número de pacientes

* O número de pacientes com sequelas foi descrito em relação aos que apresentaram lesões ativas

Figura 16 - Resumo do acometimento cutâneo e mucoso nos pacientes com epidermólise bolhosa adquirida. (A) Lesões ativas. (B) Sequelas

5.3 Dados laboratoriais

A análise histopatológica no momento do diagnóstico revelou clivagem subepidérmica em todos os casos, com diferentes tipos de infiltrado inflamatório descritos (Figura 17). A análise de IFD revelou diferentes padrões de deposição na ZMB: IgG (10/10), C3 (9/10), IgM (6/10) e IgA (6/10) (Figura 18, Tabela 3).

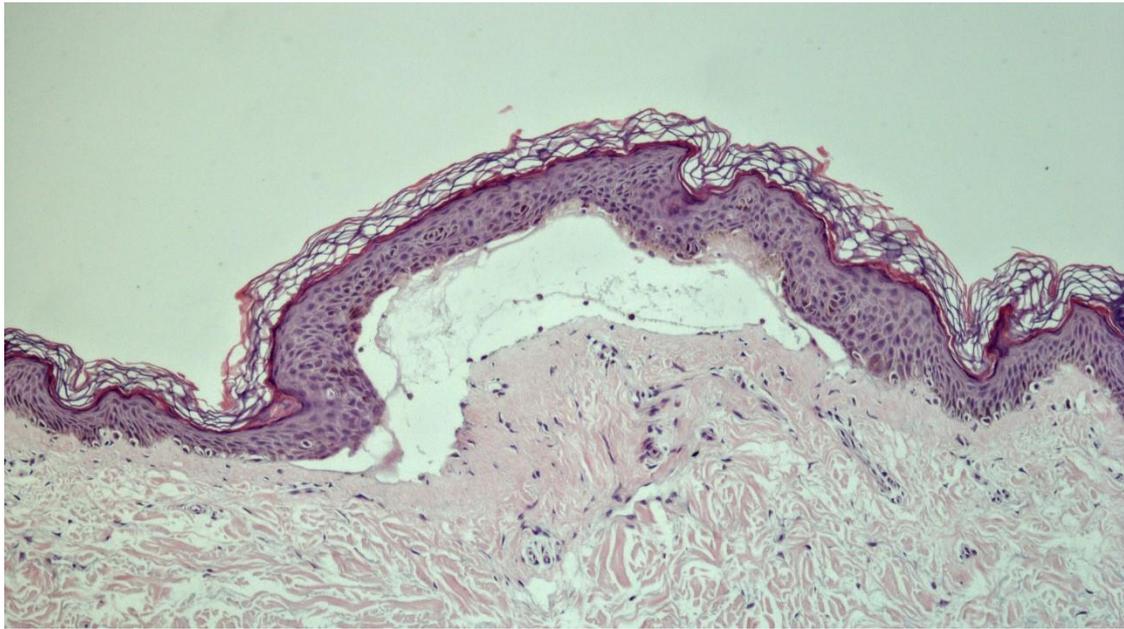


Figura 17 - Exame histopatológico da epidermólise bolhosa adquirida com coloração por hematoxilina-eosina. Clivagem subepidérmica com infiltrado inflamatório paucicelular (x200)

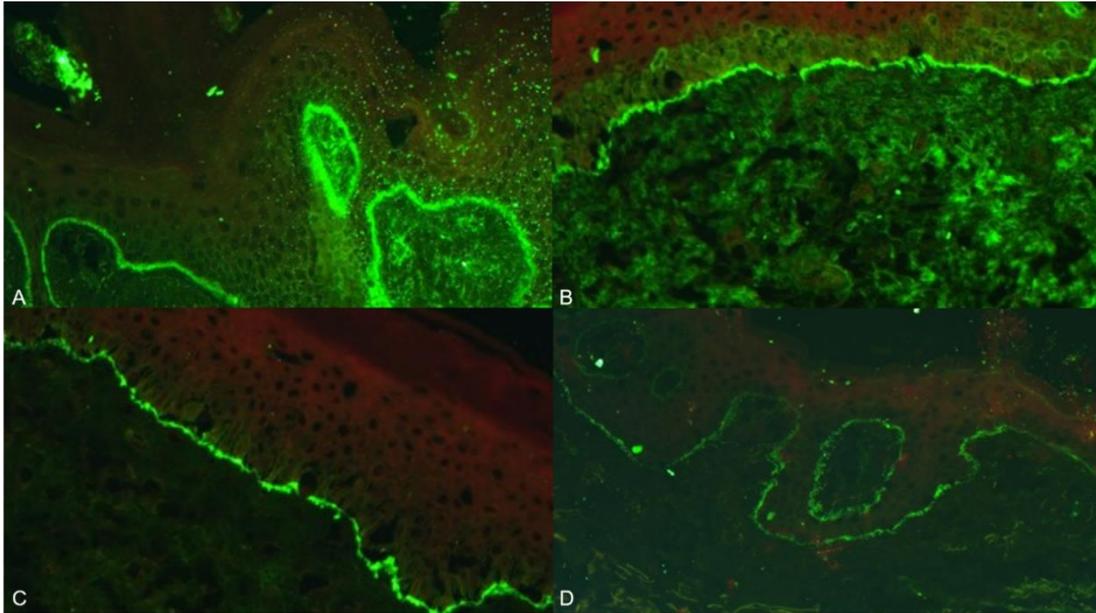


Figura 18 - Imunofluorescência direta na epidermólise bolhosa adquirida. Fluorescência linear intensa e contínua na zona da membrana basal com: (A) anti-IgG; (B) anti-C3; (C) anti-IgM e (D) anti-IgA (x400)
IgA, imunoglobulina A; IgG, imunoglobulina G; IgM, imunoglobulina M

Tabela 3 - Dados laboratoriais de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

PCT	AP	IFD	IFI IgG Total	IFI Subclasse de IgG				ELISA*
				IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	
1	Pauci-inflamatório	IgG, C3, IgM, IgA	> 1/20	-	-	-	1/40	119,1
2	Infiltrado inflamatório rico em neutrófilos e alguns eosinófilos	IgG, IgM	> 1/20	-	-	>1/160	1/160	133,7
3	Leve infiltrado inflamatório linfomononuclear	IgG, C3, IgM, IgA	> 1/20	>1/160	1/20	1/40	>1/160	153,0
4	Pauci-inflamatório	IgG, C3, IgM, IgA	> 1/20	1/80	1/40	1/160	>1/160	124,9
5	Intenso infiltrado inflamatório misto	IgG, C3, IgM, IgA	> 1/20	-	1/160	-	-	33,7
6	Infiltrado inflamatório com neutrófilos e eosinófilos	IgG, C3, IgM, IgA	-	-	-	-	1/20	16,0
7	Exsudato hemorrágico	IgG, C3	> 1/20	-	-	-	1/40	18,0
8	Leve infiltrado inflamatório linfocitário com alguns neutrófilos	IgG, C3	> 1/20	>1/160	1/40	-	>1/160	102,2
9	Pauci-inflamatório	IgG, C3	> 1/20	1/160	-	-	>1/160	93,4
10	Discreto infiltrado linfomononuclear	IgG, C3, IgA	> 1/20	1/160	1/40	1/80	>1/160	62,4

AP, exame anatomopatológico; ELISA, ensaio de imunoadsorção enzimática; IFD, imunofluorescência direta; IFI, imunofluorescência indireta; IgA, imunoglobulina A; IgG, imunoglobulina G; IgM, imunoglobulina M; PCT, paciente; >, maior que; -, negativo

*ELISA positivo se ≥ 15

Nove pacientes (90%) apresentaram IFI positiva, sendo que todos apresentaram conjugado anti-IgG positivo e dois (#8 e #10) tiveram conjugado anti-IgM associado. O exame de SSS indireto revelou deposição dérmica de IgG nos 10 pacientes estudados (Figura 19).

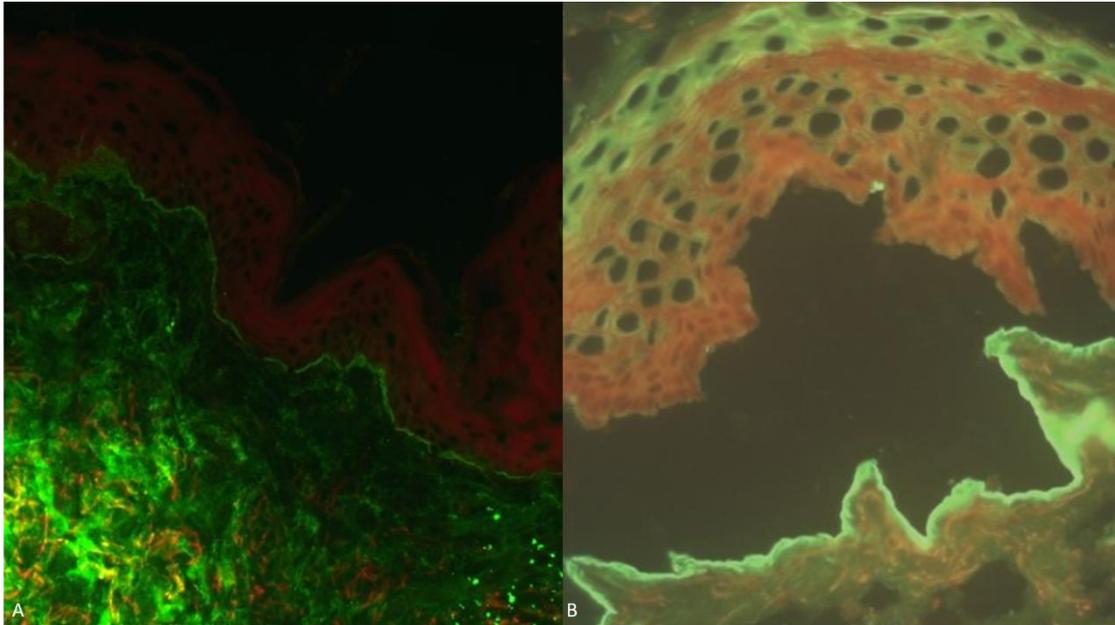


Figura 19 - Imunofluorescência indireta na epidermólise bolhosa adquirida. (A) Fluorescência linear na zona da membrana basal com anti-IgG (x400). (B) Fluorescência no lado dérmico da clivagem com a técnica de *salt-split skin* com anti-IgG (x400)
IgG, imunoglobulina G

A análise de subclasses de IgG revelou positividade para IgG4 em 90% dos pacientes; IgG1 e IgG2 foram positivas em 50% dos casos, enquanto que IgG3 foi positiva em 40% dos casos (Figura 20, Tabela 3). A realização do teste de ELISA e identificação das subclasses de IgG foram realizadas na mesma amostra, coletada em uma mediana de 65 meses (26 – 105 meses) após o início dos sintomas. Todos os pacientes apresentaram sinais de atividade da doença na ocasião.

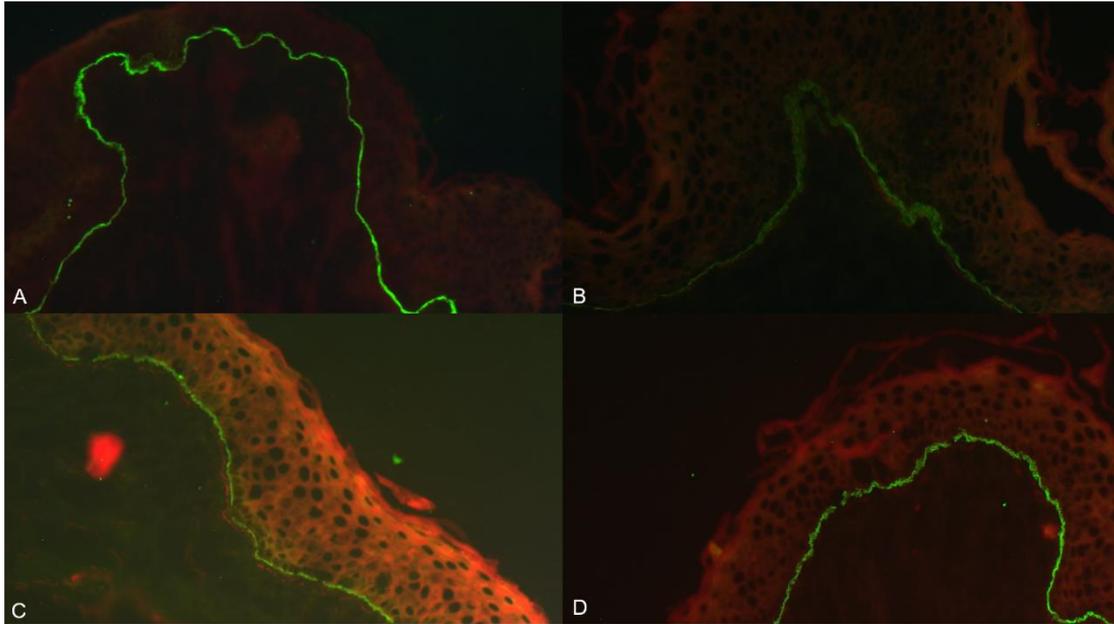


Figura 20 - Subclasses de IgG por imunofluorescência indireta na epidermólise bolhosa adquirida. Fluorescência na zona de membrana basal por: (A) IgG1; (B) IgG2; (C) IgG3 e (D) IgG4 (x200)
IgG, imunoglobulina G

O fator anti-núcleo (FAN) foi dosado em 9/10 (90%) dos pacientes, todos negativos. Nenhum paciente apresentou critérios diagnósticos para LESB.

5.4 Tratamento

O tratamento da EBA foi guiado conforme a gravidade da doença. Os medicamentos utilizados ao longo do seguimento foram: prednisona (n = 10; 100%); MMF (n = 9; 90%); rituximabe (n = 7; 70%); dapsona (n = 5; 50%); colchicina (n = 2; 20%); azatioprina (n = 2; 20%) e ciclosporina (n = 2; 20%) (Tabela 4).

