

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E  
DO ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES SOROLÓGICOS  
DE ATIVIDADE DE VITILIGO EM PACIENTES  
ADULTOS E PEDIÁTRICOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ROCHELE MACHADO DURGANTE

Porto Alegre, Brasil

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E  
DO ADOLESCENTE

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES SOROLÓGICOS  
DE ATIVIDADE DE VITILIGO EM PACIENTES  
ADULTOS E PEDIÁTRICOS**

ROCHELE MACHADO DURGANTE

**Tânia Ferreira Cestari**

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil

2019

#### CIP - Catalogação na Publicação

Machado Durgante, Rochele  
AVALIAÇÃO DE MARCADORES SOROLÓGICOS DE ATIVIDADE DE  
VITILIGO EM PACIENTES ADULTOS E PEDIÁTRICOS / Rochele  
Machado Durgante. -- 2019.  
50 f.  
Orientadora: Tânia Ferreira Cestari.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,  
Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Vitiligo . 2. Marcadores sorológicos. 3.  
pacientes pediátricos . I. Ferreira Cestari, Tânia,  
orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO**  
**ADOLESCENTE**

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

27 / 11 / 2019

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dr. Ursula da Silveira Matte  
(Departamento de Saúde da Criança e do Adolescente /PPGSCA  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Prof. Dr. Liane Esteves Daudt  
(Departamento de Saúde da Criança e do Adolescente /PPGSCA  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Prof. Dr. Renan Rangel Bonamigo  
(Departamento de Medicina Interna/PPG Ciências Médicas  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho à minha família, especialmente para a minha irmã, Flávia, minha inspiração a entrar no mundo da pesquisa científica.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Professora Dra Tânia Ferreira Cestari por aceitar esse desafio comigo. Obrigada por me introduzir no mundo da pesquisa científica, ensinar sobre pesquisa, sobre Dermatologia e sobre a vida.

À Juliana Catucci Bozza e à Laura Lopes da Silveira pela amizade, pelos ensinamentos em Dermatologia e por compartilhar comigo suas amostras retrospectivas. Sem isso essa pesquisa não seria possível.

À Patrícia Luciana da Costa Lopez pela ajuda e por me encorajar a trabalhar com a pesquisa experimental, um mundo novo e desconhecido para mim até então.

Agradeço ao Jéferson Beck da Silva e toda a equipe da Unidade de Pesquisa Laboratorial por terem me ensinado, de forma paciente, a trabalhar em bancada.

Agradeço ao Hugo Bock por ter feito juntamente comigo as análises das amostras de forma tão atenciosa e cuidadosa.

Agradeço ao PPGSCA pelas condições de estudo e pela excelência em ensino.

Agradeço ao CNPQ pela bolsa de estudo nesse momento delicado para educação pública brasileira, me sinto honrada de ter sido incentivada no início da minha vida de pesquisadora.

Agradeço aos meus pais, Leila e Flavio, por me dar a estrutura necessária para eu me dedicar a estudar e ser incansável na busca do conhecimento.

Agradeço a minha irmã Flávia, por me incentivar a conhecer o mundo da pesquisa científica. Minha admiração a pessoa e pesquisadora incrível que você é.

Ao meu marido Lucas, pelo amor e companheirismo em todos os dias dessa jornada. Sua ajuda e força foram fundamentais para que eu conseguisse me dedicar a essa etapa.

A Deus por me dar saúde e guiar meu caminho todos os dias até aqui.

## RESUMO

**Introdução:** Diagnosticar precocemente e frear a atividade de doença no vitiligo é um desafio para o médico dermatologista. Evidências experimentais sugerem o papel dos marcadores CXCL9 e CXCL10 como preditores de atividade de doença em pele de camundongos e humanos. Contudo, há poucos estudos em soro humano para confirmar estes resultados. Na literatura brasileira, não há estudos avaliando marcadores séricos e atividade de vitiligo e na literatura mundial, não se encontram trabalhos envolvendo a população pediátrica. **Objetivos:** Avaliar o uso dos biomarcadores séricos CXCL9 e CXCL10 para reconhecer atividade de doença em pacientes com vitiligo ativo e estável. Avaliar a possível diferença de seus valores em amostra de população adulta e pediátrica. **Métodos:** Estudo transversal de casos e controles. Foram incluídos pacientes adultos e pediátricos, selecionados por uma amostra de conveniência de casos consecutivos, divididos em 3 grupos: vitiligo ativo, estáveis e grupo controle. Os níveis das quimiocinas CXCL9 e CXCL10 foram analisados pela técnica de Luminex<sup>®</sup>, Multiplex. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** Foram incluídos 84 pacientes, 56 com diagnóstico de vitiligo e 28 controles. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto aos valores dos marcadores sorológicos. No grupo de doença ativa, os pacientes adultos apresentaram valores significativamente mais elevados de CXCL10 comparados aos pacientes pediátricos. **Conclusão:** Em pacientes adultos com doença ativa os marcadores CXCL9 e CXCL10 apresentam níveis mais elevados do que em crianças. São necessários novos estudos, com amostra maior, elucidando separadamente adultos e crianças, para investigar a possibilidade associação entre marcadores sorológicos e atividade de vitiligo.

**Palavras-Chave:** CXCL9; CXCL10; Biomarcadores; Crianças; Vitiligo.

## ABSTRACT

**Background:** Early diagnosis and stopping disease activity in vitiligo is a challenge for the dermatologist. Experimental evidence suggests the role of markers CXCL9 and CXCL10 as predictors of disease activity in mouse and human skin. However, there are few studies in human serum to confirm these results. In the Brazilian literature, there are no studies evaluating serum markers and vitiligo activity. In the world literature, there are no studies involving the pediatric population. **Objectives:** To evaluate the use of CXCL9 and CXCL10 serum biomarkers to recognize disease activity in patients with active and stable vitiligo. Assess the possible difference between their values in a sample of adult and pediatric populations. **Methods:** It is a Cross-sectional study of cases and controls. We included adult and pediatric patients, selected by a convenience sample of consecutive trials, divided into three groups: active, stable vitiligo, and control group. Chemokine levels CXCL9 and CXCL10 were analyzed by Luminex™ Multiplex technique. The adopted significance level was 5% ( $p < 0,05$ ). **Results:** We included 84 patients, 56 diagnosed with vitiligo, and 28 controls. There was no statistically significant difference between groups regarding the values of serological markers. In the active disease group, adult patients had significantly higher CXCL10 values compared to pediatric patients. **Conclusions:** CXCL9 and CXCL10 have higher levels than in children. Further studies are needed to investigate the possible association between serological markers and vitiligo activity. Preferentially with a larger sample, elucidating adults and children separately.

**Kew words:** CXCL9; CXCL10; Biomarkers; Children; Vitiligo.



## **LISTA DE TABELAS**

Table 1 – Clinical characterization of vitiligo in the studied patient group .....	30
Table 2 – Serologic markers in the three study groups .....	31
Table 3 – Serologic markers in patients with vitiligo, according to age and disease activity .....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

CXCL 9/MIG – Monocina induzida por interferon-gama

CXCL10/IP10 - Proteína induzida por interferon gama

CXCR - *Cysteine-X-Cysteine Chemokine Receptor*

IL – Interleucina

*INF- $\gamma$*  – Interferon gama

SPSS - *Statistical Package for Social Science*

SCA – Superfície corporal acometida

Th - Células T auxiliares

UV - Radiação ultra- violeta (UV)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 REVISÃO LITERATURA</b> .....	13
2.1 ETIOLOGIA AUTOIMUNE E SEUS MECANISMOS .....	13
2.2 MARCADORES CLÍNICOS DE ATIVIDADE E ESTABILIZAÇÃO NO VITILIGO ..	14
2.3 MARCADORES SOROLÓGICOS DE ATIVIDADE DE DOENÇA .....	15
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	16
<b>4 OBJETIVO</b> .....	17
4.1 OBJETIVO GERAL.....	17
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>5 METODOLOGIA</b> .....	18
5.1 DELINEAMENTO.....	18
5.2 CÁLCULO PARA TAMANHO DA AMOSTRA.....	18
5.3 AMOSTRA.....	18
<b>5.3.1 Parte retrospectiva da amostra do estudo</b> .....	19
<b>5.3.2 Parte prospectiva da amostra do estudo</b> .....	20
<b>5.3.3 Avaliação laboratorial (Anexo I)</b> .....	20
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
5.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....	21
<b>5.5.1 Autorização para pesquisa</b> .....	21
<b>5.5.2 Consentimento informado</b> .....	21
<b>5.5.3 Consentimento de armazenamento de material biológico</b> .....	22
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	23
<b>7 ARTICLE</b> .....	25
7.1 INTRODUCTION .....	27
7.2 METHODS .....	28
<b>7.2.1 Participants</b> .....	28
<b>7.2.2 Statistical analyses</b> .....	29
7.3 RESULTS .....	29
<b>7.3.1 Clinical profile and aetiological factors</b> .....	29
7.4 DISCUSSION.....	32
7.5 CONCLUSION .....	33
7.6 REFERENCES.....	33
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	36
<b>9 ANEXOS</b> .....	37
<b>ANEXO I: PROTOCOLO DE ATENDIMENTO</b> .....	38
<b>ANEXO II - TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	40
<b>ANEXO III TABELA DE DADOS BRUTOS</b> .....	48

