

# Aspectos imunopatológicos do vitiligo

## *Immunological aspects of vitiligo*

D. Pereira Antelo<sup>1</sup>, A. Lima Filgueira<sup>1</sup>, José Marcos T Cunha<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Setor de Fotodermatologia do Serviço de Dermatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho e <sup>2</sup>Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina-UFRJ, Brasil.

### Correspondencia:

Daniela Pereira Antelo  
Rua General Góes Monteiro, 8 ap 2402 bloco F  
Botafogo - cep 22290-080 - Rio de Janeiro  
Tel.: (5521)2239-9097  
e-mail: danielaantelo@dermatologista.net

### Resumo

Vitiligo é uma doença adquirida, hereditária, caracterizada por máculas acrômicas devido à ausência de melanócitos. Sem dúvida, é uma das dermatoses com efeito psicológico mais devastador. O fator que leva à destruição dos melanócitos permanece desconhecido. É uma doença multifatorial, onde estão envolvidos fatores genéticos, hereditários, imunológicos e ambientais.

Inúmeras são as teorias para explicar o seu surgimento. Tradicionalmente temos a teoria neural, da autotoxicidade e a auto-imune. Evidências atuais reforçam a hipótese da auto-imunidade, embora outras teorias como indução de apoptose dos melanócitos, descolamento melanocítico, melanocitorragia, defeito intrínseco do melanócito, teoria viral, alteração local das citocinas produzidas e teoria convergente tenham sido descritos.

Dados da imunidade humoral são vastos. Entretanto evidências recentes têm enfatizado o papel da célula T citotóxica na eliminação dos melanócitos da epiderme. A questão sobre como a resposta imune é iniciada permanece. Persiste indefinido se as alterações imunológicas são a causa ou a consequência da doença. Se elas representam um epifenômeno interessante, porém irrelevante, ou são, de fato, responsáveis pela injúria ao melanócito *in vivo*. De qualquer forma, a descoberta e descrição dos fenômenos imunológicos são importantes para se entender o mecanismo de surgimento do vitiligo. Diferentes abordagens são sugeridas para o tratamento do vitiligo em todas as partes do mundo, desta forma torna-se fundamental aumentar o conhecimento sobre seu mecanismo de doença. Neste artigo, os autores reviram a patogênese do vitiligo enfatizando a destruição auto-imune.

(D. Pereira Antelo, A. Lima Filgueira, JMT Cunha. Aspectos imunopatológicos do vitiligo. Med Cutan Iber Lat Am 2008;36:125-136)

**Palavras-chave:** vitiligo, imunopatogenia, linfócitos, auto-imunidade.

### Summary

*Vitiligo is an acquired disease, hereditary, characterized by achromic macules due to melanocytes absence. Patients suffer from a huge psychological impact. The factor that leads to destruction of melanocytes remains unknown. Genetic, hereditary, immunological and ambiental factors are related to this disease. There are many theories to explain its occurrence. Traditionally neural, autotoxicity (autodestruction) and autoimmune theories are described. Actual evidence reinforces autoimmune hypothesis, although another hypothesis as melanocyte apoptosis, melanocyte detachment, melanocytorrhagy, intrinsic defects of melanocytes, viral theory, local alteration of production of cytokines have been postulated.*

*Melanocyte death, evidenced in vitiligo patients, induces an humoral immunologic response and there are many data about this type of response. Although recent papers have showed the enrollment of cytotoxic T cell in the elimination of melanocytes in basal layer. The question about how the immune response begins remains unsolved. Are the immunological alterations cause or consequence of this disease? To date, remains unknown if the immunologic factors represent an interesting although irrelevant epiphenomena or they are, in fact, the cause of vitiligo. Different therapeutic approaches are suggested for vitiligo treatment all over the world, so it is essential to enhance knowledge about the mechanism of this disease. In this article, we reviewed pathogenesis of vitiligo enhancing autoimmunity destruction of melanocytes.*

**Key words:** vitiligo, pathogenesis, lymphocytes, autoimmunity.

O vitiligo é a hipomelanose adquirida mais freqüente, causada pela destruição dos melanócitos[1, 2]. Dentro da dermatologia, sem dúvida, é uma das dermatoses com efeito psicológico mais devastador[3]. O fator que leva à destruição dos melanócitos permanece desconhecido. É uma doença multifatorial, onde estão envolvidos fatores genéticos, hereditários, imunológicos e ambientais.

A morte dos melanócitos, evidenciada nos pacientes com vitiligo induz uma resposta imune humoral a partir da liberação dos antígenos intracelulares e há muitos dados sobre este tipo de resposta. Entretanto evidências mais recentes têm feito referência sobre o papel da célula T citotóxica na eliminação dos melanócitos da camada basal da epiderme. A questão sobre a forma como a resposta imune é iniciada permanece[4, 5]. Os trabalhos que correlacionam o papel da célula T citotóxica no vitiligo apontam para resultados divergentes.

Persiste indefinido se as alterações imunológicas são a causa ou a conseqüência da doença. Se elas representam um epifenômeno interessante, porém irrelevante, ou são, de fato, responsáveis pela injúria ao melanócito *in vivo*. Admitindo-se que as alterações imunológicas são a principal causa da lesão ao melanócito, como elas ocorrem?[6]. De qualquer forma, a descoberta e descrição dos fenômenos imunológicos são importantes para se entender o mecanismo de surgimento do vitiligo. Muitas terapêuticas existem para esta doença, com resultados variáveis, diversas com embasamento científico; outras, nem tanto.

A comparação do quadro do vitiligo segmentar e do generalizado sugerem diferenças clínicas fundamentais e correlação com mecanismos patogênicos distintos. Pacientes com vitiligo segmentar geralmente são mais jovens, a doença estabiliza-se no primeiro ano, não há fenômeno de *Koebner*, nem história familiar e associação com doenças auto-imunes.

Tradicionalmente existem três hipóteses básicas para explicar o vitiligo: hipótese neural, da auto-destruição e imunológica. Outros possíveis fatores etiológicos, como deficiência de fatores de crescimento dos melanócitos, defeito intrínseco na estrutura, e função dos melanócitos ou fatores genéticos, estresse oxidativo por alteração mitocondrial, um fenômeno descrito como melanocitorragia, também foram propostos para explicar o processo de despigmentação[7-9].

## Teoria imunológica/autoimune

Estudos recentes fornecem evidências a favor dessa hipótese auto-imune, de forma que ela será detalhada neste artigo. A associação com doenças auto-imunes, a presença de alterações inflamatórias na pele e a detecção de auto-anticorpos nos pacientes de vitiligo demonstram uma base imunológica para a etiopatogenia dessa doença.

A auto-imunidade é definida como a responsividade do Sistema Imune Adquirido (ou Adaptativo) para auto-antígenos que ocorre quando os mecanismos de auto-tolerância falham. Neste contexto, definiremos como doença auto-imune aquela causada pela perda da auto-tolerância de forma que o Sistema Imune Adquirido responde aos auto-antígenos, levando à lesão celular e tecidual. As doenças auto-imunes podem ser específicas (tireoidite ou diabetes) ou sistêmicas (lúpus eritematoso)[10].

Existem critérios estabelecidos para classificar uma doença como auto-imune (Tabela 1).

Desta forma, observamos no vitiligo: presença de auto-anticorpos, especificidade dos autoanticorpos, capacidade de destruição dos melanócitos pelos autoanticorpos e utilização de modelos animais [11, 12].

Diversas anormalidades na imunidade humoral e celular também foram descritas nesses pacientes. Provavelmente, a concomitância das ações imunitárias do tipo humoral e celular atuam de forma sinérgica na destruição dos melanócitos. A presença de vitiligo em animais como as galinhas da linhagem *Smith*, gato siamês, cachorros belgas, cavalos árabes e porcos possibilitou o uso de modelos experimentais[6]. Em *modelos animais* de vitiligo, usando galinhas da linhagem *Smith*, observou-se que a bursectomia, que prejudica a formação de anticorpos e o uso de ciclosporina A, que inibe seletivamente a resposta imune mediada por células T levaram ao retardo na ocorrência e reduziram a gravidade da despigmentação, sugerindo o papel dos dois tipos de resposta imune na patogênese da doença[13]. Nestes mesmos modelos animais de vitiligo, observaram-se anticorpos séricos contra os melanócitos destes cobaios, mas não no soro de galinhas com pigmentação normal[14].