Tabela 4 - Tratamento em pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

PCT	Droga	Tratamento prévio		Motivo de descontinuação	Tratamento atual	Resposta ao tratamento (ΔT - meses)
		Dose máxima atingida				
1	PDN	0,75 mg/kg/dia		NA	Prednisona (↓)	RC com terapia (86 meses)
2	PDN	1 mg/kg/dia		NA	Prednisona (↓) Dapsona (=)	Reativação (104 meses)
	AZA	150 mg/dia		Uso irregular		
	DDS	100 mg/dia		NA		
	MMF	3 g/dia		Suspeita de nevo eruptivo		
3	PDN	1,3 mg/kg/dia		Melhora clínica	MMF (↓)	RC com terapia (120 meses)
	MMF	3 g/dia		NA		
4	PDN	1,5 mg/kg/dia		NA	Prednisona (↓)	RP com terapia (92 meses)
	MMF	3 g/dia		Melhora clínica		
	RTX (1C)	PAR		Melhora clínica		
5	PDN	1 mg/kg/dia		Melhora clínica	Sem medicação atual	RC sem terapia (60 meses)
	DDS	100 mg/dia		Anemia		
	MMF	3 g/dia		Melhora clínica		
	RTX (2C)	PAR		Melhora clínica		
6	PDN	1 mg/kg/dia		NA	Prednisona (↓) Dapsona (=)	RP com terapia (88 meses)
	DDS	100 mg/dia		NA		
	MMF	3 g/dia		Indisponibilidade		
	RTX (1C)	PAR		Aguarda novo ciclo		
7	PDN	1 mg/kg/dia		Melhora clínica	Sem medicação atual	RC sem terapia (66 meses)
	MMF	3 g/dia		Linfopenia		
	RTX (4C)	PAR		Melhora clínica		
8	PDN	0,8 mg/kg/dia		Melhora clínica	Sem medicação atual	RC sem terapia (138 meses)
	DDS	100 mg/dia		Anemia		
	MMF	3 g/dia		Falha terapêutica		
	CyA	5 mg/kg/dia		↑ creatinina e PA		
	RTX (4C)	PL (1C) + PAR (3C)		Melhora clínica		
9	PDN	1 mg/kg/dia		NA	Prednisona (↓) Colchicina (=)	RP com terapia (114 meses)
	AZA	150 mg/dia		Falha terapêutica		
	MMF	3 g/dia		Linfopenia		
	RTX (4C)	PAR		Melhora clínica		
	Colchicina	1 mg/dia		NA		
10	PDN	1 mg/kg/dia		NA	Prednisona (↓) Colchicina (=)	RC com terapia (156 meses)
	DDS	100 mg/dia		Anemia		
	CyA	250 mg/dia		Falha terapêutica		
	MMF	2,5 g /dia		Falha terapêutica		
	RTX (9C)	PL (2C) + PAR (7C)		Melhora clínica		
	Colchicina	1,5 mg/dia		NA		

AZA, Azatioprina; C, ciclo; CyA, Ciclosporina; DDS, Dapsona; g, grama; kg, quilograma; mg, miligrama; MMF, Micofenolato de mofetila; NA, não aplicável; PA, pressão arterial; PAR, protocolo artrite reumatoide; PCT, paciente; PDN, Prednisona; PL, protocolo linfoma; RC, remissão completa; RP, remissão parcial; RTX, Rituximabe; ΔT, intervalo de tempo entre primeira consulta e momento da avaliação da resposta ao tratamento; ↑, aumento; ↓, dose em redução; =, dose mantida

Após a primeira consulta dermatológica, os pacientes classificados como EBA não-grave fizeram uso inicial de prednisona (#1, #3, #4, #9) ou prednisona associada à dapsona (#5, #6, #8, #10). Dentre os pacientes

classificados como EBA grave, o paciente #2 fez uso inicial de prednisona associada à azatioprina, suspensa por uso irregular; e o paciente #7 recebeu prednisona associada ao MMF, suspensa por linfopenia.

Durante o seguimento, todos os pacientes evoluíram com comprometimento mucoso grave. Com exceção do paciente #1, que atingiu RC com prednisona em monoterapia, os demais necessitaram de tratamento adjuvante com imunossuppressores (Anexo B, Figuras 21 a 30).

Como terapêutica imunossupressora complementar nos pacientes refratários ao tratamento inicial, o MMF foi utilizado em todos os pacientes, dos quais um apresentou RC (#3), dois cursaram com RP (#4, #5), um usou a medicação por apenas um mês por indisponibilidade na farmácia (#6), dois apresentaram falha terapêutica (#8, #10) e dois tiveram a medicação suspensa por evento adverso - suspeita de nevo eruptivo associado à imunossupressão (#2) e linfopenia (#9). Sete pacientes (#4, #5, #6, #7, #8, #9, #10) utilizaram RTX. Dois pacientes utilizaram ciclosporina, suspensa por falha terapêutica (#10) e aumento de creatinina e pressão arterial (#8). Azatioprina foi utilizada em um paciente (#9), com falha terapêutica. Colchicina foi adicionada em dois pacientes (#9, #10) como adjuvante para controle do quadro cutâneo.

Os três (30%) pacientes que não utilizaram RTX (#1, #2, #3) apresentaram controle da doença com outras opções terapêuticas, sem indicação de uso do imunobiológico. O paciente #1 atingiu RC com uso prednisona. O paciente #2 apresentou boa resposta à prednisona e dapsona, estando em reativação da doença devido à má aderência medicamentosa. A paciente #3 evoluiu com RC após uso de prednisona e MMF.

5.4.1 Rituximabe

RTX foi utilizado em 7/10 (70%) casos por doença grave. Todos os pacientes apresentaram critérios para EBA grave no momento da indicação de uso de RTX.

As opções utilizadas de tratamento anterior à introdução do RTX foram prednisona (7/7), MMF (7/7), dapsona (4/7), ciclosporina (2/7) e azatioprina (1/7). O intervalo mediano entre início dos sintomas e 1º ciclo de RTX foi de 42

meses (30 - 84 meses). O número mediano de ciclos foi de 3 (1 – 4 ciclos). O esquema de tratamento de 1000 mg/infusão no D1 e D15 (protocolo artrite reumatoide - PAR) foi o mais utilizado; 375 mg/m²/semana por quatro semanas (protocolo linfoma - PL) foi realizado em apenas três ciclos (#8 e #10).

Todos os pacientes evoluíram com melhora clínica após o início do tratamento com RTX (Figura 31). Na última avaliação do seguimento clínico, RC foi atingida em 4/7 (57%) pacientes, três sem terapia e um com terapia. RP foi obtida em 3/7 (43%) pacientes, todos com terapia.



Figura 31 - Evolução clínica de paciente com epidermólise bolhosa adquirida tratado com rituximabe. (A) Erosões, vesículas e crostas na face e (C) Erosões, vesículas e bolhas no dorso das mãos na primeira consulta dermatológica. (B) Resolução das lesões faciais e (D) Lesões no dorso das mãos, com formação de cicatrizes atróficas, 9 meses após 2º ciclo de rituximabe

5.4.1.1 Subclasses de IgG em pacientes tratados com rituximabe

A dosagem de subclasses de IgG pós RTX foi realizada em 6/7 (86%) pacientes que fizeram uso do imunobiológico (Tabela 5). Um (14%) paciente não compareceu à coleta. O tempo mediano entre a coleta da amostra e o ciclo de RTX imediatamente anterior foi de três meses (1 – 9 meses). Dentre os seis pacientes, três (#5, #7, #9) apresentaram negatização de todas as subclasses positivas na 1ª coleta e estavam em RC no período. Os demais pacientes (#6, #8, #10) estavam em RP no período. A paciente #10, que apresentou todas as subclasses positivas inicialmente, manteve IgG4 positiva, em nível mais baixo. A paciente #8 evoluiu com negatização de IgG1 e IgG2, mantendo apenas IgG4 positiva, com mesma titulação anterior. A paciente #6 manteve IgG4 positiva, com titulação superior à amostra anterior. Todos os pacientes que mantiveram IgG4 circulante positiva após o RTX estavam em RP da doença no período analisado.

Tabela 5 - Subclasses de IgG em pacientes com epidermólise bolhosa adquirida tratados com rituximabe

PCT	Subclasse de IgG pré RTX				Status da doença no período de coleta pré RTX	Subclasse de IgG pós RTX				Status da doença no período de coleta pós RTX
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4		IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	
4*	1/80	1/40	1/160	>1/160	Atividade	ND	ND	ND	ND	NA
5	-	1/160	-	-	Atividade	-	-	-	-	RC c/ terapia
6	-	-	-	1/20	Atividade	-	-	-	1/40	RP c/ terapia
7	-	-	-	1/40	Atividade	-	-	-	-	RC c/ terapia
8	>1/160	1/40	-	>1/160	Atividade	-	-	-	>1/160	RP c/ terapia
9	1/160	-	-	>1/160	Atividade	-	-	-	-	RC c/ terapia
10	1/160	1/40	1/80	>1/160	Atividade	-	-	-	1/160	RP c/ terapia

c/, com; IgG, imunoglobulina G; NA, não aplicável; ND, não detectado; PCT, paciente; RC, remissão completa; RP, remissão parcial; RTX, Rituximabe; > maior que; -, negativo

*Sem amostra coletada pós RTX

6 DISCUSSÃO

A EBA é uma doença bolhosa crônica e rara, mediada por autoanticorpos contra o COLVII. Séries de casos de EBA com seguimento clínico a longo prazo, associado à avaliação multidisciplinar, são escassas na literatura.

No presente estudo, características epidemiológicas, como distribuição por sexo e idade de início do quadro clínico (51 anos), foram similares às descritas em estudos prévios^{16,21,22}. O intervalo mediano entre início dos sintomas e diagnóstico de EBA de 20 meses foi maior que o descrito em estudos anteriores, que reportam um intervalo de 7 a 11 meses^{21,136}. Tal achado pode refletir tanto o acesso limitado da população ao serviço especializado de dermatologia no Brasil, quanto a dificuldade diagnóstica da EBA. Os pacientes foram acompanhados regularmente, com tempo mediano de seguimento de 98 meses, superior a relatos anteriores^{21,22,60}. Este aspecto relaciona-se à necessidade do acompanhamento clínico a longo prazo de pacientes com EBA.

A EBA é classificada em duas formas clínicas principais. No presente estudo, a EBA MB foi a apresentação mais comum (90%). Embora a forma não-clássica seja predominante em algumas séries de casos^{22,100}, a frequência de formas clínicas pode variar entre os países, dependendo também dos meios diagnósticos disponíveis em cada estudo⁵. Deve-se considerar também que a EBA é uma doença dinâmica e, como observado no presente estudo, alguns pacientes podem apresentar fenótipo misto ou mudança na forma principal da doença ao longo do curso clínico, incluindo coexistência das formas clássica e PB-símile^{5,16,25,54}. Além disso, a exemplo da paciente #10, que apresentou surto de PB durante a evolução da doença, a coexistência da EBA com outras DBAIs foi descrita na literatura em poucos pacientes^{12,137}. Este acontecimento é possivelmente explicado pelo *epitope spreading*, fenômeno no qual algum dano tecidual causado por dermatose autoimune ou inflamatória leva à exposição de componentes proteicos até então não detectados pelo sistema imunológico,

levando à produção de autoanticorpos distintos, e ao desencadeamento de outra doença cutânea autoimune¹³⁸.

Quanto à gravidade, a suspeita diagnóstica da primeira consulta dermatológica de EBA não-grave foi alterada em todos os casos do presente estudo. Em cinco pacientes essa alteração ocorreu durante a avaliação inicial multidisciplinar, indicando a importância do rastreamento precoce de lesões mucosas na doença.

Acometimento mucoso, ativo ou sequelar, foi diagnosticado em todos (100%) os pacientes, frequência superior à reportada em séries de casos prévias (58-75%)^{21,100}. Além disso, todos os pacientes apresentaram lesões em quatro ou mais mucosas. Em uma meta-análise recente com 1159 casos de EBA, lesões mucosas foram encontradas em 23% da população, a maioria com uma única mucosa afetada e apenas 30% desta amostragem apresentando lesões em dois ou mais sítios¹⁸. Os achados do presente estudo provavelmente decorrem da avaliação multidisciplinar detalhada realizada de forma regular em todos os pacientes, o que favorece a detecção precoce de lesões mucosas e auxilia na prevenção de sequelas irreversíveis. A avaliação minuciosa das mucosas é essencial em pacientes com EBA e a presença de acometimento mucoso grave é, em geral, indicativa de necessidade de terapia imunossupressora agressiva e acompanhamento multidisciplinar rigoroso.

A mucosa oral é reconhecida como a mais frequentemente acometida na enfermidade^{12,18}, compatível com o presente estudo, no qual todos os pacientes cursaram com lesões orais.

O acometimento otorrinolaringológico, infreqüentemente reportado na EBA, foi diagnosticado em 80% dos pacientes, com lesões faringo-laríngeas em todos os casos. Embora nenhum paciente deste estudo tenha apresentado comprometimento significativo do fluxo aéreo, a doença pode cursar com obstrução laríngea grave, eventualmente requerendo traqueostomia^{61,64,139}. No PMM, devido à possível discordância entre lesões e sintomas, o exame nasofaringolaringoscópico sistemático é fortemente recomendado¹⁴⁰. Similarmente, lesões mucosas faríngeas e laríngeas são particularmente susceptíveis à complicações silenciosas na EBA, o que reforça a importância do diagnóstico precoce e seguimento clínico de tais lesões⁶⁰. Vale ressaltar que

o laringoscópio deve ser utilizado com extrema cautela na EBA devido ao risco de lesões traumáticas ativas e cicatriciais, como a estenose supraglótica^{37,61}.

Embora o acometimento gastrointestinal na EBA seja descrito como incomum⁵³, 80% dos pacientes do estudo foram diagnosticados com lesões esofágicas. Esse achado pode ser justificado pela realização rotineira de EDA, não comumente realizada em pacientes assintomáticos⁶³. Em pacientes com EBA, a realização de EDA e de procedimentos invasivos quando necessários deve ser feita de forma extremamente cautelosa, tendo em vista a fragilidade da mucosa esofágica e risco de que pequenos traumas causem laceração e cicatrização aberrante. Estenose significativa com necessidade de dilatação endoscópica ocorreu em dois pacientes deste estudo, sendo que um deles evoluiu com necessidade de gastrostomia cirúrgica, procedimento pouco descrito na literatura em casos de EBA.

Apesar de ser relativamente raro, o acometimento ocular da EBA é potencialmente grave⁴². No estudo, 40% dos pacientes cursaram com lesões oculares, incluindo um caso grave que evoluiu com amaurose. Atraso no diagnóstico e tratamento da EBA aumentam o risco de perda visual, o que reforça a importância da detecção precoce de manifestações oculares na doença¹⁴¹.