## 1 INTRODUÇÃO

O vitiligo é uma dermatose pigmentar adquirida caracterizada por manchas acrômicas resultantes da perda seletiva de melanócitos epidérmicos (TAIEB, PICARDO, 2009). A prevalência é de 1% nos Estados Unidos e Europa, mas pode variar de 0,1 a 8% em todo o mundo. O início da doença geralmente ocorre entre 10 e 30 anos de idade, sendo que cerca da metade dos pacientes desenvolvem a doença até os 20 anos (ALIKHAN ET AL, 2011) (STEINER, 2004). Adultos e crianças dos dois gêneros são igualmente afetados e não há diferença significativa nas taxas de ocorrência de acordo com o fotótipo (TAIEB, PICARDO, 2009). Existe uma prevalência aumentada de doenças autoimunes em pacientes com vitiligo, como tireoidite de Hashimoto, diabetes mellitus tipo 1, doença de Addison, alopecia areata e anemia perniciosa (GILL, 2016)

O diagnóstico do vitiligo é essencialmente clínico, auxiliado pela história clínica e exame físico. Ao exame pela lâmpada de Wood, lâmpada que emite radiação na faixa ultravioleta (UV) em comprimentos de onda baixo (340-400nm), destaca-se o aspecto branco nacarado da pele despigmentada. É necessário excluir outras dermatoses que causam hipopigmentação, tais como: afecções congênitas, condições inflamatórias, malignidades cutâneas e infecções. Raramente o exame histopatológico é necessário para confirmar o diagnóstico (RODRIGUES, 2017). O vitiligo parece ter um comportamento distinto na infância, com alta incidência do tipo segmentar, história familiar de doença autoimune ou endócrina, cabelos precocemente brancos e aumento de autoanticorpos (SILVA, 2007).

Na última década, foram feitos progressos consideráveis na compreensão da etiopatogenia do vitiligo. A doença atualmente é classificada como autoimune com um provável quadro genético associado ao estresse metabólico, oxidativo e anormalidades de adesão celular (PICARDO, 2015). Sabe-se que as células citotóxicas T CD8 são responsáveis pela destruição dos melanócitos. Para guiar a migração dessas células T, existem pequenas proteínas que atuam

como quimioatrativos, conhecidas como quimiocinas. Entre elas, destaca-se o interferon gama (INF- $\gamma$ ) e quimiocinas induzidas por INF- $\gamma$  (CXCL9 e CXCL10) as quais são expressas na pele de pacientes com vitiligo (RASHIGHI, 2017).

Não existem marcadores objetivos para prever prognóstico ou possibilidade de progressão do vitiligo. Assim, essas informações sobre biomarcadores e associação com atividade da doença são essenciais tanto para o paciente como para o médico, a fim de orientar a terapêutica.

Atualmente, na literatura mundial, há escassez de trabalhos que evidenciem os marcadores sorológicos de atividade dos pacientes com vitiligo e a relação entre estes níveis e vitiligo em pacientes adultos e menos ainda em pacientes pediátricos. Neste sentido, cresce a necessidade de uma avaliação das características sorológicas dos pacientes, estimando a associação de atividade de doença do vitiligo com níveis sorológicos.

## 2 REVISÃO LITERATURA

### 2.1 ETIOLOGIA AUTOIMUNE E SEUS MECANISMOS

As quimiocinas são os principais mediadores da migração leucocitária para focos inflamatórios, podendo estimular uma adequada resposta imunológica à invasão de patógenos ou mediar a destruição de tecidos, como nas doenças autoimunes (DESHMANE, 2009).

A quimiocina CXCL10 (interferon induzindo proteína 10 – IP10) é quimioatraente para monócitos e linfócitos T, promovendo adesão de células T ao endotélio. (ANGIOLLO, 1995). Já CXCL9 (monocina induzida por interferon gama – MIG) é responsável pelo recrutamento de células T ativadas e, assim como CXCL10, são induzidas por interferon gama. Uma vez induzidas, as quimiocinas vão atuar nas células que expressam os receptores apropriados. Ambas (CXCL9 e CXCL10) compartilham o receptor CXCR3 (BACON, 2002).

A resposta imune dependente de células T parece ser o principal fator desencadeante para o início e a progressão do vitiligo sendo o dano direto aos melanócitos causado primariamente por linfócitos T supressores CD8<sup>+</sup> (LANG, 2001). As células T CD8<sup>+</sup> melanócito-específicas seguem a quimiocina CXCL10 para infiltrar a pele e matar os melanócitos (STRASSNER, 2016). Logo, a alteração na expressão dessa via de resposta imune CXCR3 / CXCL9-10 / IFN- $\gamma$  parece ser um importante fator para instalação e progressão do vitiligo (BONIFACE, 2018).

Estudos que induziram vitiligo em camundongos, mostraram que quando um anticorpo neutralizante de CXCL10 foi adicionado houve uma reversão da doença, evidenciada por repigmentação (RASHIGHI, 2014). Portanto, terapias que visam o bloqueio do mecanismo quimiotático de CXCL10/CXCR3 poderiam assim representar uma estratégia atraente para frear o vitiligo progressivo (WANG, 2016; BONIFACE, 2018).

## 2.2 MARCADORES CLÍNICOS DE ATIVIDADE E ESTABILIZAÇÃO NO VITILIGO

O exame clínico e cuidadoso e o exame de lâmpada de Wood da pele perilesional pode permitir um indício razoável da atividade ou estabilidade de uma lesão de vitiligo (BENZEKRI, 2017). Marcadores clínicos já estão bem estabelecidos na literatura e são fundamentais para indicar prognóstico e possibilidades de progressão da doença.

Os sinais clínicos mais amplamente caracterizados de doença ativa e progressiva incluem:

- Fenômeno de Köebner: é definido como o desenvolvimento de lesões em locais de pele traumatizada, não acometida anteriormente pela doença. Está presente em cerca de 1/3 dos pacientes, com maior risco de desenvolvimento naqueles que apresentam maior envolvimento de superfície corporal pelo vitiligo e início da doença na infância (RODRIGUES, 2017).

- Lesões tricômicas: zonas de hipopigmentação intermediária entre a pele despigmentada e a pele sã, em diferentes tons. Na avaliação histopatológica, estas áreas apresentam infiltrado inflamatório e degeneração da camada basal.

- Vitiligo Inflamatório: forma rara de vitiligo, caracterizada por eritema nas áreas de despigmentação e/ou suas bordas, associado ou não a prurido. Na histologia, há relatos de infiltrado de linfócitos e macrófagos na borda das lesões e desaparecimento de melanócitos (RASHIGHI, 2017).

- Lesões em confete: lesões recentemente relatadas como marcadoras de vitiligo rapidamente progressivo (RASHIGHI, 2017). São caracterizadas por áreas despigmentadas pequenas e pontilhadas na periferia de lesões pré-existentes. Na biópsia de pele, há presença de infiltrado de linfócitos CD8+ próximo aos melanócitos, na camada basal (RODRIGUES, 2017).

### 2.3 MARCADORES SOROLÓGICOS DE ATIVIDADE DE DOENÇA

A histopatologia é considerada o padrão-ouro para avaliar a atividade atual da doença (YADAV, 2016). A presença de um infiltrado inflamatório com perda gradual de melanócitos epidérmicos em biópsias perilesionais é o sinal mais direto de atividade da doença. Porém, biópsias cutâneas são consideradas como muito invasivas pelos pacientes para fins de biomarcador (SPEECKAERT, 2017).

Estudos de análise de biomarcadores em pacientes com vitiligo estão sendo realizados nos últimos anos. Os marcadores séricos são mais fáceis e menos invasivos de avaliar (SPEECKAERT, 2017). Devido aos seus bons níveis de expressão sanguínea, as quimiocinas CXCL9, CXCL10 são candidatos atraentes como biomarcadores e são promissores para serem incluídos com sucesso na prática diária (RASHIGHI,2014). As expressões sanguíneas desses biomarcadores são medidos por kits de quimiocinas humanas, de acordo com as instruções do fabricante (WANG, 2016).

Um estudo indiano (WANG, 2016) demonstrou que as quimiocinas CXCL9 e CXCL10, em paralelo com seu receptor CXCR3 estão presentes em pacientes adultos com vitiligo e correlacionados com atividade da doença e sua gravidade. O resultado desse estudo mostrou que o CXCL10 sérico pode ser um novo biomarcador no monitoramento da atividade da doença e no acompanhamento terapêutico do vitiligo em progressão.