Diversos esquemas terapêuticos que envolvem imunomodulação e imunossupressão são terapias eficazes para o vitiligo e que confirmam a autoimunidade envolvida nessa doença. Incluem-se, neste grupo, a fototerapia (PUVA; BB-UVB e NB-UVB) e o uso de corticóides tópicos que levam à repigmentação através da supressão da resposta imunológica local responsável pelo dano ao melanócito.

Para que ocorra uma doença auto-imune é necessária uma ruptura da homeostase normal do sistema imunológico levando à destruição tecidual. Em pessoas normais, o sistema imune mantém a habilidade de reconhecer 25 milhões de antígenos diferentes[15].

## A célula T-CLA<sup>+</sup> e seu papel nas dermatoses

Diversas moléculas de adesão estão envolvidas na migração de células T do sangue para os tecidos, mas as células

T de memória (CD45RO<sup>+</sup>) que infiltram a pele expressam um determinante antigênico único denominado antígeno cutâneo linfocitário (CLA), uma glicoproteína de superfície, uma estrutura de carboidrato similar ao antígeno *sialil-Lewis X*, que interage com a selectina endotelial (E-selectina) que facilita a chegada do linfócito à pele. Esta glicoproteína é expressa no momento da transição das células T não ativadas para células T de memória, nos linfonodos que drenam a pele[16, 17]. Assim, nas doenças cutâneas inflamatórias, as células T expressam o CLA na superfície, que se ligam a E-selectina e P-selectina (esta presente no endotélio e na plaqueta, conhecida também como CD62P), ao passo que doenças inflamatórias de outros sítios elas são CLA-negativas, ligando-se apenas à P-selectina, mas não à E-selectina[18]. Além de ser um marcador das células T de memória específicas da pele, o CLA atua como molécula de adesão, pois permite a ligação das células T ao endotélio das vênulas cutâneas pós-capilares. O CLA irá se ligar a E-selectina, seu ligante endotelial, que é expressa de forma constitutiva, em pequenas quantidades, nos microvasos cutâneos, mas que durante processos inflamatórios cutâneos, sob efeito de IL-1 e TNF-alfa, tem sua expressão aumentada[16]. Além da E-selectina outros mediadores facilitam a localização cutânea das células T CLA<sup>+</sup> como citocinas e receptores de quimiocinas. Além da interação CLA/E-selectina, também são descritas as interações VLA-4/VCAM-1 e LFA-1/ICAM-1 entre os linfócitos e o endotélio, respectivamente, para a migração transendotelial das células T-CLA<sup>+</sup> [17].

A população de linfócitos T circulantes que expressam o CLA (que corresponde a 10-20%, média de 15%, do total de linfócitos no sangue) e que migrarão para a pele constituirão mais de 85%-90% do infiltrado linfocitário das doenças inflamatórias cutâneas[19, 20]. As células T de memória (CD45RO<sup>+</sup>) que expressam o CLA são geradas nos linfonodos que drenam a pele e são recrutadas para a pele durante o processo inflamatório. Embora o papel inicial destas células T de memória seja vigilância imunológica, elas estão envolvidas em muitas doenças como dermatite de contato alérgica, alopecia areata, psoríase, dermatite atópica, vitiligo, farmacodermias, líquen plano, doença do enxerto-contra-hospedeiro e linfoma cutâneo de células T[16, 17].

As células T *naive* (CD45RA<sup>+</sup>) são aquelas que nunca entraram em contato com o antígeno e estão continuamente recirculando entre o sangue e os órgãos linfóides, sendo que é a expressão da L-selectina por estas células que permite sua entrada nos linfonodos. Quando esta célula T *naive* encontra o antígeno, específico para seu receptor, expresso na célula apresentadora de antígeno no linfonodo

que drena a pele, ela se torna ativada e se torna uma célula T de memória (CD45RO<sup>+</sup>) que expressa o CLA. Com a expressão do CLA, ela adquire o elemento-chave para migrar para a pele, deixando os linfonodos pelos linfáticos eferentes e indo atingir a pele, local onde inicialmente o antígeno foi apresentado à célula apresentadora de antígeno[16].

O comportamento migratório destas células T-CLA<sup>+</sup> é importante para a compreensão de como elas exercem o papel de vigilantes imunológicos e na patogenia das doenças cutâneas mediadas por célula T. Sendo esta migração, um evento controlado[17].

Estudos demonstraram que linfócitos T citotóxicos autoreativos melanócito-específico que expressam o CLA causam a destruição dos melanócitos vista no vitiligo auto-imune[21, 22]. Eles se encontram justapostos aos melanócitos em destruição na área perilesional[3].

A inibição da síntese do CLA pode constituir um caminho para se obter atividade anti-inflamatória *in vivo*. Viu-se que o análogo fluorado da 4-fluorada-D-glicosamina-N-acetilglicosaminaparacetilada (4-F-GlcNac), um metabólito inibidor da síntese do CLA, evita a fase efetora da dermatite de contato alérgica em camundongos. Desta forma, a inibição do CLA pode constituir um alvo terapêutico para as dermatoses mediadas por célula T[22]. De forma análoga, os controles das variáveis que controlam a glicosilação da PSGL-1 para sua transformação em CLA poderiam representar outro sítio para tratamento destas doenças[18].

## Imunidade humoral e vitiligo

A associação com doenças auto-imunes e *presença de anticorpos* circulantes no soro de pacientes com vitiligo dão fundamento à participação da imunidade humoral na patogênese da doença. Estes corresponderiam a alguns dos critérios definidos para autoimunidade[23, 4]. Na realidade, não se sabe o papel verdadeiro dos autoanticorpos no vitiligo: se eles levariam à destruição dos melanócitos ou se seriam secundários à destruição destas células[25].

Como citado previamente, o vitiligo está associado a diversas doenças auto-imunes, inclusive endocrinopatias, como a doença tireoideana com presença de autoanticorpos. A frequência de autoanticorpos órgão-específicos é variável: anticorpos anti-célula parietal, anti-adrenal, anti-músculo liso, anti-nuclear e anti-tireoideanos. Geralmente estes podem ser encontrados sem que haja doença auto-imune naquele órgão clinicamente manifesta[26-28]. Acredita-se que, de todos os auto-anticorpos encontrados em pacientes com vitiligo, apenas os anti-tireoglobulina, anti-

peroxidase e anti-microsomal estariam elevados de forma consistente (encontrados em 10-17% dos pacientes com vitiligo); sendo os outros auto-anticorpos apenas marcadores de possibilidade de desenvolvimento de doença auto-imune[25]. Sendo que, inclusive nos parentes de 1º e 2º grau de indivíduos com vitiligo, há aumento estatístico considerável na frequência dos anticorpos antitireoglobulina e antimicrosomal[28]. O achado desses anticorpos, especialmente na ausência de doença clínica, não explica, isoladamente, a injúria específica ao melanócito.

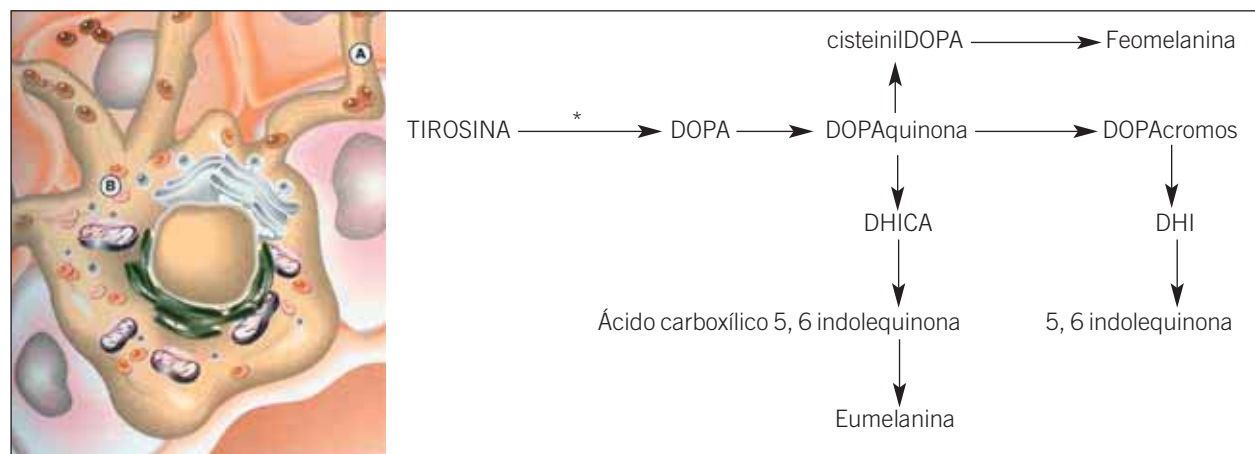
Em virtude destes achados, deve-se solicitar anualmente a dosagem de TSH e anti-TPO nos adultos e crianças com vitiligo, embora não exista um protocolo estabelecido para acompanhamento destes indivíduos[29, 30]. Auto-anticorpos contra melanócitos também foram encontrados no soro de pacientes com vitiligo, demonstrando assim a *especificidade dos anticorpos* nesta doença (critério 2 da doença auto-imune - vide Tabela 1). Diversas técnicas foram utilizadas para detectá-los: imunoprecipitação, imunofluorescência indireta, *immunoblotting* e ELISA. Usando técnicas de imunoprecipitação, antígenos imuno-dominantes foram inicialmente caracterizados com peso molecular de 40-45, 75, 90 e 150 Kd, designados VIT40, VIT75 e VIT90[6]. Alguns desses antígenos (35 e VIT90) são exclusivos das células pigmentadas[31]. Mas a identidade desses antígenos permanece indefinida. Não se sabe se estes, especificamente, correspondem a tirosinase ou TRP-1 ou à proteína S100[6, 32].

