

# Estudo comparativo entre vitiligo, nevo halo e lúpus eritematoso vitiligóide por meio de métodos imunológicos, histológicos e imuno-histoquímicos\*

## *Comparative study of vitiligo, halo nevus, and vitiligoid variant of lupus erythematosus by immunological, histological, and immunohistochemical methods\**

Luiz Gonzaga C. Souza Filho<sup>1</sup>  
Durvanei A. Maria<sup>2</sup>

Evandro A. Rivitti<sup>2</sup>  
Shigueko S. T. Puejo<sup>6</sup>

Lucy M. Miyauchi<sup>3</sup>  
Venâncio A. F. Alves<sup>7</sup>

Mirian N. Sotto<sup>4</sup>

**Resumo:** FUNDAMENTOS: O estudo compara o vitiligo, o nevo halo (NH) e lúpus eritematoso vitiligóide (LEV) do ponto de vista imunológico, histológico e histoquímico.

OBJETIVOS: Avaliar diferenças imuno-histoquímicas entre essas doenças e investigar se a despigmentação do LEV deve-se à destruição pós-inflamatória ou à agressão imunológica aos melanócitos.

MÉTODOS: Foram avaliados 20 pacientes com vitiligo, 17 com vitiligo e NH, cinco com NH isolado e 15 com LEV. Detecção de anticorpos: IF direta e indireta com células névicas e de melanoma. Citotoxicidade: atividade NK contra células de melanoma. Estudo anátomo-histoquímico: exame histológico com hematoxilina e eosina, Fontana-Masson, Dopa e Dopa mais prata (D+P) e exame histoquímico com proteína S-100.

RESULTADOS: Doentes com vitiligo, NH e LEV apresentaram anticorpos antimelanócitos. Tanto no vitiligo e NH, como no LEV, demonstrou-se a presença de fatores de risco favorecedores da citotoxicidade celular. A coloração com D+P foi superior às colorações tradicionais e à proteína S-100 na detecção de melanócitos e melanina nas lesões de vitiligo, NH e LEV.

CONCLUSÕES: Demonstrou-se a existência de anticorpos antimelanócitos no vitiligo e NH. É possível que a despigmentação no LEV se deva a fenômenos imunológicos semelhantes aos do vitiligo e NH. A detecção de melanócitos nas lesões de vitiligo sugere mais inibição funcional do que destruição dessas células. Palavras-chave: Alergia e Imunologia; Lúpus; Nevo pigmentado; Vitiligo.

**Abstract:** BACKGROUND: There are no records of comparative studies on the immunological, histological and immunohistochemical aspects of vitiligo, halo nevus and vitiligoid variant of lupus erythematosus in the literature. The studies available present only descriptive clinical data on leucoderma that accompanies lupus erythematosus in its diverse clinical forms.

OBJECTIVES: 1- To evaluate the immunohistochemical differences between vitiligo, halo nevus and vitiligoid variant of lupus erythematosus; 2- To verify whether the depigmentation observed in the diverse clinical forms of lupus is due to post-inflammatory destruction or to specific immunological attack on melanocytes.

METHODS: 1- Detection of melanocyte antibodies: by direct and indirect immunofluorescence on nevus and melanoma cells; 2- Cytotoxicity evaluation: study of the activity of NK cells against cultivated melanoma cells; 3- Histopathological study of melanocytes and melanin: histopathology with hematoxylin-eosin, Fontana-Masson, Dopa and Dopa + silver and S-100 protein test by immunoperoxidase.

RESULTS: Vitiligo and halo nevus patients presented to antimelanocyte antibodies in 25% of cases. Patients with vitiligoid variant of lupus erythematosus also presented these antibodies. The presence of risk factors favoring cellular cytotoxicity was demonstrated in vitiligo and/or halo nevus, as well as in the vitiligoid variant of lupus erythematosus. Staining with Dopa + silver nitrate was superior to traditional staining and to S-100 protein to detect melanocytes and/or melanin in depigmented lesions of vitiligo and/or halo nevus and vitiligoid variant of lupus erythematosus.