### **3 JUSTIFICATIVA**

O vitiligo é uma doença dinâmica, com períodos de piora ou surgimento de novas lesões alternados com diminuição e mesmo regressão das lesões existentes. Esta variabilidade provavelmente reflete a situação de reatividade imunológica, responsável pela etiopatogenia da doença. Neste sentido, a dosagem de biomarcadores de atividade se torna uma ferramenta clínica importante a fim de determinar uma intervenção precoce nos casos de progressão da doença ou a confirmação de sua estabilidade, além de dar segurança quanto à eficácia dos tratamentos.

Existe uma incidência expressiva de vitiligo em crianças e adolescentes e as opções terapêuticas neste grupo são mais limitadas (SPEECKAERT, 2017). Segundo informações do censo de 2007 da Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD, 2006), entre os 50.000 atendimentos na rede pública e privada em doenças dermatológicas, cerca de 1,7% corresponderam a vitiligo, confirmando dados mundiais. Um recente estudo brasileiro recrutou dados de serviços dermatológicos públicos e privados e mostrou que houve um aumento na prevalência do vitiligo, comprometendo cerca de 2% da população brasileira e com aumento progressivo com o passar da idade (MIOT, 2018).

Progressos foram feitos em relação aos biomarcadores circulantes e parece que essa abordagem pouco invasiva poderia ser uma adição valiosa para o acompanhamento clínico e manejo terapêutico. Há escassez de trabalhos na literatura mundial que evidenciem os marcadores sorológicos de atividade de vitiligo em pacientes adultos e, até o momento, não se encontram estudos em pacientes pediátricos. No Brasil, estudos envolvendo esses marcadores e vitiligo ainda não foram realizados.

## **4 OBJETIVO**

### **4.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o potencial de uso dos biomarcadores CXCL9 e CXCL10 para reconhecer atividade de doença do vitiligo

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a relação do nível sanguíneo dos marcadores em pacientes com doença ativa e com doença estável.
- Avaliar a relação do nível sanguíneo dos marcadores entre casos e controles.
- Relacionar o nível sanguíneo dos biomarcadores com a extensão do vitiligo.
- Verificar a influência de tratamento e tempo de evolução da doença.
- Comparar se há diferença no nível sanguíneo dos marcadores e atividade da doença do vitiligo entre a população adulta e pediátrica.

## **5 METODOLOGIA**

### **5.1 DELINEAMENTO**

Estudo transversal.

### **5.2 CÁLCULO PARA TAMANHO DA AMOSTRA**

Para cálculo de tamanho de amostra foi utilizado o programa G\*Power, versão 3.1.9.2. Foi realizado o estudo de 3 grupos. Considerando poder de 90%, nível de significância de 5% e tamanho de efeito de 0,4 inferior ao obtido por Wang et al. (2016), chegou-se ao tamanho de amostra total de 84 sujeitos, sendo 28 pacientes em cada grupo.

### **5.3 AMOSTRA**

Foram incluídos nesse estudo observacional de casos e controles, pacientes diagnosticados com vitiligo generalizado, focal e segmentar, selecionados por uma amostra de conveniência de casos consecutivos do ambulatório de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, entre maio de 2018 a fevereiro de 2019. Os pacientes foram divididos em 3 grupos: pacientes com vitiligo ativo, pacientes com vitiligo estável ou em regressão e controles. Foram classificados como controles indivíduos saudáveis e sem vitiligo. Os critérios de exclusão foram: gestação, presença de doenças autoimunes, história de câncer ou doenças inflamatórias, e outras patologias dermatológicas.

Todos os pacientes foram diagnosticados clinicamente por um médico dermatologista. Os pacientes foram questionados sobre o tratamento atual, e quanto a presença de fenômeno de

Köebner associado às lesões. Foram incluídos pacientes com todos os subtipos de vitiligo e diferentes extensões corporais acometidas. Durante o exame físico, os pacientes foram submetidos a um exame com a lâmpada de Wood e classificados conforme o tipo de vitiligo e calculada a superfície corporal acometida (SCA). Os dados demográficos incluídos foram: idade, sexo e classificação de cor de pele seguindo a classificação de fotótipos de Fitzpatrick, conforme descrito no Protocolo de Avaliação Clínica. (Anexo I)

Indivíduos com lesões de vitiligo em progressão nos últimos 6 meses foram classificados no grupo doença ativa. Aqueles com vitiligo em regressão ou com lesões estáveis nos últimos 6 meses foram alocados no grupo estáveis. Crianças e adultos foram divididos igualmente nos grupos com vitiligo ativo e estável, sendo que no grupo controle, um terço foi formado por pacientes pediátricos.

### **5.3.1 Parte retrospectiva da amostra do estudo**

Foram selecionadas amostras sanguíneas de pacientes com e sem vitiligo, adultos e pediátricos, pertencentes à base de dados do Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Essas amostras foram coletadas previamente no âmbito de pesquisa. Estes pacientes já assinaram os termos que permitem a utilização das amostras para pesquisa (Anexo II). Os termos assinados foram: Termo de consentimento Informado, Termo de consentimento para uso de dados e Termo de consentimento de armazenamento de material biológico. As características clínicas e tratamento foram verificadas através da revisão de prontuário.

### **5.3.2 Parte prospectiva da amostra do estudo**

Os pacientes selecionados foram convidados a participar do estudo. Cada paciente foi informado sobre as características do estudo e os pacientes que aceitaram voluntariamente participar, assinaram um termo de consentimento informado (Anexo I). Para os pacientes pediátricos a permissão para participar do estudo foi realizada através dos pais ou responsáveis. Os pacientes maiores de sete anos foram questionados sobre a vontade de participar do estudo e convidados a também assinar o consentimento. Os que optaram por não participar, tiveram sua vontade respeitada.

### **5.3.3 Avaliação laboratorial (Anexo I)**

Amostras de sangue periférico foram coletadas em tubo de gel sem anticoagulante e centrifugadas imediatamente por 5 minutos a 5000rpm a temperatura ambiente (em torno de 25°C). O plasma isolado foi armazenado a -80°C até serem analisados.

A análise molecular foi realizada por imunoensaio multiplex. Esse método utiliza microesferas magnéticas para a detecção e quantificação de múltiplos alvos proteicos no soro, plasma e sobrenadante de cultura de tecidos ou lisado celular. Através dessa técnica é possível dosar citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, receptores solúveis, hormônios, etc.

O imunoensaio multiplex para CXCL9 e CXCL10 foi realizado em placa de 96 poços, em duplicata, com espaço para controle de qualidade e curva padrão. Foi utilizado o Kit Multiplex® (Thermo Fischer Scientific) conforme a instrução do fabricante, e analisado no aparelho Luminex 200.

## 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis quantitativas foram descritas por mediana e amplitude interquartílica devido à assimetria dos dados. As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e relativas. Na comparação dos níveis de marcadores sorológicos entre os grupos, usaram-se os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Na comparação de proporções entre os grupos, aplicou-se o teste Qui-quadrado de Pearson. Para avaliar a associação entre os níveis de marcadores sorológicos e dados numéricos aplicou-se o teste da correlação de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ) e as análises foram realizadas no programa SPSS versão 21.0.

## 5.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

### 5.5.1 Autorização para pesquisa

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética Médica do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA sob número 80319517.6.0000.5327 e pela Plataforma Brasil.

### 5.5.2 Consentimento informado

Os pacientes selecionados foram convidados a participar do estudo. Cada paciente foi informado sobre as características do estudo e, os que aceitaram voluntariamente participar, assinaram um termo de consentimento informado (Anexo I).

O risco de participação no estudo foi mínimo, requerendo uma entrevista, exame físico e coleta de sangue. O anonimato e a privacidade foram plenamente respeitados.

### **5.5.3 Consentimento de armazenamento de material biológico**

Os pacientes também foram convidados a autorizar o armazenamento de suas amostras de sangue para uso posterior em pesquisa de perfil sorológico de vitiligo. O propósito é a elaboração de um banco de amostras a fim de realizar estudos futuros.

As amostras foram armazenadas no Centro de Pesquisa Experimental (CPE), em freezer refrigerado e serão mantidas por um período de 5 anos. Após esse período, amostras serão descartadas.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIKHAN, A.; FELSTEN, L. M.; DALY, M. et al. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up. **J Am Acad Dermatol.** 2011; 65(3): 473-91.

ANGIOLILLO, A; SGARDI, C; TAUB, D; et al. Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis in vivo. **J Exp Med.** 1995; 182(1):155-162.

BACCON, K; BAGGIOLINI, M; BROXMEYER, H. et al. Chemokine/chemokine receptor nomenclature. **J Interferon Citokine Res.** 2002; 22(10): 1067-8.