**Tabela 1.** Critérios de doença auto-imune

<ol style="list-style-type: none"> <li>Ocorrência de auto-anticorpos.</li> <li>Especificidade de auto-anticorpos contra antígenos, que se correlacionam com a atividade da doença.</li> <li>Habilidade dos auto-anticorpos em causar injúria e destruição celular <i>in vitro</i>.</li> <li>Modelos animais demonstrando <i>in vivo</i> o papel dos anticorpos como prova definitiva do seu papel na gênese da doença.</li> </ol>
<p><i>Extraído de Jérôme Castanet and Jean-Paul Ortonne IN: Skin Immune System (SIS) Second Edition, 1997 edited by Jan D. Bos.</i></p>

Alguns dos anticorpos parecem reagir com múltiplos antígenos presentes não apenas nos melanócitos como também em outros tecidos, assim observa-se uma heterogeneidade na resposta de anticorpos. Embora haja essa heterogeneidade de anticorpos não se sabe por que ocorre destruição seletiva dos melanócitos e não de outros tipos celulares. Talvez porque os melanócitos sejam tipos celulares mais sensíveis a injúria tóxica e imunitária[32].

Oitenta por cento dos pacientes com vitiligo tem anticorpos circulantes contra antígenos de superfície dos melanócitos, esses anticorpos são citotóxicos para os melanócitos normais e células de melanoma *in vitro* e *in vivo*[26, 33]. Alguns trabalhos encontraram estes anticorpos em 50% dos pacientes com escassas lesões e em 93% dos pacientes com doença extensa[34]. Em um estudo de caso-controle iraniano, encontrou-se 30% de anticorpos antimelanócitos nos pacientes com vitiligo e ausência deste nos indivíduos



**Figura 1.** A) O melanócito. B) Biossíntese da melanina - Os melanócitos sintetizam a tirosinase e quando incorporadas em organelas especiais (melanossomos) são iniciados uma série de eventos que levam à síntese e deposição da melanina. A tirosinase(\*) (monofenol; L-dopa) catalisa a primeira reação da biossíntese da eumelanina: a hidroxilação da tirosina a DOPA (3,4 dihidrofenilalanina quinona). A DOPA será oxidada a DOPAquinona pela tirosinase até formar dopacromo. Ele se descarboxilará espontaneamente para formar DHI, que será rapidamente oxidado para produzir 5,6 indolequinona. Na presença de cátions divalentes, um intermediário carboxilado DHICA será formado e quando oxidado formará ácido carboxílico 5,6 indole-quinona, que será autooxidado para formar a eumelanina. Quando a DOPAquinona encontra compostos sulfidrilícos, será formada cisteinilDOPA e subseqüentemente, feomelanina.

sãos, além de redução de complemento C3 e C4 entre os doentes. Esta redução do complemento pode estar relacionada ao seu consumo durante o processo auto-imune. Esses anticorpos citotóxicos se correlacionam com a extensão e atividade da doença[34].

Imunoglobulina G purificada de pacientes com vitiligo quando injetada em camundongos com pele humana transplantada resultou em redução do número de melanócitos no enxerto e tem efeito destrutivo contra células de melanoma *in vitro* e em camundongos[33]. Estes resultados foram confirmados por Gilhar et al., que em 1995, demonstraram que IgG de pacientes com vitiligo, quando injetadas em camundongos transplantados com pele humana, levava a destruição dos melanócitos, evidenciada por IF direta, imunistoquímica e microscopia eletrônica[35]. Sendo que esta citólise dos melanócitos pelo soro de pacientes com vitiligo ocorria especialmente no vitiligo ativo[36]. Definiu-se assim a *citotoxicidade mediada por anticorpos*.

Foi observado que na ocorrência simultânea de vitiligo e melanoma, a progressão do melanoma em cobaias (porcos e cavalos) é mais lenta provavelmente porque anticorpos antimelanoma destroem os melanócitos em pacientes com metástase[37, 38].

Anticorpos anti-tirosinase (proteína de 69-kD/75kD), uma enzima-chave na síntese da melanina, portanto um antígeno intracelular, foram identificados, através de *Western Blot* em 77% dos pacientes com vitiligo e em 12% dos pacientes com doença endócrina auto-imune sem vitiligo (ver Figura 1). Dois tipos de tirosinase foram isoladas dos melanócitos: uma intracelular, ligada à membrana e outra solúvel[39]. Sendo que estes estudos demonstraram inicialmente que os títulos se correlacionavam com a atividade da doença, sugerindo também que os pacientes com doença mais extensa apresentariam títulos mais elevados do que pacientes com a doença focal[34, 39]. Acredita-se também que estes autoanticorpos não sejam dirigidos contra o sítio catalítico da enzima[39]. Entretanto são necessárias evidências mais substanciais para poder afirmar esta correlação de forma irrefutável[12].

Outro grupo encontrou uma frequência de 40% de pacientes com anticorpos anti-tirosinase[40]. Xie et al., não encontrou anticorpos anti-tirosinase nos pacientes com vitiligo[41]. Mesmo com dados conflitantes, muitos autores sugerem que a tirosinase é o principal antígeno do vitiligo auto-imune[42].

Os resultados possivelmente diferem pois o soro de pacientes com vitiligo reage contra múltiplos epítomos da tirosinase, além de duas proteínas relacionadas à ela (TRP-1 e TRP-2: proteína relacionada a tirosinase 1 e 2 respectivamente)[43, 44].

Estes anticorpos anti-tirosinase, além de serem encontrados em pacientes com vitiligo, foram encontrados em pacientes com melanoma, especialmente na forma metastática e pacientes em imunoterapia para melanoma. Este dado pode ter implicações terapêuticas[44].

Outros antígenos de diferenciação melanocítica, além da TRP-1 e TRP-2, foram reconhecidos: gp100/Pmel17 (glicoproteína de matriz melanossômica), os quais se localizam nos melanossomos. Entretanto, esses anticorpos dirigidos a Pmel17 e TRP-possuem baixa frequência, o que reflete um papel secundário na destruição dos melanócitos no vitiligo auto-imune[45, 46].

Recentemente foi descoberto o autoanticorpo contra o receptor de superfície *melanin-concentrating hormone receptor 1* (MCHR1), de alta especificidade em pacientes com vitiligo, usando-se IgG do soro de pacientes com vitiligo através da técnica de radioimunoensaio. Sendo que permanece a discussão se este anticorpo seria fundamental na gênese da doença ou se surgiriam secundariamente ao processo de destruição dos melanócitos. Mesmo porque o receptor MCHR1 também foi encontrado em outros elementos celulares como queratinócitos e células do sistema nervoso central, embora os melanócitos realmente pareçam mais sensíveis à injúria imune-mediada[45, 46].

Alguns estudos de imunidade celular demonstraram atividade de linfócitos citotóxicos dirigida contra Melan A (MART1), uma proteína específica dos melanócitos, mas autoanticorpos contra Melan A não foram encontrados no soro de pacientes com vitiligo, em estudos controlados sobre o papel da imunidade humoral[45, 46].

Enquanto anticorpos contra melanócitos têm papel importante na destruição dos mesmos, a destruição dos queratinócitos é provavelmente secundária a inflamação. O soro de pacientes com vitiligo é citotóxico para melanócitos, mas não para queratinócitos *in vitro*[47].