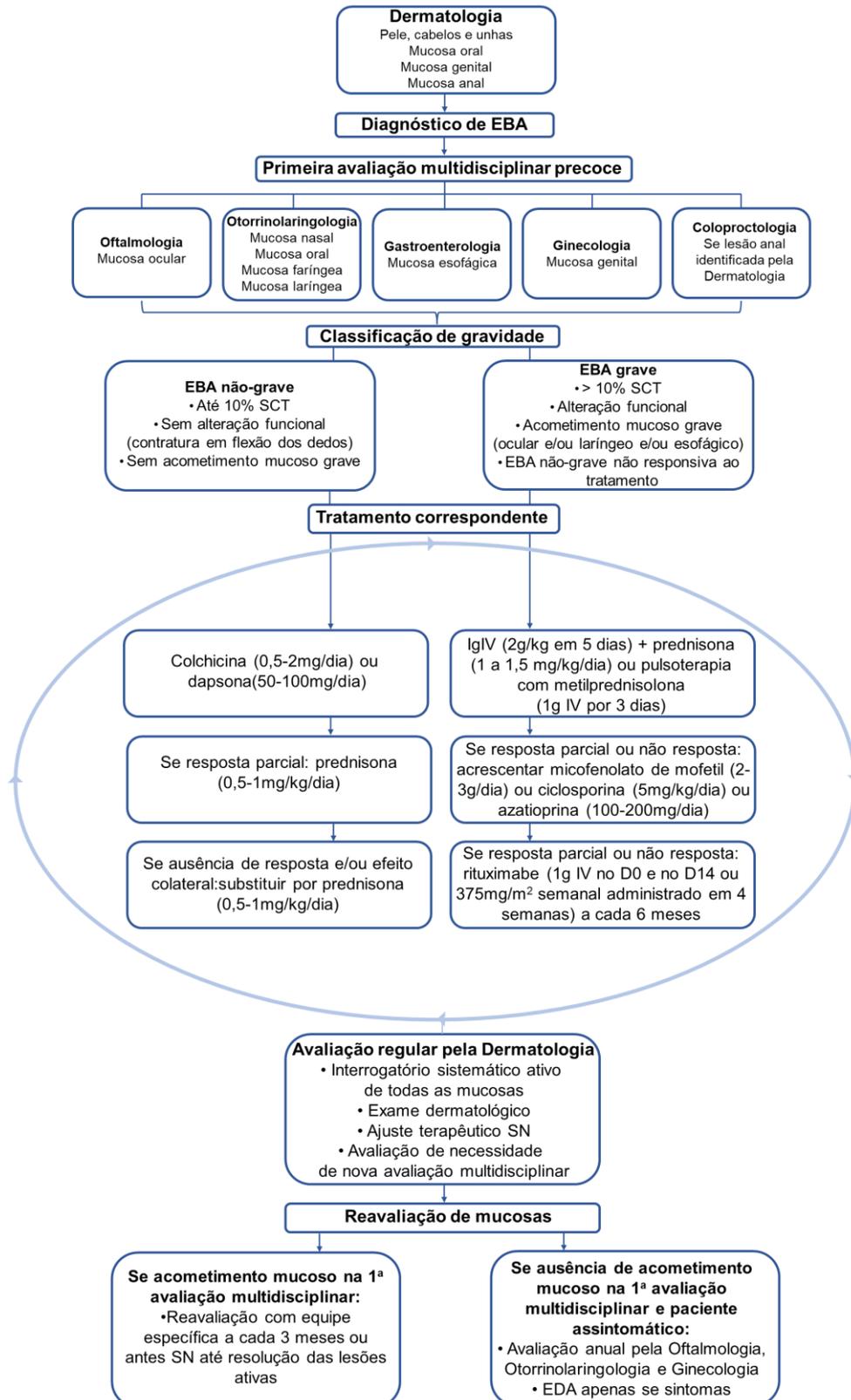
Três (60%) pacientes apresentaram lesões ginecológicas, frequência superior à descrita na literatura (14,1%)¹⁸. Dados acurados sobre o acometimento ginecológico na EBA são escassos, embora seja uma mucosa frequentemente acometida em crianças com a enfermidade^{115,142}.

Acometimento anal é descrito na EBA^{5,25}, sendo detectado em 3% dos casos de uma meta-análise recente¹⁸. No presente estudo, lesões ativas anais foram diagnosticadas em 40% dos casos, todos, contudo, sem desenvolvimento de sequelas.

Sequelas associadas à EBA foram diagnosticadas em todos os pacientes, o que reflete sua relevante morbidade. Sequelas cutâneas foram diagnosticadas em 90% dos casos, incluindo três (30%) com flexão em contratura dos dedos, que prejudica a mobilidade das mãos e potencialmente a qualidade de vida dos pacientes. Lesões cicatriciais na conjuntiva, laringe, tranqueia e esôfago denotam gravidade e indicam necessidade de tratamento

mais agressivo e manejo multidisciplinar⁵. Sequelas mucosas foram detectadas em 90% dos pacientes, incluindo quatro (40%) casos com necessidade de intervenção cirúrgica. Além disso, lesões sequelares precoces, já presentes na primeira avaliação multidisciplinar, foram diagnosticadas em 20% dos pacientes. A abordagem multidisciplinar nos pacientes com EBA permitiu a detecção frequente e precoce de sequelas neste estudo.

Um fluxograma para o manejo e acompanhamento multidisciplinar de pacientes com EBA foi sugerido pela equipe responsável pelo presente estudo (Figura 32). Após a avaliação inicial pela equipe de Dermatologia, seguida por suspeita do diagnóstico de EBA, todos os pacientes devem ser submetidos à primeira avaliação multidisciplinar o mais precocemente possível, permitindo a avaliação de mucosas e classificação da gravidade da doença, com instituição do tratamento correspondente. Os pacientes devem ser acompanhados regularmente em consultas dermatológicas, com realização de exame físico e interrogatório sistemático ativo, englobando sinais e sintomas possivelmente associados às lesões mucosas, a exemplo de: dor e ardor oculares, fotofobia, lacrimejamento, diminuição da acuidade visual, crostas nasais, epistaxe, obstrução nasal, rinorreia, mudanças de voz, estridor, dispneia, sangramento gengival, aftas, odinofagia, disfagia, dificuldade para abertura oral, perda ponderal, disuria, incontinência urinária, dispareunia e dor e sangramento anais. A reavaliação pela equipe multidisciplinar deve ser guiada pela suspeita clínica e/ou história de lesões mucosas, com frequência de acompanhamento individualizada em cada caso. Em geral, em pacientes com lesões mucosas, a reavaliação pela especialidade específica deve ser feita a cada três meses, ou antes se necessário. Em casos assintomáticos e sem lesões mucosas ativas, reavaliação anual com realização de exames específicos deve ser conduzida pelas equipes de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Ginecologia. A realização de EDA de rotina em tais pacientes não é recomendada pelo risco de trauma e cicatrização aberrante da mucosa esofágica.



D, dia; EBA, epidermólise bolhosa adquirida; EDA, endoscopia digestiva alta; g, grama; IgIV, imunoglobulina intravenosa; IV, intravenosa; kg, quilograma; m², metro quadrado; mg, miligrama; SCT, superfície corpórea total; SN, se necessário

Figura 32 - Fluxograma para manejo e acompanhamento multidisciplinar de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida no ambulatório de Dermatologia da Universidade de São Paulo

Quadro 3 - Resumo de achados clínicos relevantes nos pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

- O acometimento mucoso da EBA foi diagnosticado em todos os pacientes, com formação de sequelas em 90% dos casos;
- A abordagem multidisciplinar é essencial para detecção precoce de lesões mucosas, diagnóstico de EBA grave e definição de tratamento da doença;
- O seguimento clínico regular e a longo prazo dos pacientes é fundamental, uma vez que sequelas se desenvolvem ao longo da evolução da doença.

Achados histopatológicos do estudo incluíram clivagem subepidérmica, com infiltrado inflamatório variado, que pode ocorrer na doença a depender do tipo e duração da lesão⁹⁰.

Múltiplos depósitos (IgG, C3, IgM, IgA) podem ser detectados na IFD de pacientes com EBA⁹⁸. Neste estudo, cinco (50%) pacientes apresentaram reatividade contra todos os conjugados. O predomínio de depósitos de IgG e C3 na IFD foi compatível com o descrito na literatura^{12,143}.

O exame de SSS indireto na EBA é tipicamente caracterizado por fluorescência linear no assoalho da clivagem¹¹¹, como observado em todos os casos do estudo.

A detecção de autoanticorpos contra o COLVII por ELISA em pacientes com EBA auxilia no diagnóstico da doença^{114,144}. Todos os pacientes deste estudo apresentaram sinais de atividade da doença no momento da coleta do ELISA contra NC1 e NC2, reforçando que a positividade desse teste se correlaciona com a atividade da EBA¹¹³.

As subclasses de IgG de autoanticorpos anti-COLVII circulantes mais frequentes na EBA são dos tipos IgG1 e IgG4^{105,107}. Entretanto, a distribuição de tais subclasses é comumente heterogênea na doença^{104,109,145}, como demonstrado no presente estudo: todos os pacientes apresentaram ao menos uma subclasse de IgG circulante, com predomínio da IgG4 (90%), sendo seguida por IgG1 e IgG2 em frequências semelhantes (60%).

A IgG4 é uma subclasse de autoanticorpos chave nas DBAIs, sendo reconhecida por ter capacidade limitada de ativação do complemento¹⁴⁶. Um estudo recente indicou que a incorporação de IgG4 à análise de rotina de IFD adiciona valor diagnóstico para as DBAIs intra e subepidérmicas¹⁴⁷. O predomínio de IgG4 sugere estimulação antigênica crônica e sua função patogênica no pênfigo é bem estabelecida^{106,108,148}. No PB, autoanticorpos IgG4 são associados à processos inflamatórios independentes do sistema de complemento, sendo capazes de induzir a separação dermo-epidérmica em ensaios de criocortes^{149,150}. O PB com predomínio de IgG4 pode estar associado ao fenótipo atípico não-inflamatório da doença¹⁴⁶. Na EBA, o papel específico da IgG4 e de outras subclasses ainda não é claro. Um estudo *ex vivo* mostrou que IgG1 e IgG3, porém não IgG2 e IgG4 contra o COLVII, podem ativar o sistema de complemento e induzir a separação dermo-epidérmica¹⁰³. Entretanto, autoanticorpos anti-COLVII podem contribuir para a formação de bolhas na EBA por mecanismos independentes do complemento, com interrupção mecânica da função de ancoragem do COLVII¹⁰⁹. No presente estudo, a persistência de IgG4 circulante após uso de RTX foi observada em pacientes com remissão parcial da doença, sugerindo que tal subclasse parece estar associada à atividade da EBA. A análise de subclasses de IgG em pacientes com EBA após uso do RTX ainda não é descrita na literatura, e pode auxiliar na monitorização da resposta terapêutica e atividade da doença. Estudos adicionais (modelos animais) são necessários para melhor compreensão das subclasses de IgG e seu impacto na EBA.

Quadro 4 - Resumo de achados laboratoriais relevantes nos pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

- O ELISA anti-COLVII é importante para confirmação diagnóstica da EBA;
- IgG4 parece ser um marcador de atividade na EBA e pode auxiliar no seguimento e monitorização de pacientes com a doença.

O manejo terapêutico da EBA é um desafio devido a diferentes fatores, incluindo sua cronicidade, risco de sequelas graves e ausência de ensaios

clínicos randomizados. A maioria dos pacientes com EBA necessita de múltiplos tratamentos¹⁸, por vezes em combinação, como demonstrado neste estudo.

O uso de RTX em casos de EBA grave tem sido descrito esporadicamente em relatos de casos. O presente estudo mostrou sete pacientes com EBA grave tratados com RTX que evoluíram com melhora clínica. RC da doença foi atingida em 57% dos pacientes, frequência similar à descrita em uma revisão recente¹²⁹. Dentre eles, três (75%) pacientes mantêm remissão da doença sem terapia, o que é raro na EBA⁵. A paciente #10, que evoluiu com necessidade de gastrostomia cirúrgica por estenose esofágica importante, teve o procedimento revertido após cerca de dez meses devido à melhora clínica atribuída ao uso de RTX. Ensaios multicêntricos, randomizados e controlados são necessários para confirmar a eficácia do RTX em pacientes com EBA.

Quadro 5 - Resumo de tratamento de pacientes com epidermólise bolhosa adquirida

- A EBA é uma doença de difícil tratamento, que geralmente envolve o uso de múltiplas opções terapêuticas;
- Rituximabe parece ser um tratamento promissor da EBA grave, podendo alterar progressão clínica da doença.

7 CONCLUSÕES

A EBA é uma DBAI que pode afetar a pele e mucosas, com heterogeneidade de manifestações clínicas e morbidade relevante. Considerando sua raridade, dificuldade diagnóstica e impacto na qualidade de vida dos pacientes, séries de casos com acompanhamento a longo prazo são fundamentais para melhor compreensão da doença. O presente estudo incluiu dez pacientes com diagnóstico de EBA acompanhados no ambulatório de Dermatologia do HCFMUSP.

No tocante à caracterização clínica com análise do comprometimento cutâneo-mucoso em pacientes com EBA este estudo demonstrou que:

- A EBA acometeu indivíduos do sexo masculino e feminino em frequência similar, com idade mediana ao início dos sintomas de 51 anos e período mediano de seguimento de 98 meses;
- A forma mecanobolhosa da EBA foi a mais frequente (90%), porém mudança na forma clínica da doença é comum, como observado em 30% dos pacientes, demonstrando a natureza dinâmica da EBA;
- Todos os pacientes apresentaram EBA grave ao longo do acompanhamento;
- Todos os pacientes apresentaram acometimento cutâneo relacionado a EBA, com desenvolvimento de sequelas cutâneas em 90% dos casos;
- Acometimento mucoso, ativo ou sequelar, foi diagnosticado em todos os pacientes, com pelo menos quatro mucosas envolvidas em cada indivíduo, superior à frequência descrita na literatura;

- As mucosas mais frequentemente acometidas foram: oral (100%), de via aérea superior (80%), esofágica (80%), ocular (40%) ginecológica (60% das pacientes do sexo feminino) e anal (40%);
- Sequelas mucosas ocorreram em 90% dos pacientes durante o seguimento clínico, com necessidade cirúrgica em 40% dos casos;
- O rastreamento e diagnóstico precoce de lesões mucosas pela equipe multidisciplinar é fundamental para avaliação do paciente com EBA, definição de gravidade da doença e estabelecimento de tratamento adequado.

