

Imuno-histoquímica para o diagnóstico precoce de vitiligo

Immunohistochemistry for early diagnosis of vitiligo

Primeira submissão em 07/07/08
Última submissão em 20/10/08
Aceito para publicação em 20/10/08
Publicado em 20/10/08Gisele Alborghetti Nai¹; Luciane Bartoli Donida Miot²; Hélio Amante Miot³;
Mariângela Esther Alencar Marques⁴

unitermos	resumo
Vitiligo	O vitiligo é uma doença de pele freqüente que acomete 1% da população e é caracterizada por máculas despigmentadas conseqüentes à perda progressiva e localizada dos melanócitos da epiderme. Na maioria dos pacientes, o diagnóstico é feito por exame clínico. A biópsia da pele é realizada quando há necessidade de diagnóstico diferencial com doenças hipocromiantes. O diagnóstico histopatológico de vitiligo é difícil nos preparados corados por hematoxilina e eosina (HE). Há poucos estudos sobre a melhoria da qualidade diagnóstica no vitiligo. Objetivo: Avaliar a utilidade dos marcadores imuno-histoquímicos proteína S-100, <i>human melanoma black-45</i> (HMB-45) e Melan-A para o diagnóstico precoce em casos clinicamente suspeitos ou duvidosos de vitiligo. Material e métodos: Lâminas histológicas de biópsias de pele sã e lesada de 10 pacientes com suspeita clínica de vitiligo coradas pelos métodos de HE, proteína S-100, HMB-45 e Melan-A. Utilizou-se contracoloração com Giemsa como modificação técnica para diferenciar a melanina da imunomarcagem. Resultados: Seis casos, com manifestação clínica recente, apresentaram infiltrado linfocitário, do tipo dermatite de interface, na pele lesada na HE. As colorações por S-100, HMB-45 e Melan-A marcaram os melanócitos da camada basal da pele sã, e a proteína S-100 evidenciou as células de Langerhans. Na pele lesada, os melanócitos estavam ausentes ou diminuídos quando comparados com a pele normal. A proteína S-100 demonstrou maior número de células de Langerhans, o que é característico das lesões de vitiligo. Conclusão: A imuno-histoquímica pode ser utilizada como método auxiliar no diagnóstico dos casos duvidosos de vitiligo.
Hipomelanose cutânea	
Imuno-histoquímica	
Diagnóstico	
Melan-A	

abstract

key words

*Vitiligo is a frequent skin disease that affects 1% of the population. It presents depigmented macules resulting from a gradual loss of melanocytes in the epidermis. In most cases, the diagnosis is made by clinical examination. Skin biopsies are performed when it is necessary to compare it with other hypomelanosis. Histopathological diagnosis of vitiligo is often difficult in hematoxylin-eosin (H&E) stained sections. There are a few studies on the improvement of diagnostic quality in vitiligo. **Objective:** To evaluate the use of immunohistochemical markers, such as S-100 protein, human melanoma black-45 (HMB-45) and Melan-A, in the early diagnosis of clinically suspected or doubtful cases of vitiligo. **Materials and methods:** Histological sections of biopsies from healthy and affected skin areas from 10 patients clinically suspected of vitiligo. The samples were stained with H&E, S-100 protein, HMB-45 and Melan-A methods. Counterstaining with Giemsa was applied as a technical modification to differentiate melanin from immunolabelling. **Results:** Six cases with recent clinical manifestation showed lymphocyte infiltrates, such as interface dermatitis, in the affected skin in the H&E staining technique. S-100 protein, HMB-45 and Melan-A staining marked the basal layer melanocytes of the healthy skin and S-100 protein antigen evidenced Langerhans cells. Melanocytes were absent or less frequent in affected skin areas in comparison with normal skin. S-100 protein showed a larger number of Langerhans cells, what is a common feature of vitiligo lesions. **Conclusion:** Immunohistochemistry may be used as an auxiliary technique for the diagnosis of suspected vitiligo cases.*

Vitiligo
Cutaneous hypomelanosis
Immunohistochemistry
Diagnosis
Melan-A

1. Médica patologista; doutoranda em Patologia pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (FMB/UNESP); professora do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Presidente Prudente da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE).

