

# RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,  
o texto completo desta tese será  
disponibilizado somente a partir  
de 01/09/2023



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
Câmpus de São José do Rio Preto

Mab Pereira Corrêa

**Papel das Galectinas-1, -3 e -9 em doenças inflamatórias crônicas  
da pele**

São José do Rio Preto  
2021

Mab Pereira Corrêa

**Papel das Galectinas-1, -3 e -9 em doenças inflamatórias crônicas  
da pele**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES/ FAPESP (2017/26872-5 – Auxílio Pesquisa)

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Damas Gil

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Sonia Maria Oliani

São José do Rio Preto  
2021

C824p      Corrêa, Mab Pereira  
              O papel das galectinas-1, -3 e -9 em doenças inflamatórias crônicas da pele / Mab Pereira Corrêa. -- São José do Rio Preto, 2021  
              99 f. : il.

              Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto  
              Orientadora: Cristiane Damas Gil  
              Coorientadora: Sonia Maria Oliani

              1. Dermatite Atópica. 2. Psoríase. 3. Queratinócitos. 4. Transcriptoma. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Mab Pereira Corrêa

**Papel das Galectinas-1, -3 e -9 em doenças inflamatórias crônicas  
da pele**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES/ FAPESP (2017/26872-5 – Auxílio Pesquisa)

**Comissão Examinadora**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Damas Gil  
UNIFESP – São Paulo, SP  
Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Samira Yarak  
UNIFESP – São Paulo, SP

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Girol  
UNIFIPA – Catanduva, SP

Prof. Dr. Sebastião Roberto Taboga  
UNESP – Câmpus São José do Rio Preto, SP

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thais Santana Gastardelo Bizotto  
FAMERP – São José do Rio Preto, SP

São José do Rio Preto  
01 de setembro de 2021

*À minha querida avó, Silvia Camilo Corrêa, por ser meu exemplo de superação, uma mulher à frente de seu tempo que me inspira a não desistir.*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, pela energia e não permitir esmorecer diante das adversidades. À Nossa Senhora Aparecida pelas bênçãos concedidas.*

*Aos meus pais, Rosângela e Carlos Augusto, aos meus avós, Ruy e Silvia e minha irmãzinha Yasmin. Por serem minha base, ensinando e formando meu caráter.*

*À minha família que muito amo, especialmente aos meus tios Silvio, Fernando e Cesar e às minhas tias-avós Maria Irene e Valdeci. Obrigada pelos momentos maravilhosos, pelo apoio e crédito às minhas conquistas e por, acima de tudo, estarmos sempre unidos.*

*Ao Fabiano Brandini Molas e aos seus pais, Antônia e Denerval, por todo o apoio, compreensão e fé na minha capacidade.*

*À minha orientadora, Professora Dra. Cristiane Damas Gil, a quem tenho imensa admiração. Sempre agradeço pela oportunidade, por todas as orientações e me mostrar como é ser uma pessoa decidida, ética e corajosa.*

*À minha coorientadora, Professora Dra. Sonia Maria Oliani, pela oportunidade de aprendizado e experiência.*

*Ao Programa de Pós-graduação em Biociências do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE/UNESP), por possibilitar a realização desse trabalho.*

*Aos professores e colegas do IBILCE/UNESP, pelas disciplinas e conhecimento.*

*Aos professores membros da banca de defesa, pela disponibilidade e auxílio em tornar esse trabalho melhor.*

*A todos os profissionais da seção de Pós-Graduação e entre outros setores da UNESP. Agradeço pelo empenho e dedicação.*

*Aos colegas do Laboratório de Imunomorfologia do IBILCE/UNESP, Juliana Gusson, Julliene Guaraldi, Mayk dos Santos, Rafaela Molás, Thais Bravo e, em especial a Janesly Prates, por compartilharem seus conhecimentos, risadas e cafés da tarde.*

*À Dra. Jusciéle Moreli, por me ensinar a questionar minhas descobertas e a ser uma melhor pesquisadora.*