Quanto à caracterização da histopatologia, imunofluorescência e ELISA em pacientes com EBA:

- Todos (100%) os pacientes apresentaram clivagem subepidérmica à histopatologia, com diferentes tipos de infiltrado inflamatório;
- Múltiplos depósitos na ZMB foram detectados pela IFD, com predomínio de IgG e C3, como descrito na literatura para EBA;
- SSS indireto positivo com fluorescência dérmica e IFI positiva ocorreram em 100% e 90% dos pacientes, respectivamente;
- A detecção de autoanticorpos contra o COLVII por ELISA é relevante para confirmação diagnóstica de EBA, e seu nível sérico correlaciona-se com a atividade da doença, como demonstrado no presente estudo.

Quanto à avaliação de subclasses de IgG (IgG1, IgG 2, IgG3 e IgG4) em pacientes com EBA:

- A análise de subclasses de IgG revelou distribuição heterogênea nos pacientes com EBA, com maior frequência de IgG4, positivo em 90% dos pacientes;
- A persistência de IgG4 circulante após uso de RTX foi observada em pacientes com remissão parcial da doença, sugerindo que tal subclasse seria um potencial marcador de atividade da doença;

- A análise de subclasses de IgG por IFI auxilia no diagnóstico e seguimento clínico-laboratorial de pacientes com EBA.

Quanto à avaliação da resposta terapêutica em pacientes com EBA:

- O tratamento da EBA é desafiador e o uso de múltiplas opções terapêuticas é frequentemente necessário;
- Uso de RTX ocorreu em 70% dos pacientes, que evoluíram com melhora clínica, com remissão completa da doença em 57% dos casos;
- A maioria dos pacientes que fez uso de RTX necessitou de mais de um ciclo da medicação, demonstrando a dificuldade de controle da EBA a longo prazo;
- RTX parece ser um tratamento promissor para EBA, melhorando o prognóstico de formas graves da doença.

O tratamento adequado de pacientes com EBA requer um esforço colaborativo entre diferentes especialidades médicas, permitindo a detecção precoce de lesões mucosas, nem sempre presentes ao primeiro exame clínico. O acometimento inicial mucocutâneo na EBA, em geral diagnosticado por dermatologistas, deve ser complementado por uma abordagem multidisciplinar envolvendo oftalmologistas, otorrinolaringologistas, gastroenterologistas e ginecologistas, contribuindo para intervenção terapêutica precoce e desfecho mais favorável da enfermidade.

8 ANEXOS

Anexo A Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Epidermólise Bolhosa Adquirida: Estudo Prospectivo Multidisciplinar

Pesquisador: Valeria Aoki

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 68014217.7.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.574.697

Apresentação do Projeto:

Avaliar pacientes portadores de epidermolise bolhosa adquirida.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar características imunopatológicas e clínicas envolvendo acometimento cutâneo e mucoso, resposta ao tratamento e impacto na qualidade de vida. Os dados referentes a biopsias e imunofluorescência serão extraídos de prontuários, assim como sangue para a realização de Elisa. Será colhida nova amostra de sangue, uma única vez, caso seja necessário. Pacientes serão avaliados do ponto de vista cutâneo, oral, ocular, esofágico e urogenital.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são decorrentes dos procedimentos realizados para diagnóstico e avaliação regular.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não apresenta questionamentos éticos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE está adequado à pesquisa e ao que se pretende realizar.

Recomendações:

APROVADO.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

APROVADO.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 2.574.697

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_885916.pdf	14/03/2018 13:34:32		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Valeria.docx	14/03/2018 13:33:57	Valeria Aoki	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Valeria14.docx	14/03/2018 13:32:34	Valeria Aoki	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	05/05/2017 12:06:42	Valeria Aoki	Aceito
Outros	Registro_online_16445.pdf	05/05/2017 12:06:32	Valeria Aoki	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Oftalmologia.pdf	13/04/2017 11:40:12	Valeria Aoki	Aceito
Declaração de Pesquisadores	otorninolaringologia.pdf	13/04/2017 10:11:54	Valeria Aoki	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Ginecologia.pdf	13/04/2017 10:10:44	Valeria Aoki	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAO.pdf	31/03/2017 17:50:15	Valeria Aoki	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	31/03/2017 17:42:46	Valeria Aoki	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo B

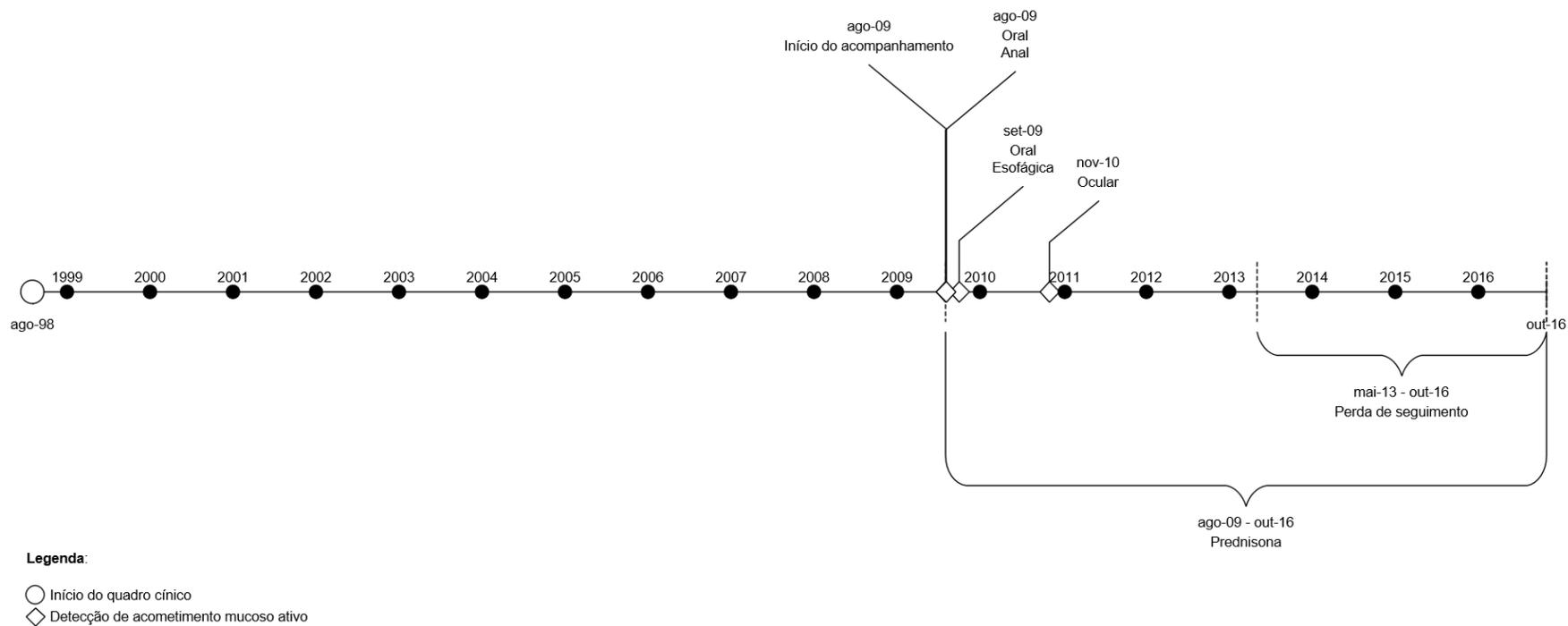


Figura 21 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 1)

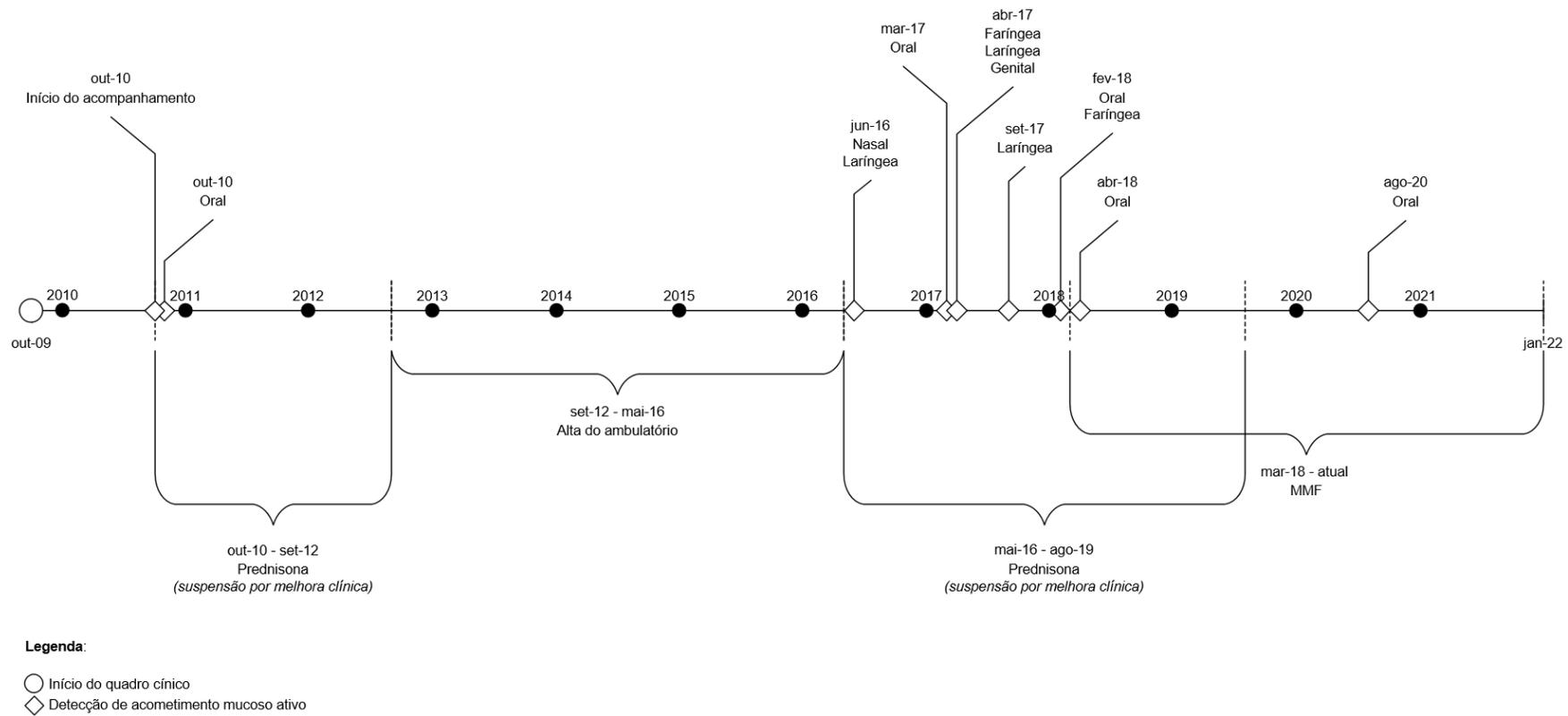


Figura 23 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 3)

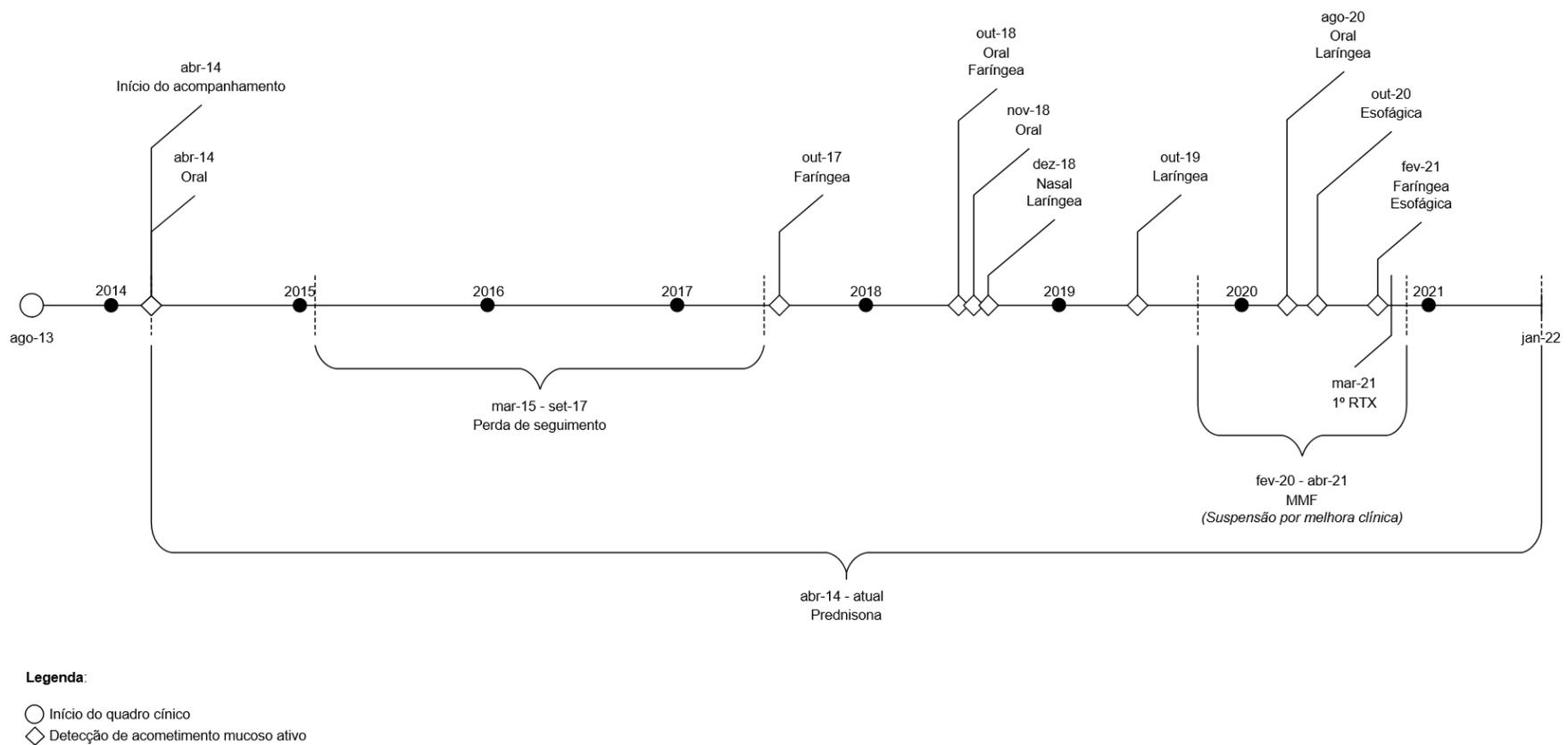


Figura 24 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 4)