2. Doutora em Patologia; dermatologista do Departamento de Dermatologia da FMB/UNESP.

3. Professor-assistente-doutor do Departamento de Dermatologia da FMB/UNESP.

4. Professora adjunta do Departamento de Patologia da FMB/UNESP.

Trabalho apresentado no XXVI Congresso Brasileiro de Patologia, realizado na cidade de Bento Gonçalves (RS) em novembro de 2007.

Introdução

O vitiligo é uma doença de pele relativamente freqüente que acomete 1% a 4% da população em geral, sem predileção por sexo ou raça, caracterizada por máculas hipo ou acrômicas como conseqüência da perda local de melanócitos da camada basal da epiderme.

Tem provável causa auto-imune, com presença de anticorpos-anti-Melan A (MART1) específicos^(11, 14, 16, 20) e predisposição genética associada à suscetibilidade auto-imune localizada no locus-1 (A1S1) no cromossomo 1⁽⁸⁾. Corroborando essa hipótese está o fato de o vitiligo estar associado, em muitos casos, a uma série de doenças auto-imunes, como alopecia *areata*, diabetes *mellitus* (DM), anemia perniciosa e tireoidite de Hashimoto⁽⁶⁾.

Na maioria dos pacientes com vitiligo, o diagnóstico é feito por exame clínico seguido de análise da área despigmentada sob a luz de Wood. Biópsias de pele para o diagnóstico de vitiligo são realizadas nos casos em que há necessidade de se excluírem outras doenças em que ocorre hipomelanose, como líquen escleroso, hanseníase, pitiríase *alba*, sarcoidose, lúpus eritematoso vitiligóide, entre outras^(4, 6, 13).

A coloração de Fontana-Masson (nitrato de prata amoniado) demonstra a presença de grânulos de melanina no citoplasma das células, e não a presença de melanócitos. Várias doenças hipocromiantes de pele, como líquen escleroso e pitiríase *alba*, apresentam diminuição de melanina nos queratinócitos da camada basal, podendo ser confundidas com vitiligo, já que estes também apresentam infiltrado linfocitário dérmico, porém não demonstram redução significativa de melanócitos⁽⁴⁾.

O vitiligo tem grande número de opções terapêuticas, cuja resposta depende da distribuição das lesões hipopigmentadas (localizada ou generalizada), do estado de evolução da doença (ativa ou estável) e do local afetado⁽⁵⁾. Quanto mais precoces forem o diagnóstico e o tratamento, melhor será a resposta e maiores serão as chances de impedir a evolução da doença^(5, 22, 23).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a utilidade dos marcadores imuno-histoquímicos Melan-A, *human melanoma black-45* (HMB-45) e proteína S-100 para o diagnóstico precoce de vitiligo em casos clinicamente duvidosos e com achados histológicos pouco característicos dessa patologia.

Material e métodos

Foram incluídos no presente trabalho 10 casos de suspeita de vitiligo dos arquivos do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (FMB/UNESP) e do Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE). Seis casos apresentavam biópsias distintas de pele sã e pele lesada e quatro, biópsias da transição de pele sã para lesada.

A distribuição dos pacientes quanto a idade, sexo e local da biópsia está sumarizada na **Tabela 1**.

Tabela 1 Distribuição dos pacientes segundo idade, sexo e local da biópsia

Caso nº	Idade (anos)	Sexo	Local da biópsia
1	20	Feminino	Flanco direito
2	27	Feminino	Não referido
3	21	Feminino	Abdome
4	50	Masculino	Tronco
5	44	Masculino	Antebraço direito
6	19	Feminino	Dorso
7	57	Feminino	Punho esquerdo
8	15	Masculino	Perna esquerda
9	12	Feminino	Tórax anterior
10	37	Masculino	Braço direito

Todos os tecidos foram fixados em formalina, incluídos em parafina e corados com hematoxilina e eosina (HE) para o diagnóstico histopatológico. Secções histológicas adicionais foram realizadas para as colorações imuno-histoquímicas.