A citólise mediada pelo complemento dos melanócitos humanos pelo soro do paciente com vitiligo está aumentada nos pacientes com doença ativa em relação aos pacientes com doença estável. Desta forma, o soro do paciente com vitiligo tem capacidade de lesar melanócitos em cultura pela *citotoxicidade mediada pelo complemento*[47]. Justifica-se desta forma o terceiro critério de doença auto-imune (Tabela 1).

Embora o soro de pacientes com vitiligo tenha capacidade de lesar melanócitos *in vitro* e *in vivo*, não se sabe se os autoanticorpos conhecidos são de fato patogênicos; se eles surgem de forma secundária a outro tipo de resposta imune (como a destruição dos melanócitos por linfócitos T citotóxicos) ou por reação cruzada com outros antígenos desconhecidos. Sendo que a lise dos melanócitos em cultura ocorre

por citotoxicidade dependente de complemento e citotoxicidade dependente de anticorpos[48, 49].

## Imunidade celular

Estudos sobre imunidade celular também foram realizados com pacientes de vitiligo. Durante muito tempo o infiltrado de células T no vitiligo foi menosprezado talvez por estar presente, de forma mais intensa, apenas nas margens das lesões de pacientes com a doença em atividade[4].

Os primeiros relatos do envolvimento da imunidade celular na patogênese do vitiligo se originaram nos estudos do infiltrado inflamatório observado ocasionalmente no vitiligo. Investigação histológica da área perilesional sugeria o envolvimento de linfócitos no processo de acromia. Estudos imunoistoquímicos confirmaram a presença de células T no infiltrado inflamatório bem como sua localização, frequente, próxima aos melanócitos perilesionais. Estes infiltrados foram estudados em pacientes com vitiligo generalizado, o que corresponde à grande maioria dos pacientes, assim ainda permanece a necessidade de investigação dos infiltrados de pacientes com vitiligo segmentar ou ocupacional[22, 49].

O fato do vitiligo vulgar se apresentar com lesões localizadas, simétricas, acometendo os mesmos sítios anatômicos de forma bilateral, bem demarcadas, ao invés de uma perda de coloração generalizada, gerou a inferência de que clones de linfócitos com predileção por determinadas áreas (algo parecido com o que ocorre no linfoma) fossem importantes para a destruição dos melanócitos, mais do que a ação dos autoanticorpos[50].

Al Badri et al., demonstraram, através de estudos de imunoistoquímica das margens de lesões de vitiligo, presença de células T CD4+ e CD8+, sem aparente alteração na relação entre elas, e um número maior de células T HECA-452+ do que a pele de controles sem vitiligo ou de pele não acometida de pacientes com vitiligo. Sendo que muitos destes linfócitos T direcionados para a pele encontravam-se ativados (MHC-II+ e IFN-gama+). Esse fato contribui para o achado de que as células T lesionais estão envolvidas na destruição auto-imune dos melanócitos. Os autores inclusive especulam que as células T lesionais sejam mais importantes para a destruição auto-imune dos melanócitos do que os autoanticorpos antimelanocíticos[51].

A sugestão de Al Badri et al., sobre o papel da célula T no vitiligo foi reforçada com os achados de Van den Wuijngaard et al., e Le Poole et al. Através de estudos de imunoistoquímica da área perilesional no vitiligo generalizado, em atividade, detectaram-se principalmente células TCD4+ e TCD8+ no infiltrado celular, geralmente com um alto número de lin-

fócitos T CD8+/CD45RO+ na área marginal da lesão e uma relação CD4/CD8 reduzida (aproximadamente 0.48). Sendo que estas células T perilesionais expressaram moléculas de adesão (ICAM-1) e moléculas de ativação como o receptor de interleucina 2 [IL-2R (CD25)]; HLA-DR e o complexo maior de histocompatibilidade II (MHC II)[52, 53].

Sendo que estas células T citotóxicas, adjacentes à melanócitos em destruição na pele perilesional, eram CLA+[21].

Expandido-se os linfócitos da periferia das lesões de pacientes com vitiligo associado ao melanoma, viu-se que eles eram constituídos predominantemente por linfócitos TCD8+, que reconheciam antígenos de diferenciação melanocítica, sendo que a grande maioria (97%) expressava o CLA. Vinte e seis por cento dos mononucleares periféricos autólogos expressavam o antígeno cutâneo linfocitário[54].

O aumento da população TCD8+ na pele de pacientes com vitiligo é diferente do que ocorre em outras dermatoses inflamatórias como psoríase, dermatite atópica e de contato e líquen plano, nas quais os linfócitos T que infiltram a pele são predominantemente células T CD4+ de memória[55].

Diferentes dos trabalhos realizados sobre vitiligo, Ahn e colaboradores, encontraram, através de imunoistoquímica, uma maior proporção de células T CD4+ na periferia das lesões em atividade e número normal de T CD8+[53].

Estes dados estavam de acordo com os resultados de Al Badri et al., que encontraram expressão elevada de MHC-II e ICAM-1 pelos melanócitos perilesionais em 13 de 21 pacientes estudados. Uma vez que estas moléculas desempenham papel importante na ativação da célula T helper e na apresentação do antígeno[51].

Foi analisado também o perfil de citocinas *in vitro* produzidos por clones de células T perilesionais estimuladas. Com a análise de todo espectro de citocinas produzidas pelas células T CD4+ e TCD8+, tanto da área perilesional como não lesada, houve tendência a um padrão tipo1. Sendo que em dois pacientes foi demonstrada citotoxicidade dos clones de células TCD8+ contra melanócitos autólogos, sendo específicos para MART-1[56]. Através da medida sérica dos níveis de IL-1, IL-1beta, IL-6, IL-8, TNF-alfa e GM-CSF, observou-se apenas elevação dos níveis de IL-6, GM-CSF e IL1-beta, especialmente nos pacientes com vitiligo generalizado e em progressão[57].

Além de células T no infiltrado celular, macrófagos CD68+ são abundantes na derme e não foram encontradas células B no infiltrado inflamatório destes pacientes[51].

O papel das células de Langerhans, que agem com células apresentadoras de antígenos e ativadoras das células T no vitiligo não é bem definido. Acredita-se que a célula de Langerhans tenha um papel importante na interação mel-

nócito-queratinócito, embora não tenha sido esclarecida sua função. A escolha do local de biópsia, tipos de vitiligo e técnicas utilizadas explicam os resultados divergentes sobre estas células na pele de pacientes com vitiligo. Foram encontradas alterações degenerativas das células de Langerhans, além sua depleção em lesões ativas e em repigmentação e ressurgimento destas células quando as lesões estabilizam[58, 59]. Sua depleção no momento da atividade da doença pode ocorrer em consequência aos fatores citotóxicos liberados durante o processo imunológico. Entretanto, outros encontraram aumento destas células e retorno à normalidade quando ocorre a repigmentação[58, 59].

Outras evidências do papel da imunidade celular na patogênese do vitiligo surgiram a partir de estudos com melanoma. A destruição seletiva das células pigmentadas é o objetivo terapêutico no melanoma[5]. Viu-se que a presença de vitiligo, dentro das lesões de melanoma, circundantes ou distais à lesão tumoral, estava relacionada com aumento da sobrevida de pacientes com melanoma. Em estudos com imunoterapia com IL-2, observou-se que os pacientes que apresentavam regressão do melanoma desenvolviam, em 20% dos casos, simultaneamente, lesões de vitiligo. Presume-se que a IL-2 estimule a resposta imune pré-existente contra os melanócitos, levando à morte dos melanócitos normais[6]. Assim, a despigmentação foi tida, por alguns como um fator prognóstico para pacientes com melanoma, embora outros não demonstrem aumento da sobrevida em pacientes com melanoma[60].

A contribuição do estudo de pacientes com melanoma também veio elucidar contra quais antígenos melanocíticos os linfócitos T citotóxicos se dirigiam. As células T do infiltrado tumoral reconhecem antígenos de diferenciação melanocítica que também são expressos por melanócitos normais como tirosinase, gp100, MART-1, TRP-2, proteína P e TRP-1. Estes alvos são a base da terapia imunológica para melanomas[62, 63]. A infusão de clones de T CD8<sup>+</sup> específicos para MART1, acompanhados de IL-2, em um paciente com melanoma metastático levou a surgimento de eritema seguido de alterações vitiligóides. A biópsia desta pele inflamada, após a infusão, revelou a presença de células névicas degeneradas e um infiltrado inflamatório intenso. Neste infiltrado, após imunoistoquímica, demonstrou-se que 28% dos linfócitos tratava-se de células T CD8<sup>+</sup>-específicas para MART1, presentes também no sangue (correspondendo a 1,2% de todas as células TCD8<sup>+</sup>). Caracterizou-se desta forma o componente migratório das células, que saíram do sangue, para a pele, atraídas pelo antígeno MART-1[61, 62].