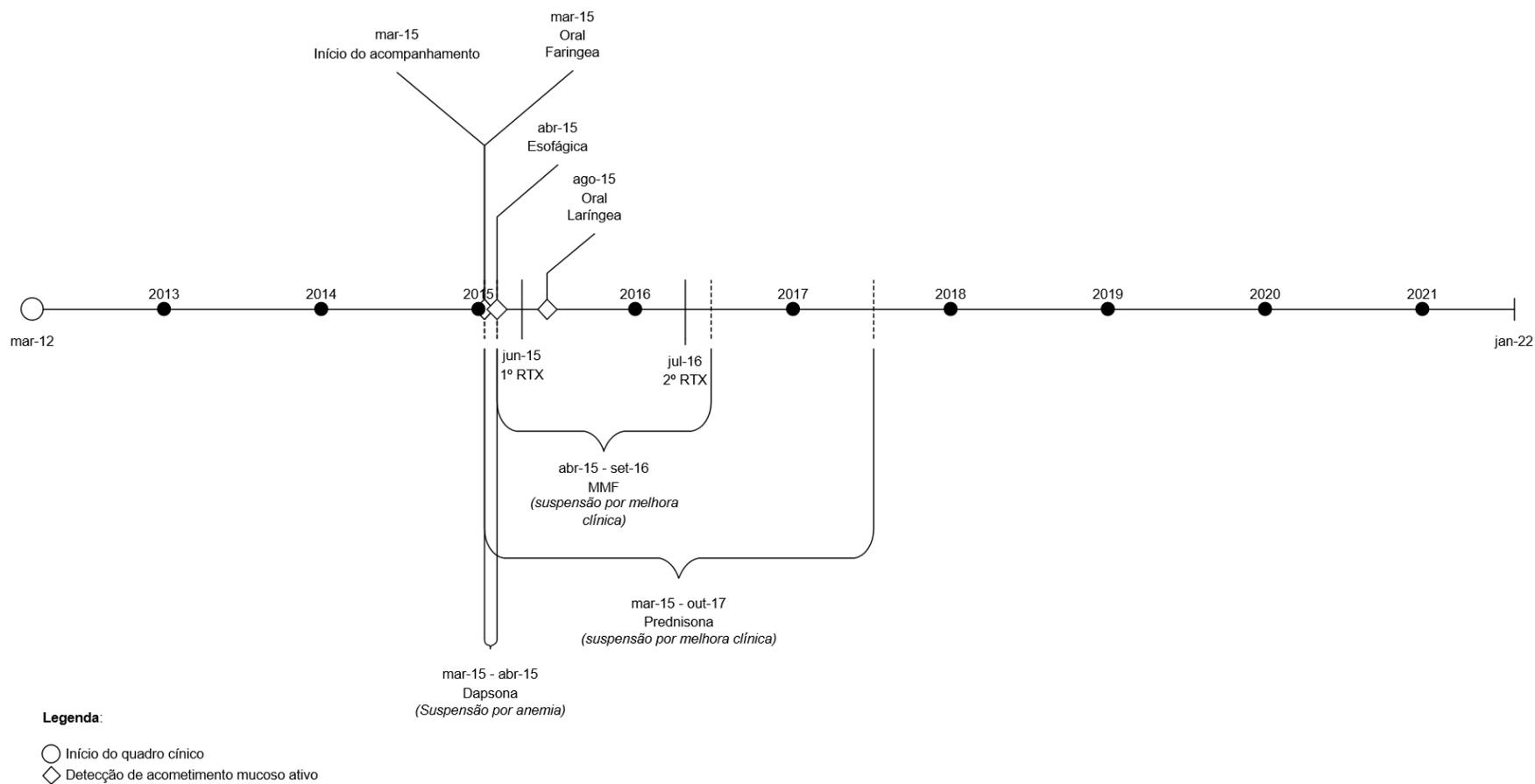
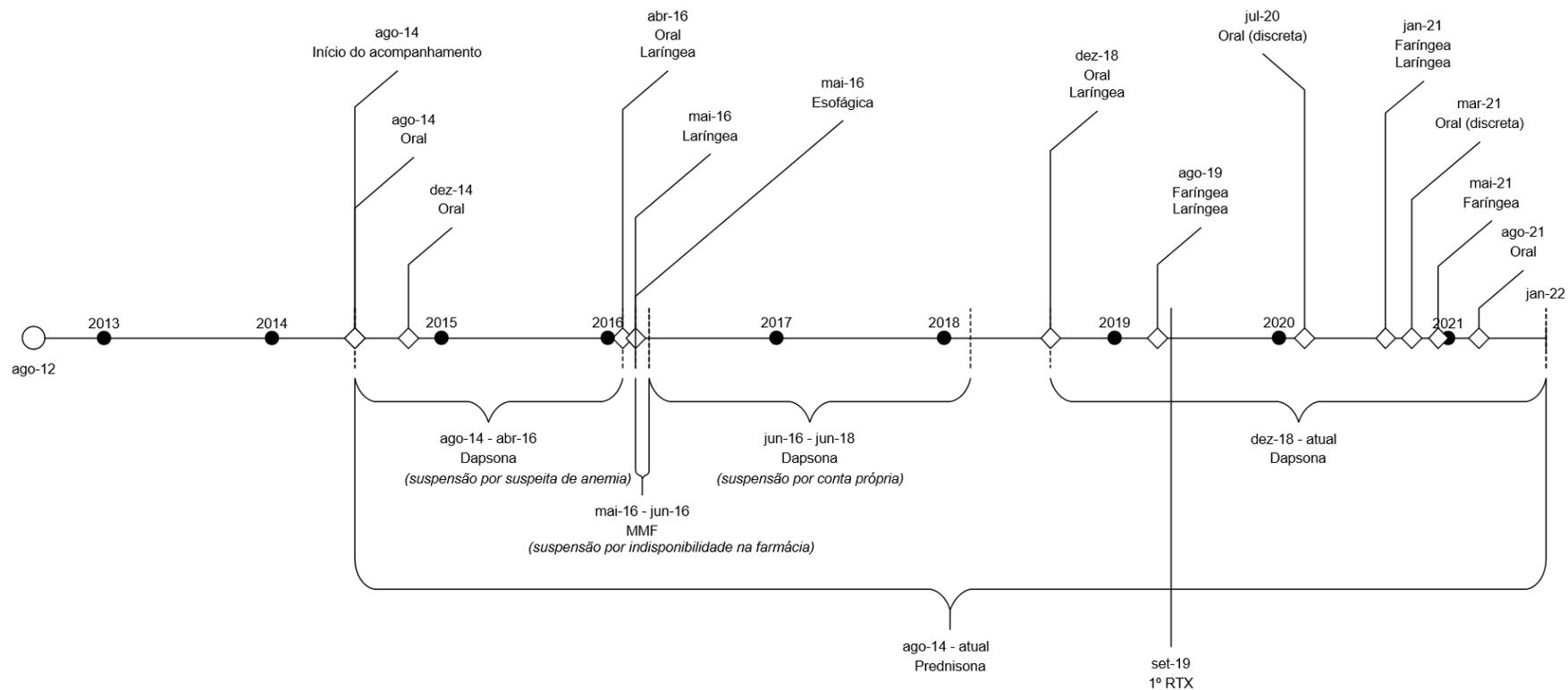


Figura 25 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 5)



Legenda:

- Início do quadro clínico
- ◇ Detecção de acometimento mucoso ativo

Figura 26 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 6)

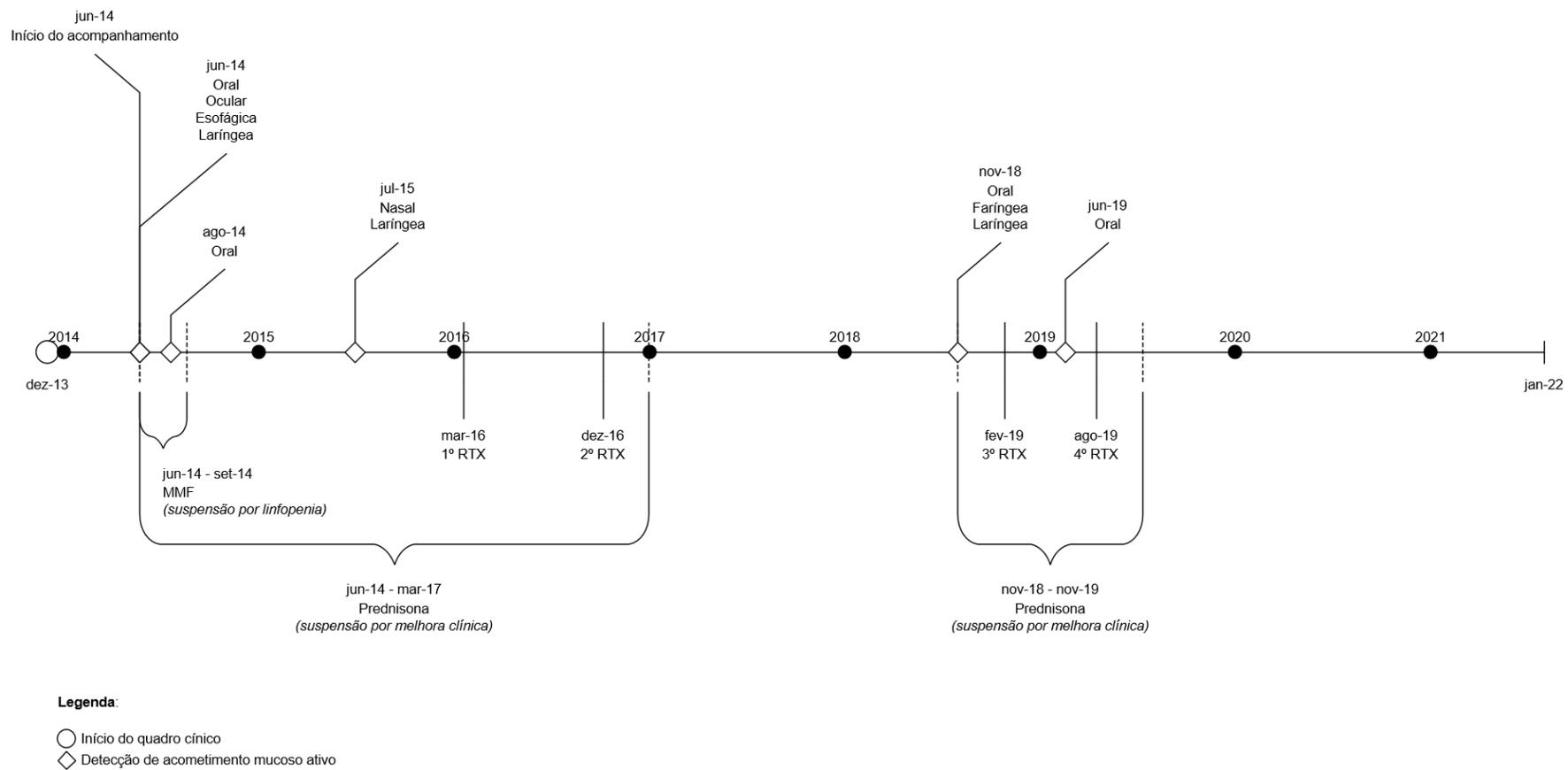


Figura 27 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 7)

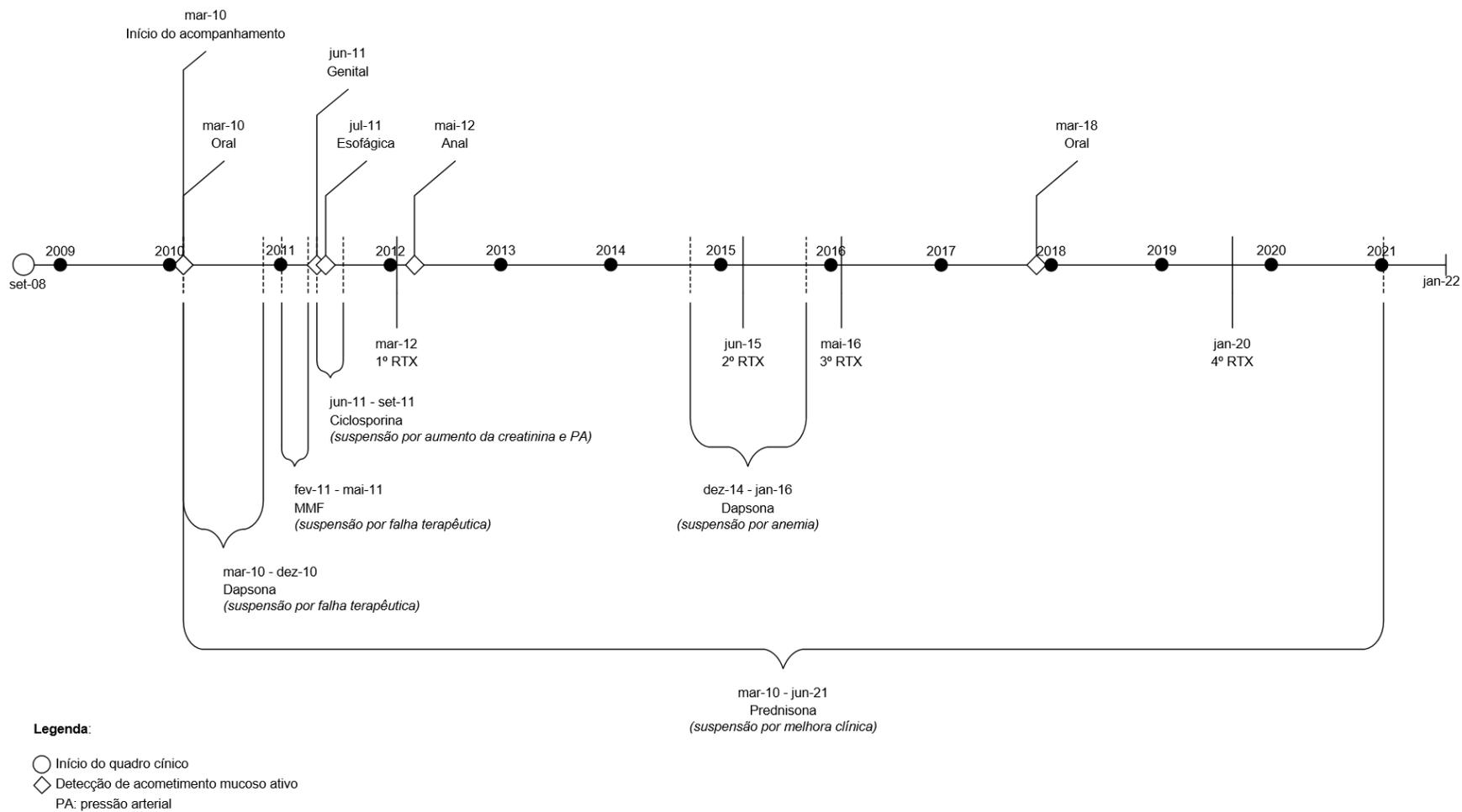


Figura 28 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 8)