A coloração imuno-histoquímica foi feita em cortes histológicos de 4 µm de espessura dispostos em lâminas histológicas previamente tratadas com o aderente poli-D-lisina, seguindo a técnica do ABC brevemente descrita a seguir. Foi feita a desparafinização em xilol seguida de hidratação em solução aquosa de álcool etílico e lavagem com água. Após o bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada a 35 por 10 minutos, os cortes histológicos foram colocados em solução de ácido cítrico a 0,001 M, pH 6, e submetidos à temperatura de 121°C em ambiente de microondas por 15 minutos para a recuperação antigênica. Após descanso de

20 minutos, incubaram-se os anticorpos primários Melan-A (clone A103, Dako Corporation SA) na titulação 1:100, HMB-45 (clone HMB-45, Dako Corporation SA) na titulação 1:40 e proteína S-100 (policlonal, Dako Corporation SA) na titulação 1:2.500, por 18 horas a 4°C em câmara úmida. Depois da lavagem das lâminas em solução salina tamponada, foram adicionados os reagentes secundário (Biotinilado anti-mouse Ba 2000 – Vector) e terciário (ABC PK 6100 – Vector), incubando-os por 60 e 45 minutos, respectivamente. A reação foi revelada com DAB (Sigma Co., S Louis, EUA) por 5 minutos e contracorada com Giemsa⁽¹⁸⁾. Como controle negativo, omitiu-se o anticorpo primário.

As lâminas coradas por HE, Melan-A, HMB-45 e proteína S-100 foram examinadas ao microscópio ótico comum por dois autores (G. A. N. e M. E. A. M.).

Um esquema de escore semiquantitativo foi usado para descrever a coloração imuno-histoquímica observada. Os citoplasmas das células são positivos ou negativos para

Melan-A, HMB-45 e proteína S-100. A porcentagem de positividade de melanócitos corados foi quantificada e dividida em ausente, raras células e normal, e a de células de Langerhans, em normal, 1+ (uma vez mais que o normal), 2+ (duas vezes mais que o normal) e 3+ (três vezes mais que o normal).

A distribuição dos escores foi comparada pareadamente entre os grupos pelo teste de Wilcoxon, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$.

Resultados

Apenas os casos com evolução mais recente apresentaram infiltrado linfocitário na pele lesada, representado por dermatites de interface, perivasculares e liquenóides (**Figura 1**). Desses, três casos apresentavam também discreto infiltrado linfocitário na derme da pele sã (**Tabela 2**).

Tabela 2 Alterações histopatológicas na coloração por hematoxilina e eosina (HE) e perfil de expressão dos marcadores imuno-histoquímicos nos casos estudados, associados ao tempo de evolução das lesões

Caso nº	Evolução	Pele sã			Pele lesada				
		HMB-45*	Melan-A**	S 100***	HE	HMB-45*	Melan-A**	S 100***	HE
1	Anos	Normal	Normal	Normal	Sem alterações	Ausente	Ausente	1+	Sem alterações
2	Meses	Normal	Normal	Normal	Sem alterações	Raros	Ausente	3+	Dermatite de interface
3	Anos	Normal	Normal	Normal	Sem alterações	Ausente	Ausente	2+	Sem alterações
4	Anos	Normal	Normal	2+	Sem alterações	Raros	Ausente	2+	Sem alterações
5	Anos	Normal	Normal	Normal	Sem alterações	Ausente	Ausente	2+	Sem alterações
6 [#]	Meses	Normal	Normal	Normal	Discreto infiltrado	Ausente	Ausente	3+	Dermatite perivascular
7	1 mês	Normal	Normal	Normal	Sem alterações	Normal	Diminuído	2+	Discreto infiltrado
8 [#]	Meses	Normal	Normal	Normal	Discreto infiltrado	Ausente	Ausente	2+	Dermatite perivascular
9 [#]	Meses	Normal	Normal	Normal	Discreto infiltrado	Ausente	Ausente	2+	Discreto infiltrado
10 [#]	Meses	Normal	Normal	Normal	Sem alterações	Ausente	Ausente	3+	Dermatite liquenóide

*p = 0,0077; **p = 0,0051; ***p = 0,0077; #casos com biópsias da transição de pele sã para pele lesada. HMB-45: human melanoma black-45; HE: hematoxilina e eosina.