Outros estudos envolvendo antígenos que estimulariam linfócitos T CD8<sup>+</sup> com ação antitumoral, foram realizados em modelos animais e humanos. Viu-se que a vacinação com

plasmídeo de TRP-2, em camundongos, estimulou linfócitos TCD8<sup>+</sup> levando a destruição das células tumorais, mas não ocasionou vitiligo. Assim, sugeriu-se que a proteção imunológica poderia ocorrer sem agressão autoimune difusa. Além disso, a patogênese do vitiligo em pacientes com melanoma estaria mais relacionada com a ação dos anticorpos contra antígenos melanocíticos do que a atividade da célula T citotóxica[63]. Embora achados anteriores, *in vivo*, tenham demonstrado que a vacinação com TRP-2 leva ao surgimento de anticorpos anti-TRP-2, cujos títulos se correlacionariam com o surgimento de vitiligo e melhora do prognóstico[40].

Por outro lado, em outra pesquisa, apenas a vacinação com TRP-1 e não com outros antígenos como TRP-2, gp100, MART-1 e tirosinase, em camundongos, levou à despigmentação e destruição das células de melanoma. Além disso, a ação "imunogênica" do TRP-1 estava, surpreendentemente, associada ao recrutamento dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> e presença de linfócitos T CD4<sup>+</sup> anti-TRP1, além dos anticorpos IgG anti-TRP1, demonstrando ter um papel importante no processo de despigmentação. Este dado foi discordante de todos os outros estudos em que o foco de atenção era o linfócito T CD8<sup>+</sup> citotóxico[64].

Avaliando-se o tratamento com interferon- $\alpha$ 2b para 200 pacientes com melanoma avançado, viu-se que a autoimunidade era um fator de bom prognóstico, relacionado ao aumento de sobrevida destes pacientes. Entre os pacientes, observou-se uma ocorrência de 6% de vitiligo e 10% de outras manifestações auto-imunes como tireoidopatias com autoanticorpos positivos[65].

Uma outra estratégia, na imunoterapia em pacientes com melanoma, é estimular a ativação da célula T através do bloqueio do CLTA-4 (um antígeno associado ao linfócito T citotóxico), um receptor crucial para a redução da ativação da célula T. Como durante a imunoterapia, alguns pacientes desenvolvem vitiligo, a contribuição para o entendimento do mecanismo imunológico do vitiligo a partir de modelos com melanoma é óbvia[66].

Acredita-se que as mesmas células T do infiltrado adjacente a um melanoma sejam as células T encontradas nas biópsias das lesões em despigmentação. Restando, então, a pergunta se as células T são as responsáveis pelo processo de despigmentação em pacientes sem neoplasia e sem nenhuma causa aparente para a perda da tolerância a auto antígenos[67].

Quando estas células T CD8<sup>+</sup> Melan-A-específicas eram infundidas em pacientes com melanoma metastático, eles desenvolviam lesões inflamatórias e máculas acrômicas, além de regressão do melanoma. Assim, as células T citotóxicas CD8<sup>+</sup> têm um papel importante na destruição imunológica dos melanócitos.

Sabemos que nas doenças auto-imunes temos expansão dos linfócitos T CD4+[11]. Estudos das células mononucleares do sangue periférico usando anticorpos monoclonais com citometria de fluxo ou microscopia de fluorescência e ensaios de citotoxicidade mediada pelo complemento demonstraram resultados controversos no perfil de células T e células *Natural-Killer* (NK) em pacientes com vitiligo.

Em 1978, já se estudava as subpopulações linfocitárias do sangue periférico, através de imunofluorescência, pois se suspeitava da ação das células linfocitárias com os antígenos melanocíticos, mas nenhuma alteração significativa foi encontrada na época[68]. Posteriormente alguns estudos de caso-controle, ainda envolvendo imunofluorescência, demonstraram que pacientes com vitiligo, estável por mais de um ano, apresentaram elevada relação CD4/CD8, com aumento percentual e absoluto das células TCD4+, o que ocorre frequente-

mente nas doenças autoimunes com produção de auto-anticorpos. O foco de estudo, tornou-se nestes estudos, o papel da célula T CD4+ e seu desempenho como agente de imunoregulação. Estes achados também foram encontrados nos pacientes de primeiro grau dos doentes[69, 70].

O fato desta relação TCD4+/TCD8+ ter sido elevada em pacientes de 1º grau de portadores de vitiligo sugere que ela possa ser um marcador da doença, mesmo em um estado latente ou subclínico. A expansão das células T CD4+ circulantes é um fenômeno comum em várias doenças auto-imunes e a relação CD4/CD8 é regulada por uma série de mecanismos homeostáticos. Uma perturbação nesse sistema finamente regulado pode levar à uma desordem auto-imune como o vitiligo[71].

Entretanto, Grimes et al., encontraram redução dos linfócitos CD3+ e CD4+ e redução da relação CD4/CD8, em

**Quadro 1.** Perfis descritos dos linfócitos T periféricos dos pacientes com vitiligo

Autor	N.º pacientes	Controles pareados	Atividade do vitiligo	T Totais	TCD4+	TCD8+	Relação CD4/CD8	Técnica utilizada
Ortonne, 1978	38	não	Não informada	normal	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado	Roseta de hemácias de carneiro
Soubiran, 1985	32	Não	estável	normal	elevado	normal	elevada	IF
Grimes, 1986	20	sim	Não informado	reduzidos	redução		redução	IF e Citox assoc Ao complem
Halder, 1986				reduzidos	reduzidos	elevado		CF
D'Amelio, 1990	22	sim	estável	normal	elevado	Tende a redução	elevada	IF
Mozzanica, 1990	12	sim	Ambos incluídos		Reduzido na forma ativa	Reduzido na forma estável e ativa	Não informado	CF
Abdel-Naser, 1992	16	sim	Ambos incluídos	normal	normal	normal	normal	CF
Park, 1992	50 Coreanos	sim	ativo	normal	reduzido	elevado	40% relação Invertida (< 1)	CF
Mahmoud, 1998	34 kwaitianos	sim	ativo	Não informado	Normal (tende a Redução)	normal	Normal (tende a Redução)	CF
Gunduz, 2004	45 turcos	Não informado	Ambos incluídos	normal	reduzidos	normal	reduzida	CF

CAC = Citotoxicidade associada ao complemento; IF = imunofluorescência; CF = citometria de fluxo.

estudos de imunofluorescência, em pacientes com vitiligo em atividade e menos de um ano de evolução. Especulou-se que esta redução dos linfócitos T CD4 poderia estar relacionada com a migração destas células da circulação periférica para a pele com vitiligo[71]. Além disso, esta redução de linfócitos totais pode estar relacionada com ativação mediada pelo antígeno e subsequente morte celular [31].

À semelhança de Grimes *et al*, Halder *et al*, no mesmo ano, também evidenciou redução dos linfócitos T totais e da células T CD4+ em pacientes com vitiligo de curta evolução[72]. Posteriormente, esta redução de linfócitos TCD4+ e da relação CD4/CD8 foi descrita em pacientes tucos[73].

Crianças foram também avaliadas. Em estudos feitos sobre imunidade celular encontraram-se redução dos níveis periféricos de linfócitos T citotóxicos, aumento de linfócitos T ativado e redução de células com atividade natural Killer[74].

Foi demonstrado, em seres humanos, que as células T apresentam um ritmo circadiano e uma modulação sazonal. Assim, foram realizados estudos para determinar se havia alteração no ritmo circadiano das células T em pacientes com vitiligo. Viu-se que pacientes com a doença em atividade perderam o ritmo circadiano das células TCD4, enquanto que nos pacientes com a doença estável não ocorria. Neste mesmo estudo viu-se que as células T CD4+ estavam reduzidas nos pacientes com vitiligo ativo e as células TCD8+ estavam diminuídas tanto nos pacientes com a doença estável como na doença ativa. Desta forma, parece que um percentual baixo de células TCD4+ associa-se com a atividade da doença e a redução das células TCD8+, com a existência do vitiligo[75].