BENZEKRI, L.; GAUTHIER, Y. Clinical markers of vitiligo activity. **J Am Acad Dermatol.** 2017; 76(5):856-862.

BONIFACE, K.; SENESCHAL, J.; PICARDO, M. et al. Vitiligo: focus on clinical aspects, immunopathogenesis, and therapy. **Clinic Rev Allerg Immunol.** 2018; 54:52–67.

GILL, L; ZARBO, A; ISEDEH, P; et al. Comorbid autoimmune diseases in patients with vitiligo: a cross-sectional study. **J Am Acad Dermatol.** 2016; 74(2): 295-302.

LANG, K. S.; CAROLI, C. C.; MUHM, A. et al. HLA-A2 restricted, melanocyte-specific CD8(+) T lymphocytes detected in vitiligo patients are related to disease activity and are predominantly directed against Melan A/MART1. **J Invest Dermatol.** 2001; 116(6):891-7.

MIOT, H. A.; PENNA, G. O.; RAMOS, A. M. C. et al. Profile of dermatological consultations in Brazil (2018). **An Bras Dermatol.** 2018; 93(6):916-28.

PICARDO, M.; DELL'ANNA, M. L.; EZZEDINE, K. et al. Vitiligo. **Nat Rev Dis Primers.** 2015; 4(1):15011.

RASHIGHI, M.; AGARWAL, P.; RICHMOND, J. M. et al. CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo. **Sci Transl Med.** 2014; 12,6(223):223ra23.

RASHIGHI, M.; HARRIS, J. E. **Vitiligo Pathogenesis and Emerging Treatments Dermatol Clin.** 35 2017; 35(2): 257-265.



RODRIGUES et al. New discoveries in the pathogenesis and classification of vitiligo. **Journal Am Acad of Dermatology**, 2017; 77(1): 1-13.

SILVA, C. M. R.; PEREIRA, L. B.; GONTIJO, B. et al. Vitiligo na infância: características clínicas e epidemiológicas. **An Bras Dermatol**. 2007; 82(1):47-51.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. Perfil nosológico das consultas dermatológicas no Brasil. **An Bras Dermatol**. 2006; 81(6):549-58.

SPEECKAERT, R.; SPEECKAERT, M.; SCHEPPER, S. et al. Biomarkers of disease activity in vitiligo: A systematic review. **Autoimmunity Reviews** 2017; 16(9):937-945

STEINER, D.; VILLAS, R. T.; BEDIN, V. et al. Vitiligo. **An Bras Dermatol**. 2004; 79:335-5

STRASSNER, J. P.; HARRIS, J. E. Understanding mechanisms of autoimmunity through translational research in vitiligo. **Curr Opin Immunol**. 2016; 43(12):81-88.

TAÏEB, A; PICARDO, M. Clinical practice. Vitiligo. **N Engl J Med** 2009; 8; 360(2):160–169.

WANG et al. Increase expression of CXCR3 and its ligands in patients with vitiligo and CXCL10 as a potencial clinical marker for vitiligo. **Br J Dermatol** 2016; 174(6):1318-26.

YADAV, A. K.; SINGH, P.; KHUNGER, N. Clinicopathologic Analysis of Stable and Unstable Vitiligo: A Study of 66 Cases. **Am J Dermatopathol**. 2016; 38(8):608–13.

**7 ARTICLE**

## THE USE OF CXCL10 AND CXCL9 BIOMARKERS IN THE RECOGNITION OF VITILIGO ACTIVITY IN ADULT AND PAEDIATRIC PATIENTS

Durgante, RM<sup>1</sup>; Boza, JC<sup>2</sup>; Lopez, PLC<sup>3</sup>; Cestari, TF<sup>1,2</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Early diagnosis and stopping disease activity in vitiligo is a challenge for the dermatologist. Experimental evidence suggests the role of CXCL9 and CXCL10 biomarkers as predictors of disease activity in mice. However, there are few studies in human serum to confirm these results. In the world literature, there are no studies involving the paediatric population and serologic markers in vitiligo patients. **Aim:** To evaluate the use of CXCL9 and CXCL10 serum biomarkers to recognize disease activity in patients with active and stable vitiligo and to assess the possible difference between their values in a sample of adult and paediatric populations. **Methods:** It is a cross-sectional study of cases and controls. We included adult and paediatric patients, selected by a convenience sample of consecutive trials and divided into three groups: active vitiligo, stable vitiligo, and control group. Levels of the chemokines CXCL9 and CXCL10 were analyzed by the Luminex<sup>TM</sup> multiplex technique. The adopted significance level was 5% ( $p < 0.05$ ). **Results:** We included 84 patients, 56 diagnosed with vitiligo and 28 controls. There was no statistically significant difference between groups regarding the values of serological markers. In the active disease group, adult patients had significantly higher CXCL9 and CXCL10 values as compared to paediatric patients. **Conclusion:** CXCL9 and CXCL10 have higher levels in adults than in children in the active disease group. Further studies are needed to investigate the possible association between serological markers and vitiligo activity, preferentially with a larger sample, elucidating adults and children separately.

**Key words:** CXCL9. CXCL10. Biomarkers. Children. Vitiligo.

What's already known about this topic?

A T-cell-mediated immune response is responsible for melanocyte destruction in vitiligo.

CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo.

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>2</sup> Serviço de Dermatologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>3</sup> Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

What does this study add?

Adults with active vitiligo have higher CXCL9 and CXCL10 values as compared to children. In our population, it is not possible to recognize vitiligo activity using CXCL9 and CXCL10 serum markers.

## 7.1 INTRODUCTION

Vitiligo is an acquired disorder of hypomelanosis<sup>1</sup> characterized by the loss of functioning epidermal melanocytes with a prevalence of 0,1–8% around the world<sup>2</sup>. Disease onset usually occurs between 10 and 30 years of age and affects patients with no gender predilection<sup>3</sup>. Studies have shown an increased prevalence of autoimmune diseases in these patients<sup>4</sup>.

The disease is currently classified as autoimmune with a probable genetic pattern associated with metabolic stress and oxidative and cellular adhesion abnormalities<sup>5</sup>. Research indicates that an imbalance in the T-helper (Th) cell system, with a dominant Th1 pattern, promotes the development of vitiligo due to destruction of melanocytes<sup>6,7</sup>. To guide the migration of these T-cells, there are small proteins known as chemokines that act as chemoattractants. Among them, interferon-gamma (INF- $\gamma$ ) and INF- $\gamma$ -induced chemokines (CXCL9 and CXCL10) are expressed on the skin of patients with vitiligo<sup>8</sup>. Increased serum levels of CXCL9 and CXCL10 have been detected in inflammatory processes and other autoimmune diseases. However, few studies have investigated the role of these chemokines in vitiligo<sup>9</sup>. Rashighi et al. showed a reversal of vitiligo disease, which was evidenced by repigmentation when a CXCL10 neutralizing antibody prevented and reversed vitiligo<sup>10</sup>.

There is a paucity of studies in the world literature highlighting serological markers of vitiligo activity in adult patients and no studies in paediatric patients. Due to good blood expression levels and ease of measurement, chemokines are attractive candidates as serum markers and promising to be successfully included in daily practice<sup>10,11</sup>. This study aimed to

access the use of serum chemokines CXCL9 and CXCL10 as markers of disease activity in vitiligo and compare the serum level among patients with active disease, stable disease and healthy controls, including adults and children.

## 7.2 METHODS

The study was approved by the Ethics Committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre. All participants provided written informed consent.

### 7.2.1 Participants

In total, 56 consecutive patients with generalized, focal and segmented vitiligo and 24 age- and sex-matched healthy controls (HCs) were enrolled into this cross-sectional study. Patients were divided into three groups, according to their clinical status: progressive vitiligo, stable vitiligo and HCs. Progressive vitiligo was defined based on patient's self-reporting of spreading and/or new lesions within 6 months. Patients who displayed no increase in lesion size or number within 6 months were considered stable vitiligo. Children and adults were divided equally into groups. Healthy individuals without autoimmune diseases were classified as controls.

Medical history including age and gender, disease duration and use of drugs for treatment were recorded. Physical examination was performed by a dermatologist, including a Fitzpatrick skin phototype, clinical pattern of vitiligo and presence of Koebner phenomenon. A Wood lamp was used to determine the affected body surface area (BSA) based on the rule of nines<sup>12</sup>.

A venous blood sample (5 ml) was collected from each participant for evaluation of chemokines (CXCL9 and CXCL10) and centrifuged immediately. Isolated plasma was analyzed by multiplex immunoassay, according to the manufacturer's instruction. The data were analyzed by Luminex 200.

### **7.2.2 Statistical analyses**

Quantitative variables were described by median and interquartile amplitude due to data asymmetry. The categorical variables were described by absolute and relative frequencies. The differences between groups were evaluated by both Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests. Correlation analyses were performed using Pearson's correlation test and Spearman's correlation test. The analyses were performed in the SPSS program version 21.0, and the level of significance adopted was 5% ( $p < 0.05$ ).