CONCLUSION: The results confirm the existence of antimelanocyte antibodies in vitiligo and halo nevus. It is not possible to rule out some immunological phenomena similar to those occurring in vitiligo and halo nevus in the genesis of vitiligoid lesions in lupus erythematosus. The detection of melanocytes in achromic lesions of vitiligo suggests the predominance of a functional inhibitory mechanism rather than cell destruction in the genesis of the disease.

Keywords: Allergy and immunology; Lupus; Nevus, pigmented; Vitiligo.

Recebido em 03.05.2004.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 25.02.2005.

\* Trabalho realizado na Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (SP).

<sup>1</sup> Professor adjunto da Disciplina de Dermatologia do Departamento de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco (PE).

<sup>2</sup> Professor titular do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (SP).

<sup>3</sup> Bióloga do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (*in memoriam*) (SP).

<sup>4</sup> Professora adjunta do Departamento de Anatomia Patológica da Universidade de São Paulo (SP).

<sup>5</sup> Técnico do Laboratório de Investigação em Hematologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (SP).

<sup>6</sup> Técnica do Laboratório de Cultura Celular da Disciplina de Oncologia do Departamento de Clínica Médica da Universidade de São Paulo (SP).

<sup>7</sup> Professor adjunto do Departamento de Anatomia Patológica da Universidade de São Paulo (SP).

## INTRODUÇÃO

O vitiligo caracteriza-se pela destruição progressiva dos melanócitos com conseqüente diminuição ou ausência da produção de melanina. É possível que configure síndrome, com mecanismos etiopatogênicos diversos que se exteriorizam com padrão clínico semelhante. Três hipóteses etiológicas se destacam: neurogênica, autodestrutiva e imunológica.<sup>1,2</sup>

Embora os fatores etiopatogênicos possam atuar isolada ou conjuntamente, a hipótese imunológica é a que apresenta evidências clínicas e experimentais mais consistentes. A antigenicidade dos melanócitos é fortemente sugerida, no nevo halo, pela presença de infiltrado linfocitário, pela regressão espontânea da área pigmentada, com destruição das células névicas e dos melanócitos perinévicos, levando ao halo acrômico e pela presença, ocasional, de leucodermia no melanoma maligno. A associação com doenças auto-imunes é também argumento importante na comprovação dessa hipótese.

São de observação freqüente lesões acrômicas e hipocrômicas no lúpus eritematoso, especialmente nas formas discóide e subaguda. Sendo o lúpus eritematoso sistêmico (LES) uma doença com auto-anticorpos múltiplos, objetivou-se investigar, por métodos imunológicos, histológicos e imuno-histoquímicos, se nessas variantes clínicas a despigmentação ocorre exclusivamente por destruição pós-inflamatória ou se poderia resultar de agressão imunológica aos melanócitos, como se admite ocorrer no vitiligo e no nevo halo (NH).

## PACIENTES E MÉTODOS

Pacientes de ambos os sexos, com idades superiores a 12 anos, que forneceram o consentimento livre e esclarecido, eles mesmos ou seus responsáveis quando menores de 18 anos.

Os controles das reações de imunofluorescência (IF) foram amostras de pele e de sangue de indivíduos sãos. Os controles das reações com nevo melanocítico foram cortes de nevos autólogos e de indivíduos sãos.

Crítérios de inclusão: pacientes de ambos os sexos, com idade mínima de 12 anos e que concordavam em participar do trabalho. Crítérios de exclusão: pacientes portadores de problemas mentais, doenças auto-imunes ou de possível etiologia auto-imune outras, como diabetes *mellitus*, doenças da tireóide, artrite reumatóide, alopecia areata, síndrome da imunodeficiência adquirida, doenças neoplásicas, pacientes submetidos a transplantes de órgãos ou em uso de imunodepressores.