Em 1992, Abdel-Naser e colaboradores, estudaram 16 pacientes com vitiligo, incluindo a forma estável e ativa, tendo encontrado valores normais para as subpopulações linfocitárias[76]. Estes foram os mesmos resultados de Mahmoud *et al.*, que estudou 34 pacientes com vitiligo em atividade. Entretanto eles encontraram expressão elevada de CD25 e HLA-DR pelos linfócitos nos pacientes com vitiligo, indicando ativação das células T[74, 77].

Todas estas alterações discrepantes, entre os diferentes autores, podem ter sido ocasionadas por inclusão de grupos heterogêneos em relação à atividade, e evolução do vitiligo, diferentes etnias, além de técnicas de coleta e processamento distintos (ver Quadro 1) Foi descrito, inclusive, que as populações de linfócitos periféricos podem sofrer influência de fatores como estresse, tabagismo, drogas, atividades esportivas e envelhecimento[78].

Desta forma, em 1993, estudou-se um grupo homogêneo de cinquenta pacientes coreanos com vitiligo em ativi-

dade, generalizado, nos quais foi detectada redução dos linfócitos TCD4+ e aumento dos linfócitos T CD8+, além de inversão da relação CD4/CD8 em 40% destes indivíduos[79].

Além desses achados, a ativação de linfócitos T circulantes também foi observada. A ativação de células T foi confirmada no vitiligo através da detecção de níveis elevados de receptores de interleucina 2 solúveis (sIL2-R) especialmente na forma generalizada e no vitiligo de curta duração. Sabe-se que os níveis de receptor solúvel de interleucina 2 no soro indicam ativação de células imunocompetentes, especialmente linfócitos, uma vez que a IL-2 é uma citocina que age com fator de crescimento para a célula T. Uma correlação significativa do nível elevado de sIL2-R com a atividade da doença e período menor que 1 ano de evolução foi observada[80, 81].

Ogg *et al.*, e Mantovani *et al.*, demonstraram, através de complexos tetraméricos de HLA, a presença de linfócitos T CD8+ Melan-A-específicos no sangue de pacientes com vitiligo auto-imune. Melan-A é um antígeno de diferenciação melanocítica, sendo que estas células correlacionaram-se com a extensão e atividade da doença. Sendo que essas células, reconhecedoras do Melan-A, expressavam o CLA, o que não ocorria no grupo controle[82, 83]. Utilizando esta mesma técnica, observou-se também reatividade das células TCD8+ para outros antígenos, além do Melan-A, tendo sido encontrada para os peptídeos gp-100, mas não para tirosinase. Sendo que esta reatividade era maior nos pacientes com a doença em atividade[84]. Desta forma definiu-se um papel consistente das células T melanócito-específicas no vitiligo, sendo a imunidade celular dependente de TCD8+ um possível alvo de intervenção terapêutica[22, 83, 84].

Utilizando avançadas técnicas genéticas de imunização para indução de resposta imune antígeno-específica em modelos animais, sem indução de células TCD4+ e anticorpos, foi evidenciado que as células pigmentares da epiderme eram destruídas por linfócitos TCD8+, que se dirigiam contra TRP-2, uma enzima melanossômica envolvida na síntese da melanina[85, 86].

Além do linfócito, a célula NK foi estudada em pacientes com vitiligo. Alguns autores não demonstraram alteração das células NK, descartando que elas possam estar envolvidas na destruição dos melanócitos no vitiligo[87]. Já outros estudiosos encontraram aumento da atividade das células NK principalmente no vitiligo estável se comparado com o vitiligo em progressão[88]. Embora não se possa afirmar com segurança, acredita-se que as alterações das células NK sejam um fenômeno concomitante e não a causa do vitiligo[88].

Embora outras teorias para o vitiligo também tenham sido descritas, como a teoria neural; teoria da auto-destruição ou autotoxicidade dos melanócitos pelo efeito de radicais livres; indução de apoptose dos melanócitos; perda de adesão e destacamento do melanócitos da epiderme; defeitos intrínsecos dos melanócitos e até mesmo etiologia viral, as evidências que reforçam a etiologia auto-imune são cada vez mais substanciais[89-95].

A patogenia do vitiligo é complexa e multifatorial. Embora a imunidade celular, com ênfase especial à célula T citotóxica, desempenhe um papel importante no surgimento da doença em detrimento das premissas anteriores, quando

admitia-se que o anticorpo contra o melanócito era o principal “vilão” contra a célula pigmentada, muitas etapas do processo de destruição melanocítica ainda não são conhecidas[31, 74].

Muitos são os fenômenos imunológicos descritos, mas não se definiram, até o momento, quais seriam de fato epifenômenos e qual seria o principal determinante da doença. O conhecimento da patogenia da doença é fundamental para se estabelecer a terapêutica adequada, ainda mais se tratando de uma doença freqüente e com inúmeras implicações psicossociais, na qual os avanços tendem a beneficiar grande número de pessoas.

## Bibliografia

1. Bellet JS, Prosen NS. Vitiligo em crianças: uma revisão de classificação, hipóteses sobre patogênese e tratamento. *An Bras Dermatol* 2005;80:565-712.
2. Grimes PE. White patches and bruised souls: advances in the pathogenesis and treatment of vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51:s5-s7.
3. Le Poole IC, Wańkowicz-Kalińska A, Van den Wijngaard RM, Nickoloff BJ, Das PK. Autoimmune aspects of depigmentation in vitiligo. *J Invest Dermatol* 2004;9:68-72.
4. Gunduz K, Ozturk G, Terzioglu E, Sebik F. T cell subpopulations and IL-2R in vitiligo. *J Dermatol* 2004;31:94-7.
5. Bystryń JC. Immune mechanisms in vitiligo. *Clin Dermatol* 1997;15:853-61.
6. Al'Abadie MS, Senior HJ, Bleehen SS, Gawkrödger DJ. Neuropeptide and neuronal marker studies in vitiligo. *Br J Dermatol* 1994;131:160-5.
7. Picardo M. Oxidative stress in vitiligo, 2003. International Symposium on Vitiligo: “Vitiligo from Gene to Clinic: New Insights in Research and Treatment”. Royal College of physicians, London, 2003. Disponível em: < www.vitigosociety.org.uk >. Acesso em 15 jan.2006.
8. Gauthier Y, André MC, Taieb A. A Critical Appraisal of vitiligo etiologic theories. Is melanocyte loss a melanocytorrhagy? *Pigment Cell Res* 2003;16:322-32.
9. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and Molecular Immunology. 5<sup>th</sup> edition. Philadelphia: Saunders, 2003.
10. Kemp EH, Waterman EA, Weetman AP. Autoimmune aspects of vitiligo. *Autoimmunity* 2001;34:65-77.
11. Castanet J, Ortonne JP. Immunology of vitiligo in: Skin Immune System (SIS). 2<sup>nd</sup> Ed. by Jan D. Bos. Boca Raton/New York: CRC Press, 1997.
12. Lamont SJ, Smyth JR. Effect of bursectomy on development of a spontaneous postnatal amelanosis. *Clin Immunol Pathol*, v.21:407, 1981 In: Castanet, J.; Ortonne, J.P. Immunology of vitiligo in: Skin Immune System (SIS). 2nd Ed. by Jan D. Bos. Boca Raton/New York: CRC Press, 1997.
13. Austin LM, Boissy RE, Jacobsen BS. The detection of melanocytes autoantibodies in the Smyth chicken model for vitiligo. *Clin Immunol Immunopathol* 1992;64:112-20.
14. Arstila TP, Casrouge A, Baron V, Even J, Kanellopoulos J, Kourilsky P. A direct estimate of the human alpha T cell receptor diversity. *Science* 1999;286:958-61.
15. Robert C, Kupper TS. Inflammatory skin diseases, T cells and immune surveillance. *N Eng J Med* 1999;341:1817-28.
16. Santamaria-Babi LF. CLA+ T cells in cutaneous diseases. *Eur J Dermatol* 2004;14:13-8.
17. Fuhlbrigge RC, Kieffer JD, Armerding D, Kupper TS. Cutaneous lymphocyte antigen is a specialized form of PSGL-1 expressed on skin-homing T cells. *Nature* 1997;389:978-81.
18. Hunger RE, Yawalkar N, Braathen LR, Brand CU. The HECA-452 epitope is highly expressed on lymph cells derived from human skin. *Br J Dermatol* 1999;141:565-9.
19. Sigmundsdottir H, Gudjonsson JE, Valdimarsson H. The effects of ultraviolet B treatment on the expression of adhesion molecules by circulating T lymphocytes in psoriasis. *Br J Dermatol* 2003;148:996-1000.
20. Van den Wijngaard R, Wankowicz-Kalinska A, Le Poole C, Tigges B, Westerhof W, Das PK. Local immune response in skin of generalized vitiligo patients. Destruction of melanocytes is associated with the prominent presence of CLA+T cells at the perilesional site. *Laboratory Investigation* 2000;80:1299-309.
21. Van den Wijngaard R, Aten J, Scheepmaker A, Le Poole IC, Tigges AJ, Westerhof W, Das PK. Expression and modulation of apoptosis regulatory molecules in human melanocytes: significance in vitiligo. *Br J Dermatol* 2000;143:573-81.
22. Dimitroff CJ, Kupper TS, Sackstein R. Prevention of leukocyte migration to inflamed skin with a novel fluorosugar modifier of cutaneous lymphocyte-associated antigen. *J Clin Invest* 2003;112:1008-18.
23. Grimes PE, Halder RM, Jones C, Chakrabarti SG, Enterline J, Minus HR, Kenney JA Jr. Autoantibodies and their clinical significance in a black vitiligo population. *Arch Dermatol* 1983;119:300-3.
24. Opezzo P, Dighiero G. Autoantibodies, tolerance and autoimmunity. *Pathol Biol (Paris)* 2003;51:297-304.
25. Ortonne JP, Bahadoran P, Fitzpatrick TB, Mosher DB, Hori Y. Hypomelanoses and Hypermelanoses. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, editors. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 6<sup>th</sup> Ed. New York: McGraw Hill 2003, pp. 839-47.
26. Morgan M, Castells A, Ramirez A. Anticuerpos en vitiligo. Significado clínico. *Med Cut ILA* 1986;14:139-42.
27. Mandry RC, Ortiz LJ, Lugo-Somolinos A, Sánchez JL. Organ-specific autoantibodies in vitiligo patients and their relatives. *Int J Dermatol* 1996;35:18-21.
28. Kurtev A, Dourmishev AL. Thyroid function and autoimmunity in children and adolescents with vitiligo. *JEADV* 2004;18:109-11.
29. Grimes PE. Forum 548: Vitiligo, 2006. American Academy of Dermatology 64<sup>th</sup> Annual Meeting, San Francisco, CA. disponível em: < www.aad.org >. Acesso em 20 mar. 2006.
30. Sehgal V, Srivastava G. Vitiligo: auto-immunity and immune responses. *Int J Dermatol* 2005;45:583-90.
31. Ongenaes K, Geel NV, Naeyaert J-M. Evidence for autoimmune pathogenesis of vitiligo. *Pigmented Cell Res* 2003;16:90-100.
32. Fishman P, Azizi E, Shoenfeld Y, Sredni B, Yecheskel G, Ferrone S et al. Vitiligo autoantibodies are effective against melanoma. *Cancer* 1993;72:2365-9.