## **7.3 RESULTS**

### **7.3.1 Clinical profile and aetiological factors**

The study included a total of 84 participants from 3 to 73 years old that were divided into three groups: 28 active vitiligo carriers, 28 stable vitiligo carriers and 28 controls. The female sex was the most prevalent, comprising 71.4% of the active group and 60.7% of the stable and control groups. The mean age was 47.3 years old for adults, and among children, it was 9.7 years old. The predominant Fitzpatrick skin phototypes were II ( $n=28$ , 33%), III ( $n=28$ , 33%) and IV ( $n=23$ , 27%).

Vitiligo was classified as focal (8.9%), segmental (8.9%) and generalized (82.1%). According to treatment, 55.3% of the patients were undergoing some treatment, and 44.6% were undergoing no treatment (Table 1).

Table 1 – Clinical characterization of vitiligo in the studied patient groups

<b>Variables</b>	<b>Cases (n=56)</b>	<b>Active (n=28)</b>	<b>Stable (n=28)</b>	<b>p</b>
Duration of vitiligo (year) - median (P25–P75)	5 (2–10)	5 (3–9)	5 (2–10)	0.843
Classification - n (%)				0.309
Focal	5 (8.9)	2 (7.1)	3 (10.7)	
Segmental	5 (8.9)	1 (3.6)	4 (14.3)	
Generalized	46 (82.1)	25 (89.3)	21 (75.0)	
SCA (%) - median (P25–P75)	7 (3.1–14)	10.5 (5.8–17.8)	4 (2–8.3)	0.010
Current treatment - n (%)				0.680
No treatment	25 (44.6)	12 (42.9)	13 (46.4)	
Topical corticosteroids	5 (8.9)	2 (7.1)	3 (10.7)	
Calcineurin inhibition	18 (32.1)	11 (39.3)	7 (25.0)	
UVB NB	6 (10.7)	3 (10.7)	3 (10.7)	
PUVA	1 (1.8)	0 (0.0)	1 (3.6)	
PUVA + sun	1 (1.8)	0 (0.0)	1 (3.6)	
Koebner - n (%)				0.032
No	31 (55.4)	11 (39.3)	20 (71.4)	
Yes	25 (44.6)	17 (60.7)	8 (28.6)	

Source: Elaborated by the author (2019)

UVB NB – radiation ultra-violet B, narrow band; PUVA – radiation ultra-violet A and psoralen

It was not possible to recognize a statistically significant difference in the CXCL9 and CXCL10 bioindicators between the active and stable groups (Table 2). When the cases and controls were evaluated, there was also no difference in the values of the markers tested. When comparing marker levels between patients who were being treated and those without treatment, no difference was demonstrated.

Table 2 – Serologic markers in the three study groups

Serologic Markers	Active (n=28)	Stable (n=28)	Control (n=28)	p
	Median (P25–P75)	Median (P25–P75)	Median (P25–P75)	
CXCL10	147.4 (67.9–291.5)	187.3 (107.6–237.7)	217.9 (89.8–323.9)	0.505
CXCL9	81.4 (52.9–171.2)	90 (50.4–158.6)	107.6 (50.5–188.9)	0.969

Source: Elaborated by the author (2019)

Patients with active disease presented a significantly higher BSA and a higher incidence of Koebner phenomenon when compared to patients with stable disease (Table 2). However, when evaluating serological markers, there was no significant association between the CXCL9 marker and the extent of BSA in both patients with active disease ( $rs=-0.173$ ;  $p=0.379$ ) and stable disease. The same occurred with the CXCL10 marker in patients with active disease ( $rs=-0.068$ ;  $p=0.732$ ) and with stable disease ( $rs=-0.310$ ;  $p=0.108$ ).

When comparing adults and children, adults presented significantly higher CXCL9 and CXCL10 values than paediatric patients in the active disease group (Table 3).

Table 3 – Serologic markers in patients with vitiligo, according to age and disease activity

Serologic Markers	Paediatrics	Adults	p
	Median (P25–P75)	Median (P25–P75)	
Active group	n=14	n=14	
CXCL10	76.4 (59.4–196.5)	176.4 (99.9–446.7)	0.035
CXCL9	70.6 (39.1–97.8)	142 (65.6–398.9)	0.027
Stable group	n=14	n=14	
CXCL10	198.6 (107.6–227.4)	171.4 (102.8–250.1)	0.635
CXCL9	88.8 (53.9–140.4)	90.8 (48.4–224.4)	0.635
Control group	n=10	n=18	
CXCL10	207.1 (75.4–581.9)	217.9 (102.6–290.3)	0.759
CXCL9	94 (48.8–368.3)	117.4 (46.8–187.1)	0.869

Source: Elaborated by the author (2019)



## 7.4 DISCUSSION

In our study, it was possible to confirm that the presence of Koebner phenomenon is a sign of clinical activity of vitiligo, as already suggested by others authors<sup>11,12,14</sup>. Additionally, patients with active vitiligo also presented greater BSA, confirming that this is a clinical finding of disease activity<sup>13</sup>.

Wang et al. evaluated biomarkers to recognize disease activity in 80 patients with vitiligo and 40 controls over 18 years old. Unlike our results, the CXCL9 and CXCL10 serum expression was significantly elevated in patients with progressive and stable vitiligo as compared to controls. The group with active disease presented higher values of the markers than the group with stable vitiligo. The CXCL10 marker decreased significantly in the active disease group after treatment with injectable corticotherapy<sup>9</sup>.

Another study was carried out by Yang et al., who analyzed 160 adults with generalized vitiligo and 40 controls and found an association between the values of CXCL10, CXCL5 and CXCL8 markers in active and stable patients. Similar to our study, they found no significant change in relation to CXCL9<sup>14</sup>. Two other studies, with a limited number of patients (15 and 19 subjects, respectively), also did not demonstrate a significant association between CXCL10 and disease activity<sup>11,16,17</sup>.

The results found in the analysis of our sample did not allow to predict the disease activity based on CXCL9 and CXCL10 serum markers. Because it is a cross-sectional study, the present study did not interfere with the treatment of patients. While studies with larger samples in humans cited above included only patients with generalized vitiligo and extensive BSA, our study also included individuals with focal and segmental vitiligo, which could influence the results, since the mechanisms of action of these forms of the disease are not identical. However, evaluating the markers in all forms of vitiligo and body extension

approximates the study of clinical reality. In addition, there are likely to be variations in individuals of different ethnic groups, and our population sample is restricted to southern Brazil.

In the present study, CXCL9 and CXCL10 increased in adult patients with active disease when compared with children with active disease. This is new data in the literature, since (up to now) there has been no comparison of serological markers between children and adults.

## 7.5 CONCLUSION

In our population, this study showed that is not possible to recognize vitiligo activity disease using CXCL9 and CXCL10 serum markers. At the same time, our study is a pioneer in evaluating serological markers for vitiligo in children and in finding significant differences between the adult and paediatric populations with active disease. Therefore, further studies on the subject should be encouraged, including the paediatric population and preferably evaluating adults and children separately. Furthermore, a larger sample size may show the tendency to predict the disease activity based on CXCL9 and CXCL10 serum markers or more strongly refute this association.

## 7.6 REFERENCES

1. TAIEB, A. and PICARDO, M.. Clinical practice. Vitiligo. **New England Journal of Medicine**. 360, 2, (160–169), (2009).
2. ALIKHAN, A.; FELSTEN, L. M.; DALY, M. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 65, 3, (473–491), (2011).

3. STEINER, D; BEDIN, V.; MORAES, M. B. et al. Vitiligo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. 79, 3, (335–351), (2004).
4. GILL, L. ZABO, A.; IDEDEH, P. et al. Comorbid autoimmune diseases in patients with vitiligo: a cross-sectional study. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 74, 2, (295–302), (2016).
5. PICARDO, M. DELL'ANNA, M. L.; EZZEDINE, K. Vitiligo, **Nature Reviews Disease Primers**. 1, (15011), (2015).
6. DWIVEDI, M.; LADDHA, N. C.; ARORA, P. Decreased regulatory T-cells and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio correlate with disease onset and progression in patients with generalized vitiligo. **Pigment Cell & Melanoma Research**. 26, 4, (586–591), (2013).
7. KALINSKI, A. W.; RENÉ, M. J. G. J; TIGGER, W. B. J. et al. Immunopolarization of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells to type-1-like is associated with melanocyte loss in human vitiligo. **Laboratory Investigation**. 83, (683–695), (2003).
8. RASHIGHI, M. HARRIS, J. E. Vitiligo pathogenesis and emerging treatments. **Dermatologic Clinics**. 35, 2, (257–265), (2017).
9. WANG, X. X.; WANG, Q. Q. WANG, J. Q. et al. Increased expression of CXCR3 and its ligands in patients with vitiligo and CXCL10 as a potential clinical marker for vitiligo. **British Journal of Dermatology**, 174, 6, (1318–1326), (2016).
10. RASHIGHI, M.; AGARWAL, P.; RICHMOND, T. H. et al. CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo. **Science Translational Medicine**. 6, 223, (223ra23), (2014).
11. SPEECKAERT, R.; PEECKAERT, M. Biomarkers of disease activity in vitiligo: a systematic review. **Autoimmunity Reviews**. 16, 9, (937–945), (2017).
12. WONG, P. C. H.; LEUNG, Y.; LI, E. K. et al. Measuring disease activity in psoriatic arthritis. **International Journal of Rheumatology**. 2012, (839425), (2012).
13. RODRIGUES, M.; EZZEDINE, K.; HAMZAVI, A. G. New discoveries in the pathogenesis and classification of vitiligo. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 77, 1, (1–13), (2017).