O trabalho foi realizado em dois anos. As amostras cutâneas e sanguíneas para as reações de IF eram processadas imediatamente para leitura. As amostras sanguíneas para a avaliação da citotoxicidade eram armazenadas em -4°C e lidas dentro das primeiras 48 horas. Os cri-

térios de positividade adotados foram os padronizados para cada uma das técnicas. As reações de IF eram lidas por três observadores e só consideradas positivas com a concordância de todos. Desenho do estudo: transversal.

## MÉTODOS LABORATORIAIS

### A) Estudo imunológico

A1) Para detecção de anticorpos antimelanócitos

Utilizou-se como substrato lesões de nevo nevo-celular dos doentes e células de melanoma cultivadas. As reações foram: 1) imunofluorescência direta (IFD), 2) imunofluorescência indireta (IFI) e 3) imunofluorescência indireta contra células de melanoma em cultura (IFM). O método estatístico foi o teste exato de Fisher.

### A2) Avaliação da citotoxicidade

Foi empregada a avaliação da atividade NK de linfócitos periféricos contra células de melanoma em cultura. O método estatístico foi o teste de Wilcoxon.

### B) Estudo anátomo-histoquímico dos melanócitos e detecção de melanina

Objetivou-se detectar melanócitos ou melanina na pele sã e acrômica de doentes com vitiligo, NH e LEV. Foram utilizados o exame histopatológico com HE, Fontana-Masson, dopa e dopa adicionada à prata amoniacal (D+P)<sup>3</sup> e o exame histoquímico com marcadores de melanócitos e proteína S-100 pelo método da avidina-biotina-peroxidase.<sup>4</sup> O método estatístico empregado foi o teste exato de Fisher.

## RESULTADOS

### 1) Estudo imunológico

O estudo compreendeu 42 doentes de vitiligo e NH, 16 do sexo masculino e 26 do sexo feminino, assim distribuídos: 18 casos de vitiligo vulgar disseminado; dois casos de vitiligo vulgar localizado; 17 casos de NH associado a vitiligo, sendo 15 com vitiligo vulgar disseminado e dois com vitiligo localizado; cinco casos de NH não associado a vitiligo vulgar. A média de idade foi 23,9 anos. Os casos de LEV foram em número de 15, sendo nove de lúpus discóide vitiligóide, quatro de lúpus subagudo vitiligóide e dois de lúpus sistêmico vitiligóide. A média de idade foi de 30,2 anos. Eram colhidas amostras sanguíneas e espécimes cutâneos da pele sã e acrômica ou hipocrômica de vitiligo, NH e lúpus eritematoso, bem como de nevo nevo-celular. Os casos de lúpus foram diagnosticados clinicamente e pelos métodos laboratoriais de rotina.

### Detecção de anticorpos antimelanócitos

A tabela 1 mostra os resultados das reações de IF em casos de vitiligo, NH e LEV. A reação com mais resultados positivos foi a IFI contra células de melanoma (25%) nos casos de vitiligo e NH, seguida da IFD utilizando-se

células névicas (12,5%). A positividade das reações de IF refere-se à fluorescência na periferia das células névicas e no citoplasma das células da melanoma. Os controles foram amostras de pele e de sangue de indivíduos sãos. Os controles das reações com nevo melanocítico foram cortes de nevos autólogos e de nevos de indivíduos sãos. Os resultados dos controles foram negativos.

Não houve diferenças importantes em relação a fluorescências das células névicas entre os casos de vitiligo e NH e os de LEV (9,3% x 11,1%). Quando se utilizaram células de melanoma, a positividade foi maior (25%) nos casos de vitiligo e/ou NH em relação aos casos de LEV (9%), mas essa diferença não foi significativa. Foi utilizado o teste exato de Fisher.

## 2) Avaliação da citotoxicidade

As tabelas 2 e 3 mostram os resultados da atividade das células NK. Houve diferenças significativas em relação aos controles tanto nos casos de vitiligo e NH como nos de LEV. Não houve, contudo, diferenças significativas, quando comparados os casos de vitiligo e NH com os de LEV (40,5 x 54% de atividade linfocitária).