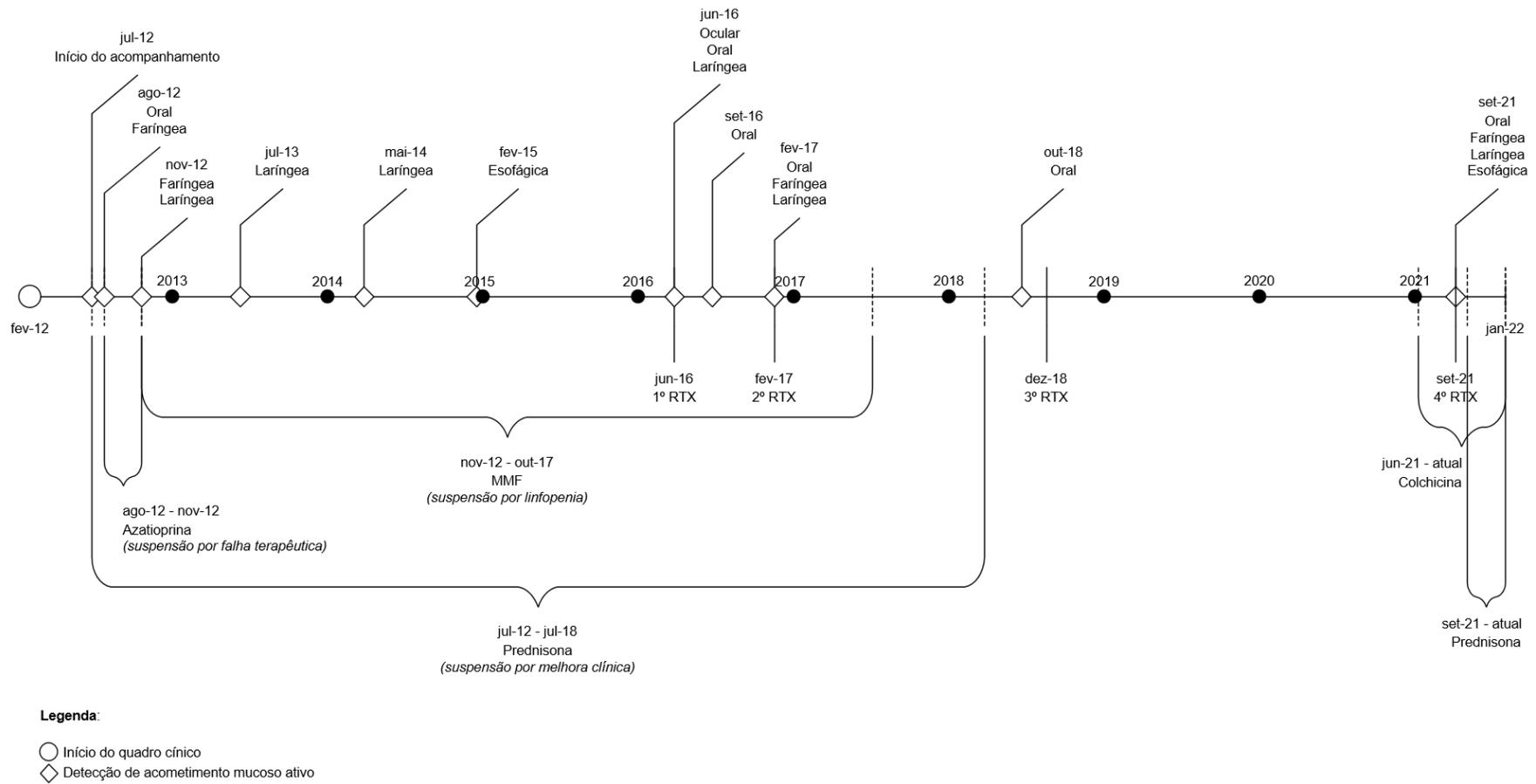


Figura 29 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 9)

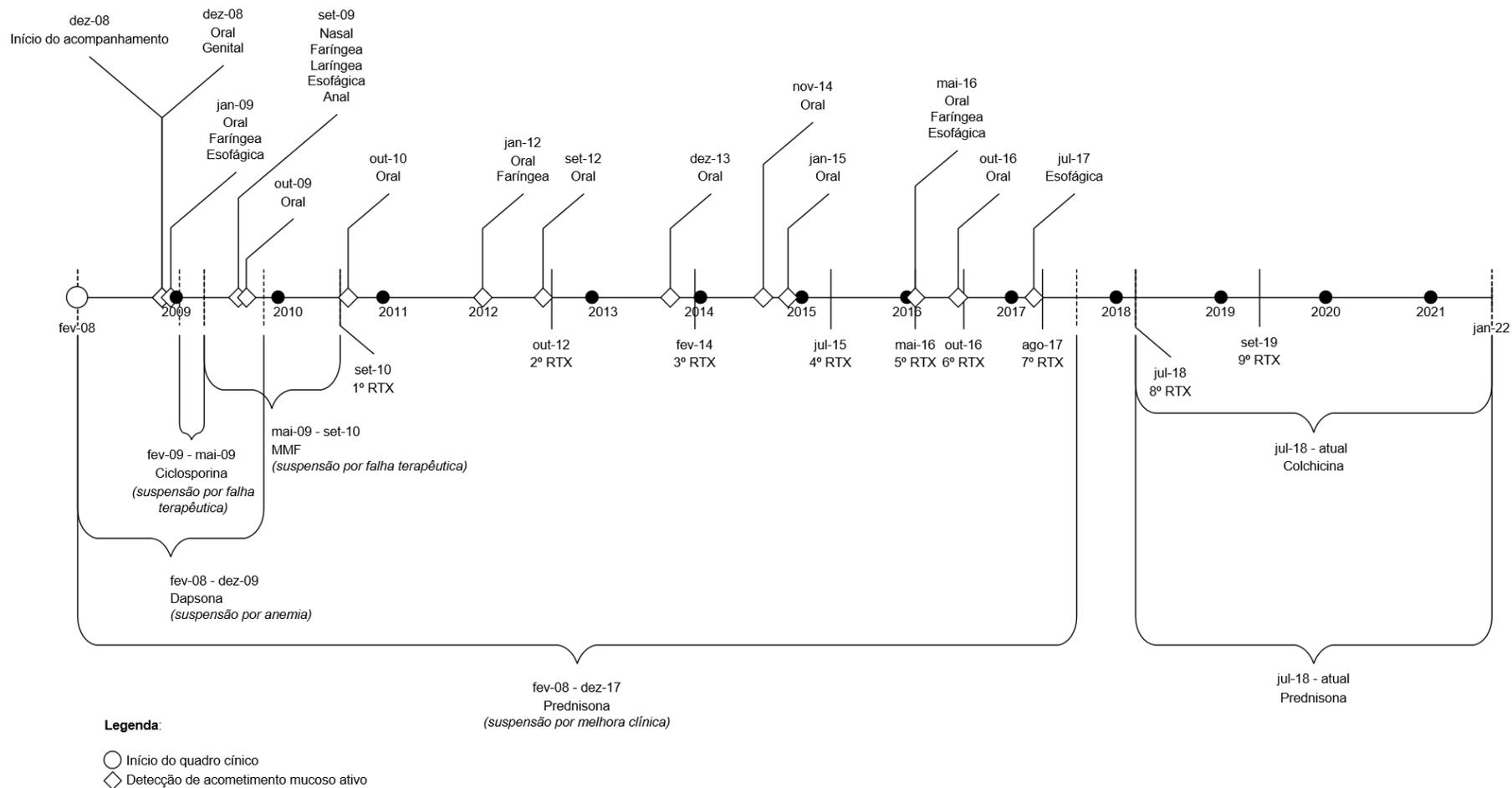


Figura 30 - Evolução de paciente com epidermólise bolhosa adquirida: acometimento mucoso ativo e tratamento (paciente 10)

9 REFERÊNCIAS

1. Fagundes PPS, Santi CG, Maruta CW, Miyamoto D, Aoki V. Autoimmune bullous diseases in pregnancy: clinical and epidemiological characteristics and therapeutic approach. *An Bras Dermatol*. 2021;96(5):581–90.
2. Didona D, Maglie R, Eming R, Hertl M. Pemphigus: Current and Future Therapeutic Strategies. *Front Immunol*. 2019;10:1418.
3. Daniel BS, Murrell DF. Review of autoimmune blistering diseases: the Pemphigoid diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(9):1685–94.
4. Miyamoto D, Gordilho JO, Santi CG, Porro AM. Epidermolysis bullosa acquisita. *An Bras Dermatol*. 2022;97(4):409–23.
5. Koga H, Prost-Squarcioni C, Iwata H, Jonkman MF, Ludwig RJ, Bieber K. Epidermolysis Bullosa Acquisita: The 2019 Update. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:362.
6. Roenigk HHJ, Ryan JG, Bergfeld WF. Epidermolysis bullosa acquisita. Report of three cases and review of all published cases. *Arch Dermatol*. 1971;103(1):1–10.
7. Kushniruk W. The immunopathology of epidermolysis bullosa acquisita. *Can Med Assoc J*. 1973;108(9):1143–6.
8. Dinato SLM. Epidermólise bolhosa adquirida (dermatose bolhosa dermolítica adquirida): a propósito de 2 casos [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1981.
9. Woodley DT, Briggaman RA, O’Keefe EJ, Inman AO, Queen LL, Gammon WR. Identification of the Skin Basement-Membrane Autoantigen in Epidermolysis Bullosa Acquisita. *N Eng J Med*. 1984;310(16):1007–13.
10. Chen M, Kim GH, Prakash L, Woodley DT. Epidermolysis bullosa acquisita: autoimmunity to anchoring fibril collagen. *Autoimmunity*. 2012;45(1):91–101.
11. Kridin K. Subepidermal autoimmune bullous diseases: overview, epidemiology, and associations. *Immunol Res*. 2018;66(1):6–17.
12. Kridin K, Kneiber D, Kowalski EH, Valdebran M, Amber KT. Epidermolysis bullosa acquisita: A comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2019;18(8):786–95.
13. Miyamoto D, Santi CG, Aoki V, Maruta CW. Bullous pemphigoid. *An Bras Dermatol*. 2019;94(2):133–46.
14. Durdu M, Bozca BC, Enli S, Yazıcı Özgen Z, Yaylı S, Aktan Ş, et al. A multicentre prospective analysis of the incidence of pemphigoid diseases in Turkey. *Australas J Dermatol*. 2021;62(4).
15. Zhu XJ, Niimi Y, Bystryń JC. Epidermolysis bullosa acquisita. Incidence in patients with basement membrane zone antibodies. *Arch Dermatol*. 1990;126(2):171–4.
16. Gupta R, Woodley DT, Chen M. Epidermolysis bullosa acquisita. *Clin Dermatol*. 2012;30(1):60–9.
17. Tešanović Perković D, Bukvić Mokos Z, Marinović B. Epidermolysis Bullosa Acquisita—Current and Emerging Treatments. *J Clin Med*. 2023;12(3):1139.

18. Iwata H, Vorobyev A, Koga H, Recke A, Zillikens D, Prost-Squarcioni C, et al. Meta-analysis of the clinical and immunopathological characteristics and treatment outcomes in epidermolysis bullosa acquisita patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):153.
19. Hignett E, Sami N. Pediatric epidermolysis bullosa acquisita: A review. *Pediatr Dermatol.* 2021;38(5):1047–50.
20. Prost-Squarcioni C, Caux F, Schmidt E, Jonkman MF, Vassileva S, Kim SC, et al. International Bullous Diseases Group: consensus on diagnostic criteria for epidermolysis bullosa acquisita. *Br J Dermatol.* 2018;179(1):30–41.
21. Iranzo P, Herrero-Gonzalez JE, Mascaro-Galy JM, Suarez-Fernandez R, Espana A. Epidermolysis bullosa acquisita: a retrospective analysis of 12 patients evaluated in four tertiary hospitals in Spain. *Br J Dermatol.* 2014;171(5):1022–30.
22. Kim JH, Kim YH, Kim SC. Epidermolysis bullosa acquisita: a retrospective clinical analysis of 30 cases. *Acta Derm Venereol.* 2011;91(3):307–12.
23. Schultz B, Hook K. Bullous Diseases in Children: A Review of Clinical Features and Treatment Options. *Paediatr Drugs.* 2019;21(5):345–56.
24. Mayuzumi M, Akiyama M, Nishie W, Ukae S, Abe M, Sawamura D, et al. Childhood epidermolysis bullosa acquisita with autoantibodies against the noncollagenous 1 and 2 domains of type VII collagen: case report and review of the literature. *Br J Dermatol.* 2006;155(5):1048–52.
25. Vorobyev A, Ludwig RJ, Schmidt E. Clinical features and diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017;13(2):157–69.
26. Remington J, Chen M, Burnett J, Woodley DT. Autoimmunity to type VII collagen: epidermolysis bullosa acquisita. *Curr Dir Autoimmun.* 2008;10:195–205.
27. Kamaguchi M, Iwata H. The Diagnosis and Blistering Mechanisms of Mucous Membrane Pemphigoid. *Front Immunol.* 2019;10:34.
28. Kneisel A, Hertl M. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9(10):844–57.
29. De Groot H, Jonkman M, Pas H, Diercks G. Direct Immunofluorescence of Mechanobullous Epidermolysis Bullosa Acquisita, Porphyria Cutanea Tarda and Pseudoporphyria. *Acta Derm Venereol.* 2019;99(1):26–32.
30. Becker M, Schumacher N, Schmidt E, Zillikens D, Sadik CD. Evaluation and Comparison of Clinical and iLaboratory Characteristics of Patients With IgA Epidermolysis Bullosa Acquisita, Linear IgA Bullous Dermatitis, and IgG Epidermolysis Bullosa Acquisita. *JAMA Dermatol.* 2021;157(8):917.
31. Vodegel RM, de Jong MCJM, Pas HH, Jonkman MF. IgA-mediated epidermolysis bullosa acquisita: Two cases and review of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 2002;47(6):919–25.
32. Asfour L, Chong H, Mee J, Groves R, Singh M. Epidermolysis Bullosa Acquisita (Brunsting-Perry Pemphigoid Variant) Localized to the Face and Diagnosed With Antigen Identification Using Skin Deficient in Type VII Collagen. *Am J Dermatopathol.* 2017;39(7):e90–6.
33. Tanaka N, Dainichi T, Ohyama B, Yasumoto S, Oono T, Iwatsuki K, et al. A case of epidermolysis bullosa acquisita with clinical features of Brunsting-Perry pemphigoid showing an excellent response to colchicine. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(4):715–9.