33. FISHMAN P. Autoantibodies to tyrosinase. *Cancer* 1997;79:1461-4.
34. Naughton G, Reggiardo D, Bystryn J. Correlation between vitiligo antibodies and extent of depigmentation in vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:978-81.
35. Farrokhi S, Hojjat-Farsangi M, Noohpisheh MK, Tahmasbi R, Rezaei N. Assessment of the immune system in 55 Iranian patients with vitiligo. *JEADV* 2005;19:706-11.
36. Gilhar A, Zelickson B, Ulman Y, Etzioni A. *In vivo* destruction of melanocytes by the IgG fraction of serum from patients with vitiligo. *J Invest Dermatol* 1995;105:683-6.
37. Cui J, Arita Y, Bystryn JC. Cytolytic antibodies to melanocytes in vitiligo. *J Investigative Dermatol* 1993;100:812-5.
38. Cui J, Chen D, Misfeldt ML, Swinfard RW, Bystryn JC. Antimelanoma antibodies in swine with spontaneously regressing melanoma. *Pigment Cell Res* 1995;8:60-3.
39. Baharav E, Merimski O, Shoenfeld Y, Zigelman R, Gilbrud B, Yecheskel G et al. Tyrosinase as an autotigen in patients with vitiligo. *Clin Exp Immunol* 1996;105:84-8.
40. Okamoto T, Irie RF, Fujii S, Huang SK, Nizze AJ, Morton DL, Hoon DS. Anti-tyrosinase-related protein-2 immune response in vitiligo and melanoma patients receiving active-specific immunotherapy. *J Invest Dermatol* 1998;111:1034-9.
41. Xie Z, Chen D, Jiao D, Bystryn JC. Vitiligo antibodies are not directed to tyrosinase. *Arch Dermatol* 1999;135:417-22.
42. Song YH, Connor E, Li Y, Zorovich B, Balducci P, Maclaren N. The role of tyrosinase in autoimmune vitiligo. *Lancet* 1994;344:1049-59.
43. Kemp EH, Waterman EA, Gawkrödger DJ, Watson PF, Weetman AP. Identification of epitopes on tyrosinase which are recognized by autoantibodies from patients with vitiligo. *J Invest Dermatol* 1999;113:267-71.
44. Kemp EH, Waterman EA, Gawkrödger DJ, Watson PF, Weetman AP. Autoantibodies to tyrosinase-related protein-1 detected in the sera of vitiligo patients using a quantitative radiobinding assay. *Br J Dermatol* 1998;139:798-805.
45. Kemp EH, Gawkrödger DJ, Watson PF, Weetman AP. Autoantibodies to human melanocyte-specific protein Pmel17 in the sera of vitiligo patients: a sensitive and quantitative radioimmunoassay (RIA). *Clin Exp Immunol* 1998;114:333-8.
46. Kemp EH, Waterman EA, Hawes BE, O'Neill K, Gottumukkala RV, Gawkrödger DJ et al. The melanin-concentrating hormone receptor 1, a novel target of autoantibody responses in vitiligo. *J Clin Invest* 2002;109:923-30.
47. Waterman EA, Kemp EH, Gawkrödger DJ, Watson PF, Weetman AP. Autoantibodies in vitiligo patients are not directed to the melanocyte differentiation antigen MelanA/MART1. *Clin Exp Immunol* 2002;129:527-32.
48. Norris DA, Kissinger RM, Naughton GM, Bystryn JC. Evidence for immunologic mechanisms in human vitiligo: patients' sera induce damage to human melanocytes *in vitro* by complement-mediated damage and antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC). *J Invest Dermatol* 1988;90:783-9.
49. Le Poole IC, Van den Wijngaard RM, Westerhof W, Das PK. Presence of T cells and macrophages in inflammatory vitiligo skin parallels melanocyte disappearance. *Am J Pathol* 1996;148:1219-28.
50. Goudie RB, Soukop M, Dagg JH, Lee FD. Hypothesis: symmetrical cutaneous lymphoma. *Lancet* 1990;335:316-8.
51. Al Badri AM, Todd PM, Garioch JJ, Gudgeon JE, Stewart DG, Goudie RB. An immunological study of cutaneous lymphocytes in vitiligo. *J Pathol* 1993;170:149-55.
52. Le Poole IC, Das PK. Microscopic changes in vitiligo. *Clinics in Dermatology* 1997;15:863-73.
53. Ahn SK, Choi EH, Lee SH, Won JH, Hann SK, Park YK. Immunohistochemical studies from vitiligo-comparison between active and inactive lesions. *Yonsei Med J* 1994;35:404-10.
54. Le Gal FA, Avril MF, Bosq J, Lefebvre P, Deschemin JC, Andrieu M et al. Direct evidence to support the role of antigen-specific CD8+ T cells in melanoma-associated vitiligo. *J Invest Dermatol* 2001;117:1464-70.
55. Barker JNWN, MacDonald DM. Cutaneous lymphocyte trafficking in the inflammatory dermatoses. *Br J Dermatol* 1992;126:211-5.
56. Wańkiewicz-Kalińska A, Van den Wijngaard RM, Tigges BJ, Westerhof W, Ogg GS, Cerundolo V et al. Immunopolarization of CD4+ and CD8+ T cells to type-1 like is associated with melanocyte loss in human vitiligo. *Lab Invest* 2003;83:683-95.
57. Tu CX, Gu JS, Lin XR. Increased interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony stimulating factor levels in the sera of patients with non-segmental vitiligo. *J Dermatol Science* 2003;31:73-8.
58. Kao CH, Yu HS. Depletion and repopulation of Langerhans cells in nonsegmental type vitiligo. *J Dermatol* 1990;17:287-96.
59. Westerhof W, Groot I, Krieg SR, Bos JD, Cormane RH. Langerhan's cells subpopulation studies with OKT6 and HLA-DR monoclonal antibodies in vitiligo patients treated with oral phenylalanine loading and UVA irradiation. *Acta Derm Venereol* 1986;66:259-62.
60. Bystryn JC, Rigel D, Friedman RJ, Kopf A. Prognostic significance of hypopigmentation in malignant melanoma. *Arch Dermatol* 1987;123:1053-5.
61. Engelhard VH, Bullock TN, Colella TA, Sheasley SL, Mullins DW. Antigens derived from melanocyte differentiation proteins, self-tolerance, autoimmunity, and use for cancer immunotherapy. *Immunol* 2002;188:136-46.
62. Yee C, Thompson JA, Roche P, Byrd DR, Lee PP, Piepkorn M et al. Melanocyte destruction after antigen-specific immunotherapy of melanoma: direct evidence of T-cell mediated vitiligo. *J Exp Med* 2000;192:1637-43.
63. Bronte V, Apolloni E, Ronca R, Zamboni P, Overwijk WW, Surman DR et al. Genetic vaccination with "self" tyrosinase —related protein 2 causes melanoma eradication but not vitiligo. *Cancer Res* 2000;60:253-8.
64. Overwijk WW, Lee DS, Surman DR, Irvine KR, Touloukian CE, Chan C et al. Vaccination with a recombinant vaccinia virus encoding a "self" antigen induces autoimmune vitiligo and tumor cell destruction in mice: requirement for CD4+ T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:2982-7.
65. Gogas H, Ioannovich J, Dafni U, Stavropoulou-Giokas C, Frangia K, Tsoutsos D et al. Prognostic significance of autoimmunity during treatment of melanoma with interferon. *New England J Med* 2006;7:709-18.
66. Lee D, Modlin RL. Breaking tolerance —another piece added to the vitiligo puzzle. *J Investigative Dermatol* 2004;124:1.
67. Becker JC, Guldberg P, Zeuthen J, Bröcker EB, Straten PT. Accumulation of identical T cells in melanoma and vitiligo-like leucoderma. *J Invest Dermatol* 2002;113:1033-8.
68. Ortonne JP, Alario AT. T and B lymphocytes in vitiligo. *Arch Derm Res* 1978;261:147-51.
69. Soubiran P, Benzaken S, Bellet C, Lacour JP, Ortonne JP. Vitiligo: peripheral T-cell subset imbalance as defined by monoclonal antibodies. *British J Dermatol* 1985;113:124-7.
70. D'amelio R, Frati C, Fattorossi A, Aiuti F. Peripheral T-cell subset imbalance in patients with vitiligo and in their apparently healthy first-degree relatives. *Ann Allergy* 1990;65:143-5.
71. Grimes PE, Ghoneum M, Stockton T, Payne C, Kelly AP, Alfred L. T-cell profiles in vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1986;14:196-201.
72. Halder RM, Walters CS, Johnson BA, Chakrabarti SG, Kenney JA Jr. Aberrations in T lymphocytes and natural killer cells in vitiligo: a flow cytometric study. *J Am Acad Dermatol* 1986;14:733-7.
73. Gunduz K, Ozturk G, Terzioglu E, Sebik F. T cell subpopulations and IL-2R in vitiligo. *J Dermatol* 2004;31:94-7.
74. Kurtev A, Dourmishev AL. Thyroid function and autoimmunity in children and adolescents with vitiligo. *JEADV* 2004;18:109-11.
75. Mozzanica N, Frigerio U, Finzi AF, Cattaneo A, Negri M, Scaglione F et al. T cell subpopulations in vitiligo: a chronobiologic study. *J Am Acad Dermatol* 1990;22:223-30.
76. Abdel-naser M, Ludwig WD, Gollnick H, Orfanos CE. Nonsegmental vitiligo: decrease of the CD 45RA+ T-cell subset and evidence for peripheral T-cell activation. *Int J Dermatol* 1992;31:321-6.
77. Mahmoud F, Abul H, al-Saleh Q, Haines D, Burlison J, Morgan G. Peripheral T-cell activation in non-segmental vitiligo. *The Journal of Dermatology* 1998;25:637-40.