## 3) Estudo anátomo-histoquímico dos melanócitos e detecção de melanina

A tabela 4 apresenta os resultados da detecção de melanina e melanócitos em casos de vitiligo, NH e LEV.

A tabela 4 evidencia não ter havido diferenças na detecção de melanócitos e melanina nas peles discrômicas do vitiligo e NH, e no LEV. Contudo, quando se analisam os achados por marcadores (Tabela 5), essa detecção é significativamente maior no caso da coloração D+P do que com as colorações tradicionais, tanto no vitiligo e no NH como no LEV.

## DISCUSSÃO

### 1. Aspectos imunológicos

#### Anticorpos antimelanócitos

A presença de anticorpos antimelanócitos favorece a participação de mecanismos imunológicos no vitiligo. Não há relatos de comparações entre o vitiligo e NH, e o lúpus eritematoso em relação à

detecção desses anticorpos.

Os primeiros relatos no vitiligo foram realizados por meio da IFI, utilizando como substrato células de melanoma.<sup>5</sup> Esses anticorpos foram também descritos em pacientes com vitiligo e endocrinopatias pela IFI com fixação de complemento.<sup>6</sup> A IFD demonstrou depósitos de IgG e C3 na zona de membrana basal, evidenciando a participação de imunocomplexos no desencadeamento do vitiligo.<sup>7</sup>

A imunoprecipitação específica (IE) com macromoléculas superficiais radioiodinadas de melanócitos humanos e de células de melanoma em cultura atingiu até 100% de positividade no vitiligo. Os antígenos identificados foram os mesmos dos melanócitos normais, com peso molecular de 75, 85 e 240-250Kd.<sup>8</sup> Naughton et al.<sup>9</sup> correlacionaram a presença desses anticorpos à extensão do quadro clínico. Norris et al.,<sup>10</sup> por meio da citotoxicidade celular dependente de anticorpo, demonstraram anticorpos antimelanócitos no vitiligo em atividade.

Anticorpos IgG antimelanócitos foram detectados no vitiligo através da imunoabsorção enzimática e correlacionaram-se com a atividade da doença.<sup>11</sup> Em outro estudo, o soro de pacientes com vitiligo apresentou maior atividade citolítica mediada pelo complemento contra melanócitos humanos em comparação a soro controle.<sup>12</sup>

Melanócitos perilesionais expressam mais MHCII, como também molécula de adesão intercelular, do que melanócitos localizados em outras áreas.<sup>13</sup> Rocha et al.<sup>14</sup> detectaram pela IE a presença de anticorpos anticélulas de melanoma dirigidos contra antígenos de 165, 90 e 68Kda, em casos de vitiligo familiar.

Kemp et al.<sup>15</sup> identificaram um novo auto-antígeno denominado melanin-concentrating hormone receptor 1 (MCHR1) e demonstraram que a IgG de pacientes com vitiligo reagem contra esse receptor.

Anticorpos antimelanócitos também foram descritos no melanoma e NH por meio da IFI utilizando células névicas do NH como substrato.<sup>16</sup> Cui et al.<sup>17</sup> demonstraram a presença de anticorpos dirigidos contra antígenos melanocitários no vitiligo e no melano-

TABELA 1: Reações de imunofluorescência em casos de vitiligo, nevo halo e lúpus eritematoso vitiligóide.

	Substratos	IFD		IFI		Total	
		Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa
Vitiligo e NH	Nevo	3 (12,5%)	21 (87,55%)	1 (5,26%)	18 (94,7%)	4 (9,3%)	39 (90,6%)
	Células de melanoma	NR	NR	5 (25%)	15 (75%)	5 (25%)	15 (75%)
Lúpus	Nevo	1 (16,6%)	5 (83,33%)	0	3 (100%)	1 (11,1%)	8 (88,8%)
	Células de melanoma	NR	NR	1 (9,09%)	10 (90,9%)	1 (9,09%)	10 (90,9%)

NR: não realizada

**TABELA 2:** Avaliação da atividade NK de linfócitos periféricos contra células de melanoma em 12 casos de vitiligo e nevo halo.