34. Alramadhan SA, Islam MN. Vesiculobullous Lesions of the Oral Cavity. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2023;35(2):203–17.
35. Carey B, Setterfield J. Mucous membrane pemphigoid and oral blistering diseases. *Clin Exp Dermatol.* 2019;44(7):732–9.
36. Pawar S, Mohite A, Surude R, Rathi P, Nayak C. Epidermolysis bullosa acquisita associated with dysphagia and stricture of esophagus. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2016;82(6):717.
37. Benton EC, Bhogal B, Oakley R, Groves RW. Beware the blistering patient with dysphonia. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38(6):691–2.
38. Clement M, Ratnesar P, Thirumoorthy T, McGrath J, Black MM. Epidermolysis bullosa acquisita—a case with upper airways obstruction requiring tracheostomy and responding to cyclosporin. *Clin Exp Dermatol.* 1993;18(6):548–51.
39. Lecomte H, Folia M, Muller G, Gilbert D, Tron F, Besancenot JF, et al. Laryngite pseudo-membraneuse sévère dans le cadre d'une épidermolyse bulleuse acquise. *Rev Med Interne.* 2010;31(5):e7–10.
40. Kiniwa Y, Ashida A, Ohashi A, Kitoh R, Fukuda S, Hashimoto T, et al. A Case of Epidermolysis Bullosa Acquisita Associated with Laryngeal Stenosis. *Acta Derm Venereol.* 2012;92(1):93–4.
41. Komatsu-Fujii T, Honda T, Tahara J, Yamashita C, Oguma T, Dainichi T, et al. Efficacy of intravenous immunoglobulins for laryngopharyngeal lesions and upper airway obstruction in epidermolysis bullosa acquisita. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34(3):e131-e133.
42. Rousseau A, Prost-Squarcioni C, Doan S, Leroux-Villet C, Caux F, Hoang-Xuan T, et al. Ocular involvement in epidermolysis bullosa acquisita with long-term follow-up. *Br J Ophthalmol.* 2020;104(2):235–40.
43. Cox NH, Bearn MA, Herold J, Ainsworth G, Liu C. Blindness due to the IgA variant of epidermolysis bullosa acquisita, and treatment with osteo-odonto-keratoprosthesis. *Br J Dermatol.* 2007;156(4):775–7.
44. Caux F, Kirtschig G, Lemarchand-Venencie F, Venencie PY., Hoang-Xuan T, Robin H, et al. IgA-epidermolysis bullosa acquisita in a child resulting in blindness. *Br J Dermatol.* 1997;137(2):270–5.
45. Camara A, Bécherel PA, Bussel A, Lagrange S, Chosidow O, Joly P, et al. Resistant acquired bullous epidermolysis with severe ocular involvement: the success of extracorporeal photochemotherapy. *Ann Dermatol Venereol.* 1999;126(8–9):612–5.
46. Bauer JW, Schaeppi H, Metze D, Muss W, Pohla-Gubo G, Hametner R, et al. Ocular involvement in IgA-epidermolysis bullosa acquisita. *Br J Dermatol.* 1999 Nov;141(5):887–92.
47. Lang PG, Tapert MJ. Severe ocular involvement in a patient with epidermolysis bullosa acquisita. *J Am Acad Dermatol.* 1987;16(2):439–43.
48. Letko E. Chronic Cicatrizing Conjunctivitis in a Patient With Epidermolysis Bullosa Acquisita. *Arch Ophthalmol.* 2006;124(11):1615.
49. Aclimandos WA. Corneal perforation as a complication of epidermolysis bullosa acquisita. *Eye.* 1995;9(5):633–6.
50. Lu CY., Hsieh MS., Wei KC., Ezmerli M, Kuo CH., Chen W. Gastrointestinal involvement of primary skin diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34(12):2766–74.

51. Taniuchi K, Inaoki M, Nishimura Y, Mori T, Takehara K. Nonscarring inflammatory epidermolysis bullosa acquisita with esophageal involvement and linear IgG deposits. *J Am Acad Dermatol.* 1997;36(2):320–2.
52. Miyagawa S, Iida T, Hachisuka H, Yamashina Y, Shirai T. Epidermolysis bullosa acquisita with oesophageal stenosis. *Br J Dermatol.* 1992;127(2):172–6.
53. Figueredo C, Boroda K, Hertan H. Epidermolysis bullosa acquisita: an uncommon cause of esophageal stricture. *Oxf Med Case Reports.* 2021;2021(4).
54. Stewart MI. Epidermolysis Bullosa Acquisita and Associated Symptomatic Esophageal Webs. *Arch Dermatol.* 1991;127(3):373.
55. Shipman AR, Agero AL, Cook I, Scolyer RA, Craig P, Pas HH, et al. Epidermolysis bullosa acquisita requiring multiple oesophageal dilatations. *Clin Exp Dermatol.* 2008;33(6):787–9.
56. Moura EG, Couto-Júnior DS, Alvarado-Escobar H, da Costa-Martins B, Sallum RA, Artifon EL, et al. Epidermolysis bullosa acquisita complicated by esophageal stenosis. Endoscopic treatment with thermoplastic dilators and intralesional steroid injection. *Rev Gastroenterol Mex.* 2011;76(3):279–85.
57. Tsiropoulos I, Sofikitis N, Kiorpelidou D, Gaitanis G, Bassukas ID. Lower Urinary Tract Involvement in Patients With Newly Diagnosed Autoimmune Bullous Dermatoses: An Urethroscopic Study. *Am J Med Sci.* 2010;340(2):109–13.
58. Haynes D, Orfaly V, Greiling T. Mucous membrane (cicatricial) pemphigoid resulting in urethral structuring: Report of a case. *Int J Womens Dermatol.* 2019;5(4):281.
59. Lee C. Epidermolysis bullosa acquisita associated with vesicular cystitis. *Br J Dermatol.* 1988;119(1):101–5.
60. Luke MC, Darling TN, Hsu R, Summers RM, Smith JA, Solomon BI, et al. Mucosal morbidity in patients with epidermolysis bullosa acquisita. *Arch Dermatol.* 1999;135(8):954–9.
61. Hester JE, Arnstein DP, Woodley D. Laryngeal manifestations of epidermolysis bullosa acquisita. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1995;121(9):1042–4.
62. Clement M, Ratnesar P, Thirumoorthy T, McGrath J, Black MM. Epidermolysis bullosa acquisita--a case with upper airways obstruction requiring tracheostomy and responding to cyclosporin. *Clin Exp Dermatol.* 1993;18(6):548–51.
63. Ishii N, Furumura M, Hamada T, Mori O, Ohzono A, Ueda A, et al. Oesophageal involvement in epidermolysis bullosa acquisita. *Br J Dermatol.* 2015;172(1):288–90.
64. Delgado L, Aoki V, Santi C, Gabbi T, Sotto M, Maruta C. Clinical and immunopathological evaluation of epidermolysis bullosa acquisita. *Clin Exp Dermatol.* 2011;36(1):12–8.
65. Santi CG, Gripp AC, Roselino AM, Mello DS, Gordilho JO, Marsillac PF de, et al. Consensus on the treatment of autoimmune bullous dermatoses: bullous pemphigoid, mucous membrane pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita - Brazilian Society of Dermatology. *An Bras Dermatol.* 2019;94(2 Suppl 1):33–47.

66. Chen M, O'Toole EA, Sanghavi J, Woodley DT, Mahmud N, Kelleher D, et al. The Epidermolysis Bullosa Acquisita Antigen (Type VII Collagen) is Present in Human Colon and Patients with Crohn's Disease have Autoantibodies to Type VII Collagen. *J Invest Dermatol.* 2002;118(6):1059–64.
67. Lohi J, Leivo I, Tani T, Kiviluoto T, Kivilaakso E, Burgeson RE, et al. Laminins, tenascin and type VII collagen in colorectal mucosa. *Histochem J.* 1996;28(6):431–40.
68. Oostingh G, Sitaru C, Kromminga A, Luhrs H, Zillikens D. Subclass distribution of type VII collagen-specific autoantibodies in patients with inflammatory bowel disease. *J Dermatol Sci.* 2005;37(3):182–4.
69. Ishii N, Recke A, Mihai S, Hirose M, Hashimoto T, Zillikens D, et al. Autoantibody-induced intestinal inflammation and weight loss in experimental epidermolysis bullosa acquisita. *J Pathol.* 2011;224(2):234–44.
70. Chung HJ, Uitto J. Type VII Collagen: The Anchoring Fibril Protein at Fault in Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Dermatol Clin.* 2010;28(1):93–105.
71. Saleh MA, Ishii K, Kim YJ, Murakami A, Ishii N, Hashimoto T, et al. Development of NC1 and NC2 domains of Type VII collagen ELISA for the diagnosis and analysis of the time course of epidermolysis bullosa acquisita patients. *J Dermatol Sci.* 2011;62(3):169–75.
72. Sitaru C, Mihai S, Otto C, Chiriac MT, Hausser I, Dotterweich B, et al. Induction of dermal-epidermal separation in mice by passive transfer of antibodies specific to type VII collagen. *J Clin Invest.* 2005;115(4):870–8.
73. Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, et al. Epidermolysis bullosa acquisita: what's new? *J Dermatol.* 2010;37(3):220–30.
74. Tanaka H, Ishida-Yamamoto A, Hashimoto T, Hiramoto K, Harada T, Kawachi Y, et al. A novel variant of acquired epidermolysis bullosa with autoantibodies against the central triple-helical domain of type VII collagen. *Lab Invest.* 1997;77(6):623–32.
75. Ishii N, Yoshida M, Hisamatsu Y, Ishida-Yamamoto A, Nakane H, Iizuka H, et al. Epidermolysis bullosa acquisita sera react with distinct epitopes on the NC1 and NC2 domains of type VII collagen: study using immunoblotting of domain-specific recombinant proteins and postembedding immunoelectron microscopy. *Br J Dermatol.* 2004;150(5):843–51.
76. Ishii N, Yoshida M, Ishida-Yamamoto A, Fritsch A, Elfert S, Bruckner-Tuderman L, et al. Some epidermolysis bullosa acquisita sera react with epitopes within the triple-helical collagenous domain as indicated by immunoelectron microscopy. *Br J Dermatol.* 2009 May;160(5):1090–3.
77. Mihai S, Hirose M, Wang Y, Thurman JM, Holers VM, Morgan BP, et al. Specific Inhibition of Complement Activation Significantly Ameliorates Autoimmune Blistering Disease in Mice. *Front Immunol.* 2018;9:535.
78. Sitaru C, Kromminga A, Hashimoto T, Bröcker EB, Zillikens D. Autoantibodies to Type VII Collagen Mediate Fcγ-Dependent Neutrophil Activation and Induce Dermal-Epidermal Separation in Cryosections of Human Skin. *Am J Pathol.* 2002;161(1):301–11.

79. Woodley DT, Ram R, Doostan A, Bandyopadhyay P, Huang Y, Remington J, et al. Induction of Epidermolysis Bullosa Acquisita in Mice by Passive Transfer of Autoantibodies from Patients. *J Invest Dermatol.* 2006;126(6):1323–30.
80. Sitaru C, Chiriac MT, Mihai S, Büning J, Gebert A, Ishiko A, et al. Induction of Complement-Fixing Autoantibodies against Type VII Collagen Results in Subepidermal Blistering in Mice. *J Immunol.* 2006;177(5):3461–8.
81. Kasperkiewicz M, Sadik CD, Bieber K, Ibrahim SM, Manz RA, Schmidt E, et al. Epidermolysis Bullosa Acquisita: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Options. *J Invest Dermatol.* 2016;136(1):24–33.
82. Murakami S, Shiraishi S, Miki Y. Epidermolysis Bullosa Acquisita in Identical Twins. *J Dermatol.* 1991;18(4):230–4.
83. Noe MH, Chen M, Woodley DT, Fairley JA. Familial epidermolysis bullosa acquisita. *Dermatol Online J.* 2008;14(12):2.
84. Zumelzu C, le Roux-Villet C, Loiseau P, Busson M, Heller M, Aucouturier F, et al. Black Patients of African Descent and HLA-DRB1*15:03 Frequency Overrepresented in Epidermolysis Bullosa Acquisita. *J Invest Dermatol.* 2011;131(12):2386–93.
85. Lee CW, Kim SC, Han H. Distribution of HLA Class II Alleles in Korean Patients with Epidermolysis bullosa acquisita. *Dermatology.* 1996;193(4):328–9.
86. Woodley DT, Briggaman RA, Gammon WT. Review and update of epidermolysis bullosa acquisita. *Semin Dermatol.* 1988;7(2):111–22.
87. Gammon WR, Heise ER, Burke WA, Fine JD, Woodley DT, Briggaman RA. Increased Frequency of HLA-DR2 in Patients with Autoantibodies to Epidermolysis Bullosa Acquisita Antigen: Evidence that the Expression of Autoimmunity to Type VII Collagen Is HLA Class II Allele Associated. *J Invest Dermatol.* 1988;91(3):228–32.
88. Ludwig RJ, Müller S, Marques A d C, Recke A, Schmidt E, Zillikens D, et al. Identification of Quantitative Trait Loci in Experimental Epidermolysis Bullosa Acquisita. *J Invest Dermatol.* 2012;132(5):1409–15.
89. Ellebrecht CT, Srinivas G, Bieber K, Banczyk D, Kalies K, Künzel S, et al. Skin microbiota-associated inflammation precedes autoantibody induced tissue damage in experimental epidermolysis bullosa acquisita. *J Autoimmun.* 2016;68:14–22.
90. Ludwig RJ. Clinical presentation, pathogenesis, diagnosis, and treatment of epidermolysis bullosa acquisita. *ISRN Dermatol.* 2013;812029.
91. Sitaru AG, Sesarman A, Mihai S, Chiriac MT, Zillikens D, Hultman P, et al. T Cells Are Required for the Production of Blister-Inducing Autoantibodies in Experimental Epidermolysis Bullosa Acquisita. *J Immunol.* 2010;184(3):1596–603.
92. Iwata H, Bieber K, Tiburzy B, Chrobok N, Kalies K, Shimizu A, et al. B Cells, Dendritic Cells, and Macrophages Are Required To Induce an Autoreactive CD4 Helper T Cell Response in Experimental Epidermolysis Bullosa Acquisita. *J Immunol.* 2013;191(6):2978–88.
93. Samavedam UKSRL, Iwata H, Müller S, Schulze FS, Recke A, Schmidt E, et al. GM-CSF Modulates Autoantibody Production and Skin Blistering in Experimental Epidermolysis Bullosa Acquisita. *J Immunol.* 2014;192(2):559–71.