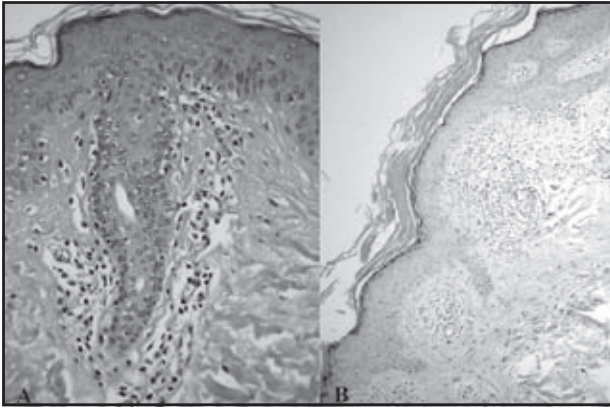


Figura 1 – A (caso 2): pele lesada – dermatite de interface (HE, 400x); B (caso 10): pele lesada – dermatite liquenóide (HE, 200x)

Na pele sã, a marcação por HMB-45 e Melan-A evidenciou melanócitos distribuídos normalmente na camada basal, apresentando grande número de processos dendríticos (**Figuras 2 e 3**). Na pele lesada, em dois casos o marcador HMB-45 mostrou a presença de raros melanócitos, enquanto o Melan-A evidenciou ausência destes (casos 2 e 4). Em um caso (caso 7), o HMB-45 mostrou número semelhante de melanócitos ao da pele sã, porém o Melan-A exibiu quantidade diminuída destes, além de ausência de projeções dendríticas e volume celular diminuído (Tabela 2).

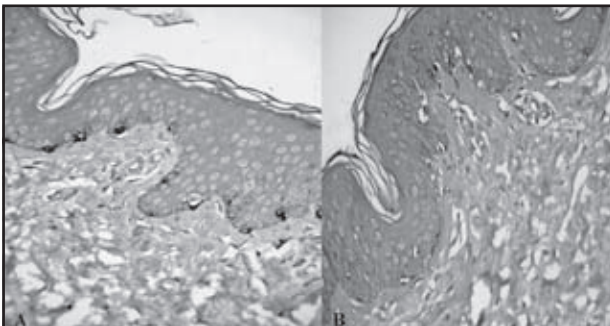


Figura 2 – Caso 3: imunomarcação para HMB-45. Notar a ausência de células marcadas na pele lesada (B) (400x)

Nos demais casos, ambos os marcadores evidenciaram a ausência de melanócitos na pele lesada.

A proteína S-100 demonstrou aumento de duas vezes o normal de células dendríticas na epiderme na maioria das biópsias de pele lesada e aumento de três vezes o normal em três casos (casos 2, 6 e 10), os quais apresentavam infiltrado linfocitário mais exuberante na derme. Um caso (caso 4) apresentou aumento de células dendríticas coradas

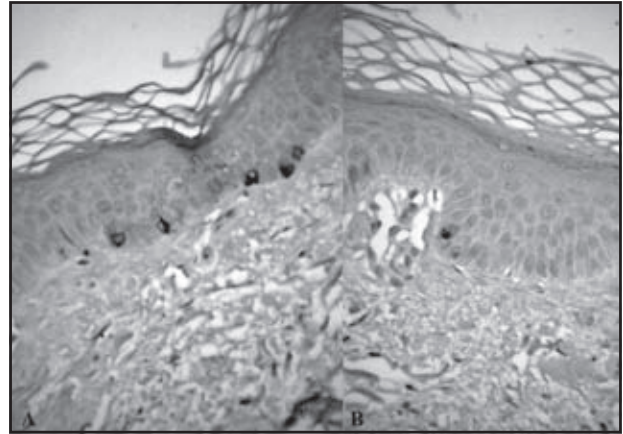


Figura 3 – Caso 2: imunomarcação para Melan-A. Notar a ausência de células marcadas na pele lesada (B) (400x)

pela proteína S-100 de duas vezes o normal tanto na pele sã quanto na lesada. No restante dos casos, a pele sã não mostrou alterações no número de células imunomarcadas por esta proteína (Tabela 2 e **Figura 4**).

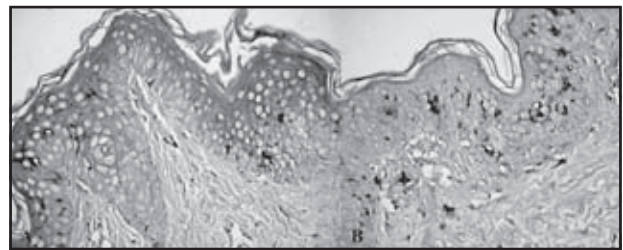


Figura 4 – Caso 2: imunomarcação para proteína S-100. Notar o aumento de células marcadas na pele lesada (B) em comparação com a pele sã (A) (400x)