Doentes	Atividade linfocitotóxica (em %)	
	Doentes % (I)	Controles % (J)
1	33,7	29,7
2	43,6	29,7
3	66,6	29,7
4	66,9	19,1
5	38,4	29,7
6	41,5	13,4
7	43,6	25,4
8	47,8	23,4
9	29,0	11,9
10	27,2	14,3
11	31,3	12,8
12	16,6	12,1
Médias	40,5	20,9

O teste de Wilcoxon evidenciou: "I x J": significativo

"I": média de todos os percentuais de "atividade linfocitotóxica" obtida dos pacientes

"J": média de todos os percentuais de "atividade linfocitotóxica" obtida dos casos controles

"I x J": comparação entre "I" e "J"

**TABELA 3:** Avaliação da atividade NK de linfócitos periféricos contra células de melanoma em seis casos de lúpus eritematoso vitiligóide.

Doentes	Atividade linfocitotóxica (em %)	
	Doentes % (L)	Controles % (M)
1	44,5	29,7
2	42,4	25,4
3	67,2	13,4
4	57,9	44,5
5	38,7	23,4
6	73,6	19,1
Médias	54	25,9

O teste de Wilcoxon evidenciou: "L x M": significativo

"L": média de todos os percentuais de "atividade linfocitotóxica" obtida dos pacientes

"M": média de todos os percentuais de "atividade linfocitotóxica" obtida dos casos controles

"L x M": comparação entre "L" e "M"

noma pela IE. Merimsky et al.<sup>18</sup> demonstraram anticorpos antitirosinase no vitiligo e melanoma com hipocromia, correlacionando a despigmentação aos anticorpos. A inoculação de tirosinase e de células de melanoma em camundongos levou à produção de anticorpos antitirosinase e a menor número de metástases. Okatomo et al.<sup>19</sup> descreveram elevados índices de anticorpos IgG contra a proteína-2 relacionada à tirosinase (TRP-2), expressa em melanócitos normais e neoplásicos, no vitiligo, melanoma e hipo-

pigmentação induzida por imunoterapia. Os mais altos índices foram evidenciados no vitiligo.

Neste estudo utilizaram-se a IFD e IFI tendo como substratos pele normal, nevo melanocítico e células de melanoma, para detecção de anticorpos no vitiligo, NH e no LEV, com a finalidade de constatar mecanismos imunológicos antimelanócitos comuns em doenças consideradas auto-imunes e que cursam com hipo ou acromia. Analisando-se a tabela 1, verifica-se que a detecção de anticorpos antimelanócitos mostrou positividade em 9,3% dos casos de vitiligo/NH e 11,1% de positividade nos casos de LEV, quando o substrato constituiu-se de cortes de nevo celular ( $p > 0,05$ ). Quando o substrato se constituiu de células de melanoma, a positividade foi de 25% nos casos de vitiligo/NH contra 9% de positividade nos casos de LEV. Embora exista diferença percentual importante na comparação entre vitiligo e LE quando células de melanoma constituem o substrato, ela não é significativa ( $p > 0,05$ ). Os resultados das reações de controles foram negativos e apontam para mecanismos semelhantes de destruição melanocítica nos grupos estudados.

#### Avaliação da citotoxicidade

As células NK podem desempenhar papel imunorregulatório na prevenção de doenças auto-imunes, entre elas o LES, e é possível a relação entre essas doenças e a deficiência dessas células.<sup>20</sup> A depleção das células NK parece desempenhar importante papel no desencadeamento do LES.<sup>6</sup> Admitiu-se a possibilidade de existirem anticorpos anticélulas NK em doentes com LES.<sup>21</sup> Horwitz et al.<sup>22</sup> demonstraram que as células NK são produtoras do fator de crescimento tumoral (TGF-beta1) que tem a função de estimular as células T CD8(+) a inibir a produção de anticorpos. A produção desse fator está diminuída no LES.