78. Westermann J, Pabst R. Lymphocyte subsets in the blood: a diagnostic window on the lymphoid system? *Immunol Today* 1990; 11:406-9.
79. Hann SK, Park YK, Chung KY, Kim HI, Im S, Won JH. Peripheral blood lymphocyte imbalance in Koreans with active vitiligo. *Int J Dermatol* 1993;32:286-9.
80. Honda Y, Okubo Y, Koga M. Relationship between levels of soluble interleukin-2 receptor and the types and activity of vitiligo. *J Dermatol* 1997;24:561-3.
81. Galadari I. Serum level of the soluble interleukin-2 receptor in vitiligo patients in UAE. *Allerg Immunol (Paris)* 2005;37:109-11.
82. Mantovani S, Garbelli S, Palermo B, Campagnelli R, Brazzelli V, Borroni G et al. Molecular and functional bases of self-antigen recognition in Long-Term Persistent Melanocyte-Specific CD8+ T cells in one vitiligo patient. *J Invest Dermatol* 2003;121:308-14.
83. Ogg GS et al. High frequency of skin-homing Melanocyte-specific Cytotoxic T lymphocytes in Autoimmune vitiligo. *J Exp Med* 1998; 188:1203-8.
84. Mandelcorn-Monson RL, Shear NH, Yau E, Sambhara S, Barber BH, Spaner D, DeBenedette MA. Cytotoxic T Lymphocyte Reactivity to gp100, Melan A/MART-1, and Tyrosinase, in HLA-A2 positive vitiligo patients. *J Invest Dermatol* 2003;121:550-6.
85. Steitz J, Wenzel J, Gaffal E, Tütting T. Initiation and regulation of CD8+ T cells recognizing melanocytic antigens in the epidermis: Implications for the pathophysiology of vitiligo. *Eur J Cell Biol* 2004;83:797-803.
86. Steitz J, Brück J, Lenz J, Büchs S, Tütting T. Peripheral CD8+ T cell tolerance against melanocytic self-antigens in the skin is regulated in two steps by CD4+ T cells and local inflammation: implications for the pathophysiology of vitiligo. *J Invest Dermatol* 2005; 124:144-50.
87. Durham-Pierre DG, Walters CS, Halder RM, Pham HN, Vanderpool EA. Natural Killer cell and lymphokine-activated killer cell activity against melanocytes in vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1995;33:26-30.
88. Mozzanica N, Villa ML, Foppa S, Vignati G, Cattaneo A, Diotti R, Finzi AF. Plasma alpha-melanocyte-stimulating hormone, beta-endorphin, met-enkephalin, and natural killer cell activity in vitiligo. *J Am Acad Dermatol* 1992;26:693-700.
89. Yu HS, Chang KL, Yu CL, Li HF, Wu MT, Wu CS, Wu CS. Alterations in IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  release by peripheral mononuclear cells in patients with active vitiligo. *J Invest Dermatol* 1997;108:527-9.
90. Moellmann G, Klein-Angerer S, Scollay DA, Nordlund JJ, Lerner AB. Extracellular granular material and degeneration of keratinocytes in the normally pigmented epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol* 1982;79:321-30.
91. Schallreuter KU, Wood JM, Berger J. Low catalase levels in the epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol* 1991;97: 1081-5.
92. Dell'Anna ML, Urbanelli S, Mastrofrancesco A, Camera E, Iacovelli P, Leone G et al. Alterations of mitochondria in peripheral blood mononuclear cells of vitiligo patients. *Pigment cell res* 2003;16:553-9.
93. Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, Can M. The role of oxidants and antioxidants in generalized vitiligo at tissue level. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18:683-6.
94. Huang CL, Nordlund JJ, Boissy R. Vitiligo. A manifestation of apoptosis. *Am J Clin Dermatol* 2002;3:301-8.
95. Boissy RE, Liu YY, Medrano EE, Nordlund JJ. Structural aberration of the rough endoplasmic reticulum and melanosome compartmentalization in long-term cultured melanocytes from vitiligo patients. *J Invest Dermatol* 1991;97:395.
96. Gauthier Y, Muriel C, Taieb A. Melanocyte detachment after skin friction in non-lesional skin of patients with generalized vitiligo. *Br J Dermatol* 2003;148:95-101.