Os três marcadores demonstraram diferença estatisticamente significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

Discussão

Doenças cutâneas hipomelanóticas são alterações pigmentares caracterizadas pela redução do conteúdo de melanina, o que resulta em clareamento da pele. O estabelecimento do diagnóstico correto para hipomelanose cutânea requer boa história, exame físico detalhado, usando técnicas especiais como a luz de Wood, e, em alguns casos, biópsia da pele lesada e sã⁽¹²⁾. Entre os diagnósticos diferenciais das lesões hipomelanóticas cutâneas temos:

a) líquen escleroso: clinicamente se manifesta com pápulas hipopigmentadas que se coalescem e formam

placas, predominantemente na região genital^(2, 4); histologicamente, apresenta esclerose dérmica patognômica associada a infiltrado liquenóide, e a leucodermia parece estar mais associada à diminuição de produção de melanina do que à perda de melanócitos, pois a imuno-histoquímica mostra que somente raros casos têm perda significativa de melanócitos como observado no vitiligo⁽⁴⁾;

b) lúpus eritematoso vitiligóide: máculas atróficas hipocrômicas ou acrômicas podem ser observadas, especialmente nas formas discóide ou subaguda; no exame anatomopatológico observam-se hiperqueratose com formação de "rolhas" córneas, atrofia da epiderme, espessamento e tortuosidade da membrana basal, infiltrado liquenóide ao longo da junção dermoepidérmica e ao redor dos folículos pilosos, extravasamento de eritrócitos e depósitos de mucina intersticial. E no estudo imuno-histoquímico é observada perda parcial de melanócitos⁽¹⁹⁾;

c) pitiríase *alba*: apresenta-se como área hipocrômica circinada ou oval, com descamação fina superficial, predominantemente na face e em indivíduos de idade pré-escolar ou escolar; a histologia mostra melanófagos na derme em meio a infiltrado linfocitário e agressão da junção dermoepidérmica, não sendo observada perda de melanócitos à imuno-histoquímica⁽²¹⁾;

d) haneníase: manifesta-se como mácula hipocrômica, hipoestésica ou anestésica, caracterizada por inflamação granulomatosa da derme, com presença de bacilos álcool-ácido-resistentes detectados pela coloração de Fite-Faraco⁽¹⁷⁾;

e) sarcoidose: clinicamente se manifesta como pápulas, comumente na face, que podem ser hipocrômicas; e na biópsia são observados granulomas não-caseosos⁽⁷⁾.

A alteração mais importante do vitiligo descrita à microscopia ótica é a perda parcial ou completa de melanina como resultado da perda de melanócitos. Outras alterações também podem ser observadas, como dermatite de interface com infiltrado linfocitário na derme superficial⁽¹³⁾. Estas alterações são mais proeminentes no vitiligo ativo do que no estável^(1, 6). Nossos achados são semelhantes aos descritos na literatura, onde somente nos casos com evolução recente observou-se infiltrado inflamatório.

Os casos que apresentavam discreto infiltrado linfocitário na pele são aqueles em que a biópsia foi realizada na transição da pele para a lesada, sugerindo

um início de comprometimento da pele adjacente.

Alguns autores acreditam que melanócitos permanecem no vitiligo, mas sem atividade melanogênica^(4, 10, 15, 19), porém Montes *et al.*⁽¹³⁾, por microscopia eletrônica, e Le Poole *et al.*⁽⁶⁾, por imuno-histoquímica, demonstraram ausência de melanócitos nas áreas despigmentadas do vitiligo. Em nosso estudo, o caso 3 mostra na pele lesada células localizadas na camada basal da epiderme lembrando melanócitos, porém não imunomarcadas pelo HMB-45 (Figura 2B) nem pelo Melan-A; acreditamos que essas células correspondam a melanócitos, porém apoptóticos, e por isso não apresentam imunomarcção.

Bhawan⁽³⁾ mostrou que o anticorpo Mel-5, usado em imuno-histoquímica, poderia ser empregado na avaliação de lesões pigmentadas da pele, bem como de biópsias de pacientes com vitiligo, alteração pigmentar pós-inflamatória e lesões melanocíticas regredidas ou em regressão, porém este anticorpo marca somente melanócitos na epiderme e também reage com o endotélio na derme⁽⁹⁾.