14. SPEECKAERT, R.; GEEL, N. V. Vitiligo: an update on pathophysiology and treatment options. **American Journal of Clinical Dermatology**. 18, 6, (733–744), (2017).

15. YANG, L.; YANG, S.; LEI, J. et al. Role of chemokines and the corresponding receptors in vitiligo: a pilot study. **Journal of Dermatology**, 45, 1, (31–38), (2018).

16. STRASSNER, J. RASHIGHI, J. P.; REFAT, M. A. et al. Suction blistering the lesional skin of vitiligo patients reveals useful biomarkers of disease activity. **Journal of the American Academy of Dermatology**. 76, 5, (847–855.e5), (2017).

17. MAOQUIA, A.; SORMANI, L.; YOUSSEF, M. Differential expression of CXCL9, CXCL10, and IFN- $\gamma$  in vitiligo and alopecia areata patients. **Pigment Cell & Melanoma Research**, 30, 2, (259–261), (2017).

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

CXCL9 e CXCL 10 são quimiocinas específicas, que apresentam plausibilidade científica, porém ainda sem a adequada evidência para incorporação na prática clínica. A busca por compreender os marcadores séricos de atividade de vitiligo, submetendo à metodologia e a experimentos científicos, é fundamental para a construção do conhecimento e incorporação como ferramentas terapêuticas.

Nosso estudo demonstrou não haver diferença significativa nos níveis das citocinas CXCL9 e CXCL10 entre os diferentes grupos avaliados. Foi demonstrado que na população com doença ativa, ambos os marcadores estão significativamente mais elevados em adultos quando comparados com crianças. Além disso, observou-se que o marcador CXCL10 está mais elevado em adultos com diagnóstico recente de vitiligo, quando comparado aos adultos com doença crônica. Por fim, pacientes com vitiligo ativo apresentaram maior SCA e maior ocorrência de fenômeno de Koebner, confirmando ser um achado clínico de atividade de doença.

Apesar de dois estudos prévios realizados na China e Índia mostrarem associação positiva entre atividade de vitiligo e marcadores CXCL10, na população brasileira este é o primeiro estudo realizado até então. É sabido que estudos com resultados positivos são mais bem aceitos dentro da comunidade científica, criando o conhecido viés de publicação. É importante que associações negativas ou neutras sejam também elevadas ao mesmo patamar, afim de minimizar os fatores de confusão na posterior interpretação clínica.

Este é um estudo pioneiro em avaliar marcadores sorológicos para vitiligo em crianças e em encontrar diferenças significativas entre a população adulta e pediátrica no grupo de doença em atividade. Apesar de não termos encontrado associação na população estudada, acreditamos que elucidar marcadores que predigam atividade do vitiligo seja uma ferramenta promissora no cuidado com os pacientes com vitiligo, permitindo uma intervenção mais precoce e efetiva, minimizando assim os danos e a extensão da despigmentação. Por se tratar de um tema relevante, mais estudos avaliando marcadores sorológicos em pacientes com vitiligo devem ser encorajados, preferencialmente avaliando a população adulta e pediátrica separadamente.

## **9 ANEXOS**

## ANEXO I: PROTOCOLO DE ATENDIMENTO

Nome do paciente:

Prontuário:

Fone:

Data de nascimento:

Data:

**1 Idade (anos completos):**

**2 Sexo** ( ) 1. Feminino 2. Masculino

**3. História família de vitiligo:** ( ) 1. Presente 2. Ausente 3. Não sabe

**4. Qual parentesco?** ( ) 1. Pais/filhos 2. Irmãos/avós 3. Tios/ sobrinhos 4. Primos 5.

Não se aplica

**5. Duração do vitiligo:** ( ) anos

**6. Relaciona início com algum evento estressor?** ( ) 1. Sim 2. Não

**7. Tratamento atual do vitiligo:** ( ) 1. Sim 2. Não

**8. Qual ?** ( ) 1. Corticóide tópico 2. Inibidores da calcineurina 3. UVB narrow band

4. PUVA 5. Excimer 6. PUVA sol 7. Não se aplica

**9. Atividade da doença nos últimos 6 meses:** ( ) 1. Estável 2. Progressiva 3. Diminuindo

**10. Classificação do vitiligo:** ( ) 1. Localizado focal 2. Localizado segmentar

3. Localizado de mucosas 4. Generalizado

**11. Fotótipo:**

**12. Fenômeno de Koebner:** ( ) 1. Sim 2. Não

**13. Lesões tricômicas:** ( ) 1. Sim 2. Não

**14. Vitiligo inflamatório:** ( ) 1. Sim 2. Não

**15. Lesões em confete:** ( ) 1. Sim 2. Não

**16. Área cabeça pescoço:**

**17. Área tronco:**

**18. Área braços:**

**19: Área pernas:**

**20. Área mãos e pés:**

**21: Área total:**

**AVALIAÇÃO LABORATORIAL:**

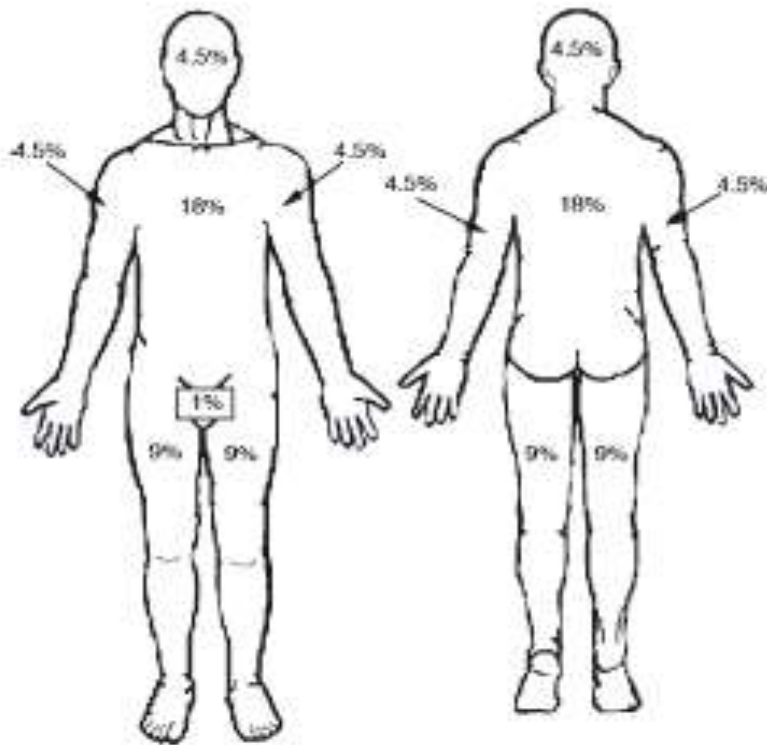
CXCL 9:

CXCL 10:

**Exame físico:**

The patient's palm including digits averages 1% of BSA (body surface area)

**Please draw the patches and mark the evaluated patches on figure; if any, indicate halo nevi**





**ANEXO II - TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – CASOS****Nº do projeto GPPG ou CAAE \_\_\_\_\_**

Título do Projeto: Avaliação de Marcadores Sorológicos de Atividade de Vitiligo em Pacientes Adultos e Pediátricos

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar se duas proteínas estão presentes no sangue de pessoas com vitiligo. Essas duas proteínas estão relacionadas com o sistema de defesa do corpo (CXCL9 e CXCL10). Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: realizar exame físico de todo o corpo (utilizando apenas roupas de baixo), responder algumas perguntas em forma de questionário sobre como está a evolução do vitiligo. Caso necessário, nós consultaremos seu prontuário para confirmação dessas informações. Realizar uma coleta de sangue (4mL- equivalente a uma colher de chá) para análise das proteínas.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são mínimos, pois apenas requerem uma entrevista, exame físico e uma coleta de sangue. Algumas pessoas podem desenvolver pequenos hematomas (manchas roxas na pele) no local da punção.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são indiretos a você, mas a sua participação irá colaborar para o aumento do conhecimento sobre os marcadores no sangue relacionados ao vitiligo, podendo futuramente contribuir para a descoberta de novas formas de tratamento da doença e assim, beneficiar futuros pacientes.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. Após a realização das análises previstas neste projeto, as amostras serão armazenadas. Este material, além de ser utilizado neste estudo, poderá ser utilizado em outros estudos futuros do nosso grupo. Neste caso, um novo projeto de pesquisa será submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa e você será chamado para reconsentir com o uso do material.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Tania Ferreira Cestari ou com a pesquisadora Rochele Machado Durgante pelo telefone 3359 8571, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Com relação às amostras biológicas armazenadas