Poucos são os trabalhos que descrevem essa técnica no vitiligo e NH. Roenigk et al.<sup>23</sup> sugeriram que a citotoxicidade anticélulas de melanoma seria mais importante do que o encontro de anticorpos antimelanócitos na avaliação imunológica do vitiligo. Halder et al.<sup>24</sup> avaliaram a atividade NK e alterações linfocitárias por meio da citometria de fluxo com anticorpos monoclonais. Os linfócitos totais e auxiliares estavam diminuídos em número, enquanto a atividade NK estava muito elevada. O estudo aponta para uma alteração na regulação da imunidade celular no vitiligo. Doentes com vitiligo, avaliados pela citotoxicidade natural mediada por células, apresentaram diminuição na resposta citotóxica contra linhagem celular de leucemia linfóide e diminuição na capacidade de ligação das células NK contra essas mesmas linhagens. Quando a linhagem celular utilizada foi de leucemia mielóide, as respostas foram normais e iguais às do grupo controle.<sup>25</sup>

**TABELA 4:** Demonstração histológica e histoquímica de melanina nos melanócitos na pele lesada de vitiligo e nevo halo, e lúpus eritematoso vitiligóide

	Vitiligo e NH		LE Vitiligóide	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
HE (hematoxilina-eosina)	1 (11,1%)	8 (88,8%)	0	5 (100%)
FM (Fontana-Masson)	4 (36,3%)	7 (63,6%)	3 (42,8%)	4 (57,2%)
Dopa	3 (33,3%)	7 (66,6%)	3 (42,86%)	4 (57,14%)
Dopa + Prata	10 (100%)	0	5 (71,43%)	2 (28,57%)
S.100 (proteína S-100)	3 (60%)	2 (40%)	2 (50%)	2 (50%)

Teste exato de Fisher: Vitiligo x LEV:  $p > 0,05$  com todas as colorações

**TABELA 5:** Comparação entre diversos marcadores de melanócito e melanina na pele lesada de vitiligo, nevo halo e lúpus eritematoso vitiligóide

Marcadores	Positivo	Negativo
HE (hematoxilina-eosina)	1 (7,14%)	13 (92,86)
FM (Fontana-Masson)	7 (38,88%)	11 (61,11%)
Dopa	6 (35,29%)	11 (64,70%)
Dopa + Prata	15 (88,23%)	2 (11,76%)
S-100 (proteína S.100)	5 (55,55%)	4 (44,44%)

Teste exato de Fisher:

-  $p < 0,05$  nas comparações da D+P com FM e Dopa

-  $p > 0,05$  na comparação da D+P com S-100

Neste estudo, a atividade NK estava aumentada nos casos de LEV (Tabela 3), semelhantemente à atividade encontrada no vitiligo e NH (Tabela 2), quando comparados aos grupos controles. É possível, portanto, que doentes com LEV apresentem aumento da atividade NK, ao contrário de pacientes com LES. Contudo, quando se comparam os resultados da linfocitotoxicidade entre os casos de vitiligo e NH e LEV, confirma-se não haver diferenças importantes nos mecanismos de agressão antimelanocitária que ocorrem no vitiligo e no LEV. O índice de citotoxicidade não mostra qualquer diferença significativa nos casos de LEV (54%) (Tabela 3) com relação aos casos de vitiligo/NH (40,5%) (Tabela 2) quando comparados aos grupos controles. Portanto, os achados imunológicos do presente trabalho não permitem excluir a possibilidade de, no LE com lesões vitiligóides, ocorrerem, além da destruição inflamatória de melanócitos, mecanismos de agressão melanocitária de caráter imunológico semelhantes aos que ocorrem no vitiligo e no NH. Não há relatos na literatura de comparações entre vitiligo e NH com lúpus eritematoso em relação à linfocitotoxicidade.