O estudo de Carlson *et al.*⁽⁴⁾ mostrou que o marcador imuno-histoquímico Melan-A, proteína específica dos melanócitos e relacionada com o melanossoma, apresenta desempenho superior ao HMB-45 para identificação de melanócitos, uma vez que o HMB-45, indicador da expressão de uma proteína que mostra a presença de melanossomas nos estágios I e II e melanogênese ativa, marca melanócitos com melanogênese funcionante, sendo que sua negatividade não significa ausência de melanócitos.

Em nosso estudo, o anticorpo Melan-A foi mais eficaz para determinar a ausência de melanócitos, pois nos casos em que o marcador HMB-45 identificou melanócitos, o Melan-A mostrou sua ausência ou diminuição, além de redução do volume celular e ausência de dendritos, parecendo ser mesmo um melhor marcador para o diagnóstico de vitiligo. Embora ambos os marcadores não corem todos os melanócitos presentes na amostra, raramente outras doenças hipocromiantes, como líquen escleroso ou lúpus eritematoso vitiligóide, os principais diagnósticos diferenciais histopatológicos do vitiligo, levam a uma perda tão grande de melanócitos como observado neste último.

O vitiligo não é somente uma desordem de melanócitos, mas também envolve outras células, como queratinócitos e células de Langerhans, da epiderme e do epitélio folicular⁽¹⁵⁾.

Montes *et al.*⁽¹³⁾ demonstraram aumento de células de Langerhans nas áreas despigmentadas do vitiligo, e Le Poole *et al.*⁽⁹⁾ identificaram que mesmo as células coradas pela proteína S-100 na camada basal destas áreas tratavam-se de células de Langerhans.

No presente trabalho observamos aumento significativo das células de Langerhans nas áreas despigmentadas em relação à pele normal, com exceção de um caso que apresentava aumento semelhante destas células nas duas áreas, corroborando os dados de literatura. Três casos com infiltrado linfocitário dérmico mais intenso foram os que apresentaram maior concentração de células de Langerhans (3+) na pele lesada, talvez por maior estímulo imunológico na área.

Conclusão

Não somente pelo aspecto estético, mas também pela chance de estar associado a outras doenças auto-

imunes, que necessitem ser investigadas, o diagnóstico correto de vitiligo é importante, e a imuno-histoquímica pode ser ferramenta auxiliar nos casos duvidosos em que há necessidade de se afastarem outros diagnósticos diferenciais.

A correta avaliação das alterações inflamatórias e da imunomarcagem dos melanócitos só é possível comparando-se a pele sã com a lesada. Assim, a biópsia de pele sã é fundamental para o diagnóstico de vitiligo, principalmente em seus estágios iniciais.

Novos estudos com casuística maior são necessários para que possamos definir de forma inequívoca a aplicação da imuno-histoquímica no diagnóstico diferencial precoce do vitiligo. Maior número de casos permitirá também verificar se há relação entre o local da lesão e as alterações imuno-histoquímicas, podendo ajudar a elucidar a causa da diferença da resposta terapêutica dependendo do local afetado.