94. Kasperkiewicz M, Hirose M, Recke A, Schmidt E, Zillikens D, Ludwig RJ. Clearance rates of circulating and tissue-bound autoantibodies to type VII collagen in experimental epidermolysis bullosa acquisita. *Br J Dermatol.* 2010;162(5):1064–70.
95. Bieber K, Witte M, Sun S, Hundt JE, Kalies K, Dräger S, et al. T cells mediate autoantibody-induced cutaneous inflammation and blistering in epidermolysis bullosa acquisita. *Sci Rep.* 2016;6(1):38357.
96. Chen M, Keene DR, Costa FK, Tahk SH, Woodley DT. The carboxyl terminus of type VII collagen mediates antiparallel dimer formation and constitutes a new antigenic epitope for epidermolysis Bullosa acquisita autoantibodies. *J Biol Chem.* 2001;276(24):21649–55.
97. Schmidt T, Hoch M, Lotfi Jad SS, Solimani F, Di Zenzo G, Marzano AV, et al. Serological diagnostics in the detection of IgG autoantibodies against human collagen VII in epidermolysis bullosa acquisita: a multicentre analysis. *Br J Dermatol.* 2017;177(6):1683–92.
98. Arbache ST, Nogueira TG, Delgado L, Miyamoto D, Aoki V. Immunofluorescence testing in the diagnosis of autoimmune blistering diseases: overview of 10-year experience. *An Bras Dermatol.* 2014;89(6):885–9.
99. Meijer JM, Atefi I, Diercks GFH, Vorobyev A, Zuiderveen J, Meijer HJ, et al. Serration pattern analysis for differentiating epidermolysis bullosa acquisita from other pemphigoid diseases. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(4):754-759.e6.
100. Buijsrogge JJA, Diercks GFH, Pas HH, Jonkman MF. The many faces of epidermolysis bullosa acquisita after serration pattern analysis by direct immunofluorescence microscopy. *Br J Dermatol.* 2011;165(1):92–8.
101. Vodegel RM, Jonkman M f., Pas HH, De Jong MCJM. U-serrated immunodeposition pattern differentiates type VII collagen targeting bullous diseases from other subepidermal bullous autoimmune diseases. *Br J Dermatol.* 2004;151(1):112–8.
102. Nieboer C, Boorsma DM, Woerdeman MJ, Kalsbeek GL. Epidermolysis bullosa acquisita. *Br J Dermatol.* 1980;102(4):383–92.
103. Recke A, Sitaru C, Vidarsson G, Evensen M, Chiriac MT, Ludwig RJ, et al. Pathogenicity of IgG subclass autoantibodies to type VII collagen: induction of dermal-epidermal separation. *J Autoimmun.* 2010;34(4):435–44.
104. Mooney E, Gammon WR. Heavy and Light Chain Isotypes of Immunoglobulin in Epidermolysis Bullosa Acquisita. *J Invest Dermatol.* 1990;95(3):317–9.
105. Bernard P, Prost C, Aucouturier P, Durepaire N, Denis F, Bonnetblanc JM. The subclass distribution of IgG autoantibodies in cicatricial pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita. *J Invest Dermatol.* 1991;97(2):259–63.
106. Cho HJ, Lee IJ, Kim SC. Complement-fixing abilities and IgG subclasses of autoantibodies in epidermolysis bullosa acquisita. *Yonsei Med J.* 1998;39(4):339–44.
107. Ludwig RJ, Zillikens D. Pathogenesis of epidermolysis bullosa acquisita. *Dermatol Clin.* 2011;29(3):493–501, xi.

108. Sitaru C, Mihai S, Zillikens D. The relevance of the IgG subclass of autoantibodies for blister induction in autoimmune bullous skin diseases. *Arch Dermatol Res*. 2007;299(1):1–8.
109. Gandhi K, Chen M, Aasi S, Lapiere JC, Woodley DT, Chan LS. Autoantibodies to type VII collagen have heterogeneous subclass and light chain compositions and their complement-activating capacities do not correlate with the inflammatory clinical phenotype. *J Clin Immunol*. 2000;20(6):416–23.
110. Aoki V, Sousa Jr JX, Fukumori LMI, Périgo AM, Freitas EL, Oliveira ZNP. Imunofluorescência direta e indireta. *An Bras Dermatol*. 2010;85(4):490–500.
111. Goyal N, Rao R, Shenoi S, Pai S, Kumar P, Bhogal B, et al. Epidermolysis bullosa acquisita and anti-p200 pemphigoid as major subepidermal autoimmune bullous diseases diagnosed by floor binding on indirect immunofluorescence microscopy using human salt-split skin. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2017;83(5):550.
112. Daneshpazhooch M, Fazlolahi S, Mahmoudi H, Atefi I, Beek N, Balighi K, et al. Epidermolysis bullosa acquisita: the most frequent pemphigoid disease in patients with dermal binding autoantibodies by indirect immunofluorescence microscopy on human salt-split skin in Tehran, Iran. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021;35(6):e370-e372.
113. Kim JH, Kim YH, Kim S, Noh EB, Kim SE, Vorobyev A, et al. Serum levels of anti-type VII collagen antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay in patients with epidermolysis bullosa acquisita are correlated with the severity of skin lesions. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27(2):e224-30.
114. Saleh MA, Ishii K, Kim YJ, Murakami A, Ishii N, Hashimoto T, et al. Development of NC1 and NC2 domains of Type VII collagen ELISA for the diagnosis and analysis of the time course of epidermolysis bullosa acquisita patients. *J Dermatol Sci*. 2011;62(3):169–75.
115. Caux F. Diagnosis and clinical features of epidermolysis bullosa acquisita. *Dermatol Clin*. 2011;29(3):485–91, x.
116. Marzano AV, Cozzani E, Biasin M, Russo I, Alaibac M. The use of Biochip immunofluorescence microscopy for the serological diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita. *Arch Dermatol Res*. 2016;308(4):273–6.
117. Engineer L, Ahmed AR. Emerging treatment for epidermolysis bullosa acquisita. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44(5):818–28.
118. Kirtschig G, Murrell D, Wojnarowska F, Khumalo N. Interventions for mucous membrane pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(1):CD004056.
119. Intong LRA, Murrell DF. Management of epidermolysis bullosa acquisita. *Dermatol Clin*. 2011;29(4):643–7.
120. Amber KT, Murrell DF, Schmidt E, Joly P, Borradori L. Autoimmune Subepidermal Bullous Diseases of the Skin and Mucosae: Clinical Features, Diagnosis, and Management. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2018;54(1):26–51.
121. Knobler R, Berlin G, Calzavara-Pinton P, Greinix H, Jaksch P, Laroche L, et al. Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014;28 Suppl 1:1–37.

122. Adamski J, Kinard T, Ipe T, Cooling L. Extracorporeal photopheresis for the treatment of autoimmune diseases. *Transfus Apher Sci.* 2015;52(2):171–82.
123. Kolesnik M, Becker E, Reinhold D, Ambach A, Heim MU, Gollnick H, et al. Treatment of severe autoimmune blistering skin diseases with combination of protein A immunoabsorption and rituximab: a protocol without initial high dose or pulse steroid medication. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014;28(6):771–80.
124. Schmidt E, Zillikens D. Immunoabsorption in dermatology. *Arch Dermatol Res.* 2010;302(4):241–53.
125. Czernik A, Toosi S, Bystryń JC, Grando SA. Intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune bullous dermatoses: an update. *Autoimmunity.* 2012;45(1):111–8.
126. Mosqueira CB, Furlani L de A, Xavier AF de P, Cunha PR, Galvao AMP. Intravenous immunoglobulin for treatment of severe acquired bullous epidermolysis refractory to conventional immunosuppressive therapy. *An Bras Dermatol.* 2010;85(4):521–4.
127. Oktem A, Akay BN, Boyvat A, Kundakci N, Erdem C, Bostanci S, et al. Long-term results of rituximab-intravenous immunoglobulin combination therapy in patients with epidermolysis bullosa acquisita resistant to conventional therapy. *J Dermatolog Treat.* 2017;28(1):50–4.
128. Saha M, Cutler T, Bhogal B, Black MM, Groves RW. Refractory epidermolysis bullosa acquisita: successful treatment with rituximab. *Clin Exp Dermatol.* 2009;34(8):e979-80.
129. Bevans SL, Sami N. The use of rituximab in treatment of epidermolysis bullosa acquisita: Three new cases and a review of the literature. *Dermatol Ther.* 2018;31(6):e12726.
130. Kim JH, Lee SE, Kim SC. Successful treatment of epidermolysis bullosa acquisita with rituximab therapy. *J Dermatol.* 2012;39(5):477–9.
131. Lamberts A, Euverman HI, Terra JB, Jonkman MF, Horvath B. Effectiveness and Safety of Rituximab in Recalcitrant Pemphigoid Diseases. *Front Immunol.* 2018;9:248.
132. Patel PM, Jones VA, Murray TN, Amber KT. A Review Comparing International Guidelines for the Management of Bullous Pemphigoid, Pemphigoid Gestationis, Mucous Membrane Pemphigoid, and Epidermolysis Bullosa Acquisita. *Am J Clin Dermatol.* 2020;21(4):557–65.
133. Hignett E, Sami N. Pediatric epidermolysis bullosa acquisita: A review. *Pediatr Dermatol.* 2021;38(5):1047–50.
134. Edwards S, Wakelin S, Wojnarowska F, Marsden R, Kirtschig G, Bhogal B, et al. Bullous pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita: presentation, prognosis, and immunopathology in 11 children. *Pediatr Dermatol.* 1998;15(3):184–90.
135. Murrell DF, Dick S, Ahmed AR, Amagai M, Barnadas MA, Borradori L, et al. Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus. *J Am Acad Dermatol.* 2008;58(6):1043–6.
136. Barreiro-Capurro A, Mascaró-Galy JM, Iranzo P. Estudio retrospectivo de las características clínicas, histológicas e inmunológicas en una serie de 9 pacientes con epidermolísis ampollosa adquirida. *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104(10):904–14.

137. Fairley JA, Woodley DT, Chen M, Giudice GJ, Lin MS. A patient with both bullous pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita: an example of intermolecular epitope spreading. *J Am Acad Dermatol.* 2004;51(1):118–22.
138. Aoki V, Lago F, Yamazaki MH, Santi CG, Maruta CW. Significado do epitope spreading na patogênese dos pênfigos vulgar e foliáceo. *An Bras Dermatol.* 2008;83(2):157–61.
139. Hurley D, Boyd JH, Charles E. Laryngeal Epidermolysis Bullosa Acquisita Requiring Tracheostomy Presenting with an Acquired Factor VIII Coagulopathy. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001;125(3):270–1.
140. Alexandre M, Brette MD, Pascal F, Tsianakas P, Fraitag S, Doan S, et al. A prospective study of upper aerodigestive tract manifestations of mucous membrane pemphigoid. *Medicine.* 2006;85(4):239–52.
141. Feizi S, Roshandel D. Ocular manifestations and management of autoimmune bullous diseases. *J Ophthalmic Vis Res.* 2019;14(2):195.
142. Park SB, Cho KH, Youn JI, Hwang DH, Kim SC, Chung JH. Epidermolysis bullosa acquisita in childhood - a case mimicking chronic bullous dermatosis of childhood. *Clin Exp Dermatol.* 1997;22(05):220–2.
143. Hashimoto T, Jin Z, Ishii N. Clinical and immunological studies for 105 Japanese seropositive patients of epidermolysis bullosa acquisita examined at Kurume University. *Expert Rev Clin Immunol.* 2016;12(8):895–902.
144. Komorowski L, Muller R, Vorobyev A, Probst C, Recke A, Jonkman MF, et al. Sensitive and specific assays for routine serological diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(3):e89-95.
145. Mooney E, Falk RJ, Gammon WR. Studies on complement deposits in epidermolysis bullosa acquisita and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol.* 1992;128(1):58–60.
146. Dainichi T, Chow Z, Kabashima K. IgG4, complement, and the mechanisms of blister formation in pemphigus and bullous pemphigoid. *J Dermatol Sci.* 2017;88(3):265–70.
147. Lehman JS, Johnson EF, Camilleri MJ, Gibson LE, Comfere NI, Kalaaji AN, et al. Impact of adding an IgG4 conjugate to routine direct immunofluorescence testing for subepithelial and intraepithelial autoimmune blistering disorders. *J Cutan Pathol.* 2022;49(4):358-362.
148. Aoki V, Huang MHT, Périgo AM, Fukumori LMI, Maruta CW, Santi CG, et al. Endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem) and pemphigus vulgaris: immunoglobulin G heterogeneity detected by indirect immunofluorescence. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo.* 2004;59(5):251–6.
149. Mihai S, Chiriac MT, Herrero-González JE, Goodall M, Jefferis R, Savage COS, et al. IgG4 autoantibodies induce dermal–epidermal separation. *J Cell Mol Med.* 2007;11(5):1117–28.
150. Cole C, Vinay K, Borradori L, Amber KT. Insights Into the Pathogenesis of Bullous Pemphigoid: The Role of Complement-Independent Mechanisms. *Front Immunol.* 2022;13:912876.