## 2. Aspectos histológicos e histoquímicos

Outros achados interessantes no presente estudo foram os referentes às comparações entre diversas colorações para detecção de melanócitos ou melanina,

na pele discrômica de doentes com vitiligo e NH, e LEV (Tabela 4). Não houve diferenças significativas nessas comparações, reforçando os achados imunológicos deste estudo, que apontam para mecanismos semelhantes de destruição melanocítica nos dois grupos.

Comparou-se também a capacidade de detecção dos melanócitos e melanina por diversos marcadores, tanto no vitiligo e NH, como no LEV (Tabela 5). Observaram-se diferenças significativas entre D+P e Dopa e entre D+P e FM. Quando comparado D+P com a proteína S-100, não se observaram diferenças estatisticamente significativas, embora o percentual de positividade tenha sido maior com D+P. Esses resultados indicam que métodos de coloração mais sensíveis demonstram melanócitos em lesões acromicas crônicas tidas, em sua maioria, como melanocitopênicas, fato que sugere mais mecanismos de inibição do que de destruição de melanócitos nos dois grupos estudados. Lê Poole et al.<sup>26</sup> utilizaram anticorpos policlonais e monoclonais, e não identificaram reação em cortes congelados de pele de vitiligo, porém, pela microscopia de varredura a laser em cortes submetidos à separação dermoepidérmica, observaram melanócitos degenerados, o que pode reforçar os achados aqui apresentados.

## CONCLUSÕES

Doentes com vitiligo e NH apresentaram anticorpos antimelanócitos detectados pela imunofluorescência. O melhor substrato constituiu-se de células de melanoma cultivadas. Não houve diferenças significativas nas comparações entre vitiligo e NH, e o LEV quanto à detecção desses anticorpos ( $p > 0,05$ ). Tanto em doentes com vitiligo e NH como nos portadores de LEV, demonstraram-se fatores de riscos, possivelmente anticorpos, favorecedores da citotoxicidade celular ( $p < 0,05$ ). Pelos métodos imunológicos utilizados, não é possível excluir-se a participação de fenômenos imunológicos semelhantes aos que ocorrem no vitiligo e no NH, na gênese das lesões de LEV ( $p > 0,05$ ).

A coloração D+P mostrou-se superior às colorações tradicionais – Fontana-Masson e Dopa, na detecção de melanócitos e/ou melanina nos casos estuda-

dos, tanto de vitiligo e/ou NH quanto de LEV ( $p < 0,05$ ). Na comparação com o método histoquímico empregando S-100, a coloração D+P foi percentualmente superior ( $p > 0,05$ ). A detecção de melanócitos nas lesões acromicas de vitiligo e NH sugere predomínio

de inibição funcional sobre destruição dessas células na gênese da acromia do vitiligo. É possível, contudo, que as áreas pesquisadas não tenham sido suficientemente antigas a ponto de ter havido o total desaparecimento dos melanócitos. □