- ( ) Autorizo o armazenamento do material biológico para pesquisas futuras.  
 ( ) Não autorizo o armazenamento do material biológico para pesquisas futuras.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

\_\_\_\_\_  
 Nome do participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

\_\_\_\_\_  
 Nome do pesquisador que aplicou o Termo

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

Local e Data: \_\_\_\_\_

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – CONTROLES  
Nº do projeto GPPG ou CAAE \_\_\_\_\_

Título do Projeto: Avaliação de Marcadores Sorológicos de Atividade de Vitiligo em Pacientes Adultos e Pediátricos

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar se duas proteínas estão presentes no sangue de pessoas com vitiligo. Essas duas proteínas estão relacionadas com o sistema de defesa do corpo (CXCL9 e CXCL10). Você está sendo convidado porque não possui a doença e suas informações serão utilizadas para comparação com as pessoas que têm vitiligo. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: realizar exame físico de todo o corpo (utilizando apenas roupas de baixo). Realizar uma coleta de sangue (4mL- equivalente a uma colher de chá) para análise das proteínas.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são mínimos, pois apenas requerem uma entrevista, exame físico e uma coleta de sangue. Algumas pessoas podem desenvolver pequenos hematomas (manchas roxas na pele) no local da punção.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são indiretos a você, mas a sua participação irá colaborar para o aumento do conhecimento sobre os marcadores no sangue relacionados ao vitiligo, podendo futuramente contribuir para a descoberta de novas formas de tratamento da doença e assim, beneficiar futuros pacientes.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. Após a realização das análises previstas neste projeto, as amostras serão armazenadas. Este material, além de ser utilizado neste estudo, poderá ser utilizado em outros estudos futuros do nosso grupo. Neste caso, um novo projeto de pesquisa será submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa e você será chamado para reconsentir com o uso do material.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Tania Ferreira Cestari ou com a pesquisadora Rochele Machado Durgante pelo telefone 3359 8571 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Com relação às amostras biológicas armazenadas

- ( ) Autorizo o armazenamento do material biológico para pesquisas futuras.  
 ( ) Não autorizo o armazenamento do material biológico para pesquisas futuras.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

\_\_\_\_\_  
 Nome do participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

\_\_\_\_\_  
 Nome do pesquisador que aplicou o Termo

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

Local e Data: \_\_\_\_\_

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – RESPONSÁVEIS  
Nº do projeto GPPG ou CAAE \_\_\_\_\_

Título do Projeto: Avaliação de Marcadores Sorológicos de Atividade de Vitiligo em Pacientes Adultos e Pediátricos

A criança ou adolescente pela qual você é responsável está sendo convidada a participar de uma pesquisa cujo objetivo é avaliar se, nos pacientes que tem vitiligo, há uma substância no sangue em valores elevados. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você concordar com a participação na pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes: realizar exame físico, responder algumas perguntas em forma de questionário e se for necessário, iremos consultar seu prontuário futuramente para coleta de informações.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são mínimos, pois apenas requerem uma entrevista rápida, exame físico e uma coleta de sangue. A coleta de sangue é feita como uma coleta usual. Entretanto algumas pessoas podem apresentar tonturas e pequeno desconforto no momento da picada da agulha e podem desenvolver pequenos hematomas (manchas roxas na pele) no local da punção.

Ao participar da pesquisa, a criança ou o adolescente pelo qual você é responsável terá benefícios indiretos, pois irá colaborar para o aumento do conhecimento sobre os marcadores no sangue relacionados ao vitiligo, podendo futuramente contribuir para a descoberta de novas formas de tratamento da doença e assim, beneficiar futuros pacientes.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e não haverá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá haver ressarcimento por despesas decorrentes da participação cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, o participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, os nomes não aparecerão na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Tânia Ferreira Cestari ou com a pesquisadora Rochele Machado Durgante pelo telefone (051) 3359 8571 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e seu responsável e outra para os pesquisadores.

_____	_____
Nome do participante da pesquisa:	Assinatura
_____	_____
Nome do responsável	Assinatura
_____	_____
Nome do pesquisador que aplicou o Termo	Assinatura
Local e Data: _____	

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – BANCO DE DADOS****Aspectos Demográficos, Clínicos, Perfil Sorológico e Qualidade de Vida em Pacientes Adultos e Pediátricos com Vitiligo**

Vitiligo é uma doença de pele que causa manchas brancas secundárias à perda dos melanócitos (células que dão cor à pele). A doença ocorre em 0,1 a 8% da população mundial.

O estudo do vitiligo é importante para avaliar suas causas, para melhorar a orientação quanto ao tratamento específico e para acompanhar a evolução dos pacientes.

Você/ seu filho está sendo convidado a participar de um estudo sobre vitiligo.

A sua participação será através de uma entrevista e uma avaliação física, estimada em até uma hora de duração, e uma coleta de sangue em jejum no dia seguinte (se você não possuir os exames necessários no seu prontuário).

**Benefícios:** Ao participar deste estudo você será avaliado quanto a diversos fatores relacionados ao vitiligo. Sua participação poderá contribuir na investigação da causa da doença, bem como de outros aspectos de diagnóstico e acompanhamento dos pacientes.

**Riscos:** Os riscos e desconfortos associados ao estudo são mínimos, pois apenas requerem entrevista, exame físico e uma coleta de sangue. A coleta de sangue é feita como uma coleta usual. Entretanto algumas pessoas podem apresentar tonturas e pequeno desconforto no momento da picada da agulha e podem desenvolver pequenos hematomas (manchas roxas na pele) no local da punção.

**Uso de fotografias:** durante o estudo, poderão ser tiradas fotografias, para fins de registro das lesões da pele. Estas imagens servirão para ilustrar os resultados do estudo em publicações ou apresentações científicas. O pesquisador poderá publicar, circular ou apresentar as fotografias em meios com finalidades científicas, sozinhas ou acompanhadas de materiais escritos, impressos, gráficos ou áudio, para médicos, enfermeiras, farmacêuticos e profissionais relacionados, preservando integralmente os dados pessoais de identificação e, em caso de fotografias da face, descaracterizando a identidade.

( ) Autorizo ao pesquisador, o direito de usar as fotografias, nas condições mencionadas

( ) Não autorizo o uso das fotografias.

**Armazenamento de material biológico:** Este termo de consentimento possibilitará a coleta e armazenamento adequados de uma amostra do seu sangue para posterior utilização em pesquisas sobre vitiligo. O armazenamento da amostra não implicará em qualquer custo adicional, nem interferirá na realização normal dos procedimentos. O período de armazenamento é indeterminado, mas seu consentimento pode ser retirado a qualquer momento se você mudar de ideia e, neste caso, a amostra será descartada. Em nenhuma hipótese haverá

quebra de sigilo quanto aos dados pessoais do paciente ou à liberação da amostra identificada para terceiros sem sua autorização.

1. Futuros estudos sobre a doença:

Caso sua resposta seja sim, a amostra permanece identificada e você será avisado sobre qualquer informação obtida.

( ) Sim, autorizo ao pesquisador ( ) Não autorizo.

2. Outras pesquisas que não envolvem a doença que você está investigando e são realizadas sem identificação da amostra, sem nenhum benefício direto para você ou seus familiares, mas com potencial benefício para o progresso médico e científico:

( ) Sim, autorizo ao pesquisador ( ) Não autorizo.

3. Envio para outros centros para eventual realização de exames com potencial benefício direto para você ou seus familiares (amostra identificada):

( ) Sim, autorizo ao pesquisador ( ) Não autorizo

4. Envio para outros centros de pesquisa em que não há benefício direto para você ou seus familiares (amostra enviada sem identificação):

( ) Sim, autorizo ao pesquisador ( ) Não autorizo.

Se você decidir não participar ou desistir de participar em qualquer etapa do estudo, não haverá prejuízo no seu atendimento. Sua participação é voluntária.