Referências

1. AHN, S. K. *et al.* Immunohistochemical studies from vitiligo: comparison between active and inactive lesions. *Yonsei Medical Journal*, v. 35, n. 4, p. 404-10, 1994.
2. ATTILI, V. R.; ATTILI, S. K. Vitiligo-like lichen sclerosus: a reappraisal. *Indian J Dermatol Venerol Leprol*, v. 74, n. 2, p. 118-21, 2008.
3. BHAWAN, J. Mel-5: a novel antibody for differential diagnosis of epidermal pigmented lesions of the skin in paraffin-embedded sections. *Melanoma Res*, v. 7, n. 1, p. 43-8, 1997.
4. CARLSON, J.A. *et al.* Possible mechanisms of hypopigmentation in lichen sclerosus. *Am J Dermatopathol*, v. 24, n. 2, p. 97-107, 2002.
5. HARTMANN, A.; BRÖCKER, E. B.; BECKER. Hypopigmentary skin disorders: current treatment options and future directions. *Drugs*, v. 64, n. 1, p. 89-107, 2004.
6. HUGGINS, R. H.; SCHWARTZ, R. A.; KRYSICKA JANNIGER, C. Vitiligo. *Acta Dermatoven APA*, v. 14, n. 4, p. 137-45, 2005.
7. KATTA, R. Cutaneous sarcoidosis: a dermatologic masquerader. *Am Fam Physician*, v. 65, p. 1581-4, 2002.
8. LE POOLE, I. C. *et al.* Expansion of vitiligo lesions is associated with reduced epidermal CDw60 expression and increased expression of HLA-DR in perilesional skin. *Br J Dermatol*, v. 149, p. 739-48, 2003.
9. LE POOLE, I. C. *et al.* Presence or absence of melanocytes in vitiligo lesions: an immunohistochemical investigation. *J Invest Dermatol*, v. 100, p. 816-22, 1993.
10. MACHADO FILHO, C. D. S. *et al.* Vitiligo: analysis of grafting versus curettage alone, using melanocyte morphology and reverse transcriptase polymerase chain reaction for tyrosinase mRNA. *São Paulo Med J*, v. 123, n. 4, p. 187-91, 2005.
11. MANTOVANI, S. *et al.* Molecular and functional bases of self-antigen recognition in long-term persistent melanocyte-specific CD8⁺ T cells in one vitiligo patient. *J Investigative Dermatology*, v. 121, n. 2, p. 308-14, 2003.
12. MOLLET, I.; ONGEANE, K.; NAEYAERT, J. M. Origin, clinical presentation, and diagnosis of hypomelanotic skin disorders. *Dermatol Clin*, v. 25, n. 3, p. 363-71, 2007.
13. MONTES, F. L. *et al.* Value of histopathology in vitiligo. *Int J Dermatol*, v. 42, p. 57-61, 2003.
14. OGG, G. S. *et al.* High frequency of skin-homing melanocyte-specific cytotoxic T lymphocytes in autoimmune vitiligo. *J Exp Med*, v. 188, n. 6, p. 1203-8, 1998.

15. ORTONNE, J. P.; BOSE, S. K. Vitiligo: where do we stand? *Pigment Cell Res*, v. 6, n. 2, p. 61-72, 1993.
16. PALERMO, B. et al. Specific cytotoxic T lymphocyte responses against Melan-A/MART1, tyrosinase and Gp100 in vitiligo by use of major histocompatibility complex/peptide tetramers: the role of cellular immunity in the etiopathogenesis of vitiligo. *J Investigative Dermatology*, v. 117, n. 2, p. 326-32, 2001.
17. PAVANI, R. A. B.; TONOLLI, E. R.; D'AVILA, S. C. G. P. Classificação histopatológica e correlação clínica de 50 casos de hanseníase diagnosticados em um hospital-escola, São José do Rio Preto, SP. *Medicina (Ribeirão Preto)*, v. 41, n. 2, p. 188-95, 2008.
18. SÁLVIO, A. C.; MARQUES, M. E. A. Imuno-histoquímica para a identificação de células neoplásicas no infiltrado ativo de melanomas finos. *J Bras Patol Med Lab*, v. 42, n. 2, p. 143-8, 2006.
19. SOUZA FILHO, L. G. C. et al. Estudo comparativo entre vitiligo, nevo halo e lúpus eritematoso vitiligóide por meio de métodos imunológicos, histológicos e imuno-histoquímicos. *An Bras Dermatol*, v. 80, n. 2, p. 143-8, 2005.
20. WATERMAN, E. A. et al. Auto antibodies in vitiligo patients are not direct to melanocyte differentiation antigen MelanA/MART1. *Clin Exp Immunol*, v. 129, p. 527-32, 2002.
21. WEBER, M. B.; ÁVILA, L. G. S.; CESTARI, T. A. Pityriase alba: aspectos epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. *An Bras Dermatol*, v. 75, n. 3, p. 359-67, 2000.
22. WHITTON, M. E. et al. Interventions for vitiligo. *Cochrane Databases Syst Rev*, v. 25, n. 1, p. CD003263, 2006.
23. WHITTON, M. E.; ASHCROFT, D. M.; GONZALEZ, U. Therapeutic interventions for vitiligo. *J Am Acad Dermatol*, v. 59, n. 4, p. 713-7, 2008.

Endereço para correspondência

Gisele Alborghetti Nai
 Laboratório de Anatomia Patológica da UNOESTE
 Rua José Bongiovani, 700
 CEP: 19050-680 – Presidente Prudente-SP
 Tel.: (18) 3229-1059
 Fax: (18) 3229-1194
 e-mail: patologia@unoeste.br