## REFERÊNCIAS

- Lerner AB. On the etiology of vitiligo and gray hair. *Am J Med.* 1971; 51: 141-7.
- Mosher DB, Fitzpatrick TB, Ortonne JP, Hori Y. Disorders of pigmentation. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolf K, Freedberg IM, Austen KF. *Dermatology in general medicine: textbook and atlas.* 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1987. p.794-876.
- Mishima Y. New technic for comprehensive demonstration of melanin, premelanin, and tyrosinase sites. Combined dopa-premelanin reaction. *J Invest Dermatol.* 1960; 34: 355-60.
- Hsu SM, Raime L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem.* 1981; 29: 577-80.
- Copeman PW, Lewis MG, Phillips TM, Elliott PG. Immunological associations of the halo naevus with cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol.* 1973; 88:127-3.
- Hertz KC, Gazze LA, Kirkpatrick CH, Katz SI. Autoimmune vitiligo: detection of antibodies to melanin-producing cells. *N Engl J Med.* 1977; 297: 634-7.
- Uda H, Takei M, Mishima Y. Immunopathology of vitiligo vulgaris, Sutton's leukoderma and melanoma-associated vitiligo in relation to steroid effects. II The IgG and C3 deposits in the C3 deposits in the skin. *J Cutan Pathol.* 1984; 11: 114-24.
- Naughton G K, Eisinger M, Bystrin J-C. Detection of antibodies to melanocytes in vitiligo by specific immunoprecipitation. *J Invest Dermatol.* 1983; 81: 540-2.
- Naughton GK, Reggiardo D, Bystryi J-C. Correlation between vitiligo antibodies and extent of de pigmentation in vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 1986; 15: 978-81.
- Norris DA, Kissinger M, 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. *J Invest Dermatol.* 1988; 90: 783-89.
- Harning R, Cui J, Bystryn JC. Relation between the incidence and level of pigment cell antibodies and disease activity in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 1991; 97: 1078-80.
- Cui J, Arita Y, Bystryn JC. Cytolytic antibodies to melanocytes in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 1993; 100: 812-5.
- Li YL, Yu CL, Yu HS. IgG anti-melanocyte antibodies purified from patients with active vitiligo induce HLA-DR and intercellular adhesion molecule-1 expression and an increase in interleukin-8 release by melanocytes. *J Invest Dermatol.* 2000; 115: 969-73.
- Rocha IM, Oliveira LJ, De Castro LC, de Araujo Pereira LI, Chaul A, Guerra JG, et al. Recognition of melanoma cell antigens with antibodies present in sera from patients with vitiligo. *Int J Dermatol* 2000; 39: 840-3.
- Kemp EH, Waterman EA, Hawes BE, O'Neill K, Gotumukkala 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.
- Bennett C, Copeman PWM. Melanocyte mutation in halo naevus and malignant melanoma? *Br J Dermatol.* 1979; 100: 423-6.
- Cui J, Bystryn JC, Ronald O. Perelman. Melanoma and vitiligo are associated with antibody responses to similar antigens on pigment cells. *Arch Dermatol.* 1995; 131: 314-8.
- Merimsky O, Shoenfeld Y, Baharav E, Zigelman R, Fishman P. Reactivity to tyrosinase: expression in cancer (melanoma) and autoimmunity (vitiligo). *Hum Antibodies Hybridomas.* 1996; 7:151-6.
- Okamoto T, Irie RF, Fujii S, Huang SK, Nizze AJ, Morton DL, et al. Anti-tyrosinase-related protein-2 immune response in vitiligo patients and melanoma patients receiving active-specific immunotherapy. *J Invest Dermatol.* 1998; 111:1034-9.
- Baxter AG, Smyth MJ. The role of NK cells in autoimmune disease. *Autoimmunity.* 2002; 35: 1-14.
- Riccieri V, Spadaro A, Parisi G, Taccari E, Moretti T, Bernardini G, et al. Downregulation of natural killer cells and of gamma/delta T cells in systemic lupus erythematosus. Does it correlate to autoimmunity and to laboratory indices of disease activity? *Lupus.* 2000; 9:333-7.
- Horwitz DA, Gray JD, Ohtsuka K. Role of NK cells and TGF-beta in the regulation of T-cell-dependent antibody production in health and autoimmune disease. *Microbes Infect.* 1999; 1:1305-11.
- Roenigk HH Jr, Deodhar SD, Krebs JA, Barna B. Microcytotoxicity and serum blocking factors in malignant melanoma and halo nevus. *Arch Dermatol.* 1975; 111: 720-5.
- 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.
- Ghoneum M, Grimes PE, Gill G, Kelly AP. Natural cell-mediated cytotoxicity in vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 1987; 17: 600-5.
- Le Poole IC, van den Wijngaard RM, Westerhof W, Dutrieux RP, Das PK. Presence or absence of melanocytes in vitiligo lesions: an immunohistochemical investigation. *J Invest Dermatol.* 1993; 100:816-22.

### ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Luiz Gonzaga de Castro e Souza Filho

Rua Virgílio Mota, 128 - Parnamirim

Recife PE 52060-582

Tel./fax: 81 32685108 81 88763070

E-mail: luizgonzagadecastro@botmail.com e lgonzaga@ufpe.br