A assinatura, neste consentimento informado, dará autorização ao pesquisador do estudo para utilizar os dados obtidos quando se fizerem necessários e somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

Eu, \_\_\_\_\_ Assino e identifico este documento, declaro ter recebido explicação clara e completa sobre a pesquisa acima mencionada. Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

Nome do responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do paciente: \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Dr<sup>a</sup> Tania Cestari (pesquisadora responsável)

Dr<sup>a</sup> Juliana Catucci Boza (CRM 31807)

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Rua: Ramiro Barcelos, 2350 – Zona 13

Fone para contato: (51) 3359 8570 e (51) 96521887

Porto Alegre,..... de... .. de 201.....



ANEXO III TABELA DE DADOS BRUTOS

A	Sx	Id	Dur	Ft	Ativ.	Clas.	SCA	R/P	CXCL10	CXCL9	Trat	Koebner	Atividade
A1	1	17	4	3	1	2	1%	0	148	84,5	2	0	Ativos
A2	1	11	8	3	1	2	11%	0	317,5	76,25	2	1	Ativos
A3	0	12	6	2	1	2	8%	0	394,75	238,25	0	1	Ativos
A4	1	13	3	4	1	2	5%	0	65	57,25	1	0	Ativos
A5	0	10	3	4	1	2	8%	0	40,5	76,25	2	1	Ativos
A6	0	15	7	4	1	2	24%	1	65	28	2	1	Ativos
A7	1	12	5	3	1	0	3%	1	62	35,75	2	0	Ativos
A8	1	42	28	4	1	2	17%	1	88,5	49,5	3	1	Ativos
A9	1	61	2	2	1	2	18%	1	191,5	70,25	3	0	Ativos
A10	0	6	4	4	1	2	14%	1	51,5	65	2	1	Ativos
A11	0	24	10	4	1	2	13%	1	67,5	22,75	0	1	Ativos
A12	1	8	2	3	1	2	44%	1	83,75	56,5	2	1	Ativos
A13	1	49	7	3	1	2	16%	1	103,75	308,5	0	0	Ativos
A14	1	17	9	4	1	2	9%	1	23	40,25	0	1	Ativos
A15	0	7	2	2	1	2	9%	1	309	140,75	0	1	Ativos
A16	0	11	5	2	1	2	27%	1	69	30,5	0	1	Ativos
A17	1	52	2	3	1	2	28%	1	188	117,75	0	1	Ativos
A18	1	57	15	2	1	2	11%	0	1730	375	0	1	Ativos
A19	1	17	4	3	1	2	1%	0	153	78,25	2	0	Ativos
A20	1	53	5	3	1	1	1%	0	239	143,25	2	0	Ativos
A21	1	68	2	4	1	2	21%	1	365,75	1057	3	1	Ativos
A22	1	11	8	2	1	2	70%	1	159	137,5	0	0	Ativos
A23	1	25	18	2	1	2	10,50%	0	141,75	51,75	2	1	Ativos
A24	1	22	7	3	1	2	4%	0	689,5	140,75	0	1	Ativos
A25	1	53	5	2	1	0	3,50%	0	146,75	105	2	0	Ativos
A26	1	52	20	3	1	2	10,50%	0	75,5	180,5	1	1	Ativos
A27	1	49	1	6	1	2	9%	0	2168,5	844,5	0	0	Ativos
A28	0	42	14	3	1	2	8%	0	164,75	470,5	0	0	Ativos

Amostra	Sexo	Idade	Duração	Fotótipo	Atividade	Classificação	SCA	R/P	CXCL10	CXCL9	Tratamento	Koebner	Atividade
A29	1	14	8	3	3	2	9%	1	121	156,5	3	0	Estabilidade
A30	0	10	5	2	2	2	4%	1	112,25	88	2	0	Estabilidade
A31	0	9	1	4	2	2	6%	0	93,5	47,5	2	1	Estabilidade
A32	0	9	1,5	4	3	2	5%	0	296	222,25	3	0	Estabilidade
A33	1	3	2	5	2	2	4%	0	317,75	389,25	0	0	Estabilidade
A34	1	51	5	2	2	2	6%	0	254	91	0	1	Estabilidade
A35	0	4	3	2	3	0	1%	0	331	39,5	2	1	Estabilidade
A36	0	66	18	4	2	2	14,50%	0	131	94,25	0	0	Estabilidade
A37	1	4	3	5	2	2	4%	0	204	135	0	0	Estabilidade
A38	1	41	35	3	2	2	20%	0	55,75	48,25	0	1	Estabilidade
A39	0	8	2	2	2	1	2%	0	204,5	112,75	3	0	Estabilidade
A40	1	15	10	2	3	2	3%	0	88,25	36,25	2	0	Estabilidade
A41	1	16	10	2	3	2	1%	0	200,75	89,5	2	1	Estabilidade
A42	1	15	1,5	2	3	2	2%	0	158,25	65,75	2	0	Estabilidade
A43	1	7	4	2	3	2	6%	0	196,5	115	1	0	Estabilidade
A44	0	9	0	2	3	2	5%	0	71,5	56	1	0	Estabilidade
A45	1	49	10	4	2	2	11,50%	0	248,75	159,25	0	1	Estabilidade
A46	0	56	6	4	2	0	3%	0	179,75	48,5	0	0	Estabilidade
A47	1	46	3	3	2	1	3,50%	0	132,75	76,25	6	0	Estabilidade
A48	1	41	35	4	2	2	14%	0	106	46,25	0	1	Estabilidade
A49	0	27	24	2	2	0	1,50%	0	194,75	399,5	0	0	Estabilidade
A50	1	68	10	3	2	2	21,50%	0	198,75	225,5	4	0	Estabilidade
A51	0	55	2	3	2	2	6%	0	383,25	245,5	0	0	Estabilidade
A52	1	52	3	4	2	2	2%	0	163	74,25	2	1	Estabilidade
A53	1	30	6	4	2	1	2%	0	260,75	90,5	1	0	Estabilidade
A54	1	18	10	3	2	1	2%	0	204	68,5	0	0	Estabilidade
A55	1	73	30	3	2	2	90%	0	93	224	0	0	Estabilidade
A56	0	22	2	2	2	2	4%	0	63,5	33,5	0	0	Estabilidade

Amostra	Sexo	Idade	Duração	Fotótipo	Atividade	Classificação	SCA	R/P	CXCL10	CXCL9	Tratamento	Koebner	Atividade
A59	0	10		5	0			1	81	83,75			Controle
A60	0	13		4	0			1	22,5	18,5			Controle
A61	1	5		3	0			1	1100	1721,5			Controle
A62	0	11		4	0			1	284	250,75			Controle
A63	0	13		3	0			1	130,25	52			Controle
A64	1	71		3	0			0	29,25	65,75			Controle
A65	0	25		2	0			0	209	50			Controle
A66	1	48		4	0			0	335,5	189,75			Controle
A67	1	38		4	0			0	368	121			Controle
A68	1	64		3	0			0	109	145			Controle
A69	1	63		2	0			0	30	27			Controle
A70	0	43		3	0			0	83,5	64,25			Controle
A71	1	55		1	0			0	367,5	186,25			Controle
A72	1	37		3	0			0	251	37,25			Controle
A73	1	39		2	0			0	236,25	4,5			Controle
A74	1	55		2	0			0	164,25	138,5			Controle
A75	0	18		2	0			0	289	101,5			Controle
A76	1	45		2	0			0	45,25	33,5			Controle
A77	0	14		4	0			1	58,75	39			Controle
A78	0	46		2	0			0	256,75	82,25			Controle
A79	0	58		2	0			0	226,75	203,25			Controle
A80	1	10		3	0			0	409,25	86,5			Controle
A81	1	61		4	0			0	275,25	113,75			Controle
A82	1	60		2	0			0	179,75	825,5			Controle
A83	1	36		3	0			0	357,5	133			Controle
A84	0	18		3	0			0	1775,75	720,75			Controle
A85	1	60		4	0			0	131	521,25			Controle
A86	1	17		3	0			1	108,5	115			Controle

## LEGENDA DE DADOS BRUTOS

### SEXO:

- 0 – Masculino
- 1 – Feminino

### DURAÇÃO DO VITILIGO: descrita em anos

### FOTÓTIPO:

- 1. I
- 2. II
- 3. III
- 4. IV
- 5. V

### ATIVIDADE:

- 0 – Controles
- 1- Vitiligo ativo
- 2- Vitiligo estável
- 3- Vitiligo em regressão.

### CLASSIFICAÇÃO VITILIGO:

- 0 – Local focal
- 1 – Local segmentar
- 2 – Local generalizado

### R / P

- 0 - Retrospectivos
- 1- Prospectivos

### TRATAMENTO:

- 0 - Não
- 1 - Corticóide tópico
- 2- Inibidor de calcineurina
- 3- UVB-NB
- 4 - PUVA, 5 – Excimer
- 6 – PUVA + Sol,
- 7 – Corticóide Sistêmico
- 8 – Corticóide tópico + UVB
- 9. Inibidor de calcineurina + UVB

### KOEBNER:

- Presença de fenômeno de Koebner:
- 0 - Não
  - 1 – Sim