*À Dra Solange Corrêa Garcia Pires D'Ávila e ao Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP) pelo auxílio, disposição e colaboração com este trabalho.*

*À Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/ EPM), em especial ao Departamento de Morfologia e Genética, pela permissão do uso de suas dependências durante a realização desse trabalho.*

*A todos os colegas do Laboratório de Histologia da UNIFESP, especialmente à Gisela Sasso, Izabella Lice, Joyce Covre, Leticia Sena e Vivian de Carvalho. Também agradeço à técnica Katia de Vasconcelos, Paulo Franco e Patrícia dos Reis, equipe que muito estimo e é exemplo de alegria e entusiasmo. Em especial, agradeço à Rebeca Correia por toda ajuda, conversas, puxões de orelha e amizade.*

*À minha orientadora do doutorado sanduíche, Dra. Karin Greco, por ser uma pessoa admirável. Agradeço imensamente por ter me orientado, por ser alguém de grande estima e inspiração.*

*Ao Griffin Institute e a University College London, no Reino Unido, por permitir do uso de seus laboratórios e dependências, onde pude aprender mais e desenvolver outras habilidades.*

*Aos colegas que tive oportunidade de conhecer durante o doutorado sanduíche, especialmente à Ferdinand Lali, Kajal Sachdev, Prasad Sawadkar e Priya Matharu, por me receberem no dia a dia de trabalho. Em especial, quero agradecer a Marina de Paula, amiga com a qual compartilhei trabalho, aprendi e ri muito. Obrigada por “segurar o meu poodle”.*

*O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço.*

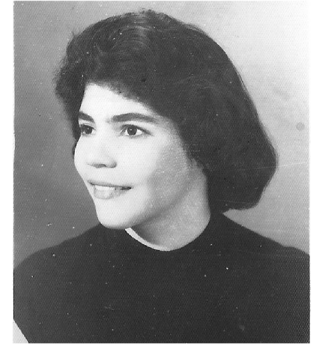
*Também agradeço à CAPES pela bolsa de doutorado sanduíche através do programa CAPES/PrInt.*

*Agradeço à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2017/26872-5 – Auxílio Pesquisa), pelo apoio financeiro aos projetos desenvolvidos no grupo de pesquisa.*

*A tantos outros amigos que de alguma maneira colaboraram com o desenvolvimento e elaboração desse trabalho.*

*Por fim, agradeço a todos aqueles que me fizeram entender como eu quero ser, por serem difíceis ou por terem minha admiração. Isso me motiva a buscar as qualidades que aprecio, ter paciência e doar o conhecimento que adquiri.*

*Mãe: Sílvia Camilo Corrêa*



FONTE: Arquivo pessoal da autora

*Minha mãe, nossa mãe*

*Podia ser Maria, mas...  
Batizada Selva, gosto do padre no altar,  
Foi ser a nove de dez  
Da infância na roça à juventude em São Paulo  
Uma trajetória impar  
Trabalhou na capital e viveu a revolução nos costumes  
Augusta a 120 por hora  
Fã de Elvis  
O primeiro salário virou livro  
Muitos anos mais tarde, na aposentadoria,  
O primeiro benefício também viraria livro  
Voltou para sua cidade na barranca do Grande  
Encontrou aquele rapaz que cultivava um visual  
James Dean, ou seria o Sinatra dos primeiros anos?  
Casou, foi ser do lar, contudo,  
Uma cabeça moderna, educação sem castigos  
Atenção e cuidados redobrados com a prole  
Precisou de ajuda do terceiro para o quarto filho  
Uma doméstica ou duas passaram desfazendo conceitos  
Mas insistiram nos métodos mais modernos de educar  
Incentivou as artes, leu para eles  
Contos de fadas, folclore brasileiro,  
As Histórias da Bíblia, História do Mundo para Crianças  
Educou-os para o mundo, vasto mundo  
Cuidou, cuidou, cuidou e cuidou  
Vestiu de babados e bonés de Huguinho, Zezinho e Luizinho  
Levou à escola, não insistiu em religião, os fez pensadores  
Também cuidou de si, fez cursos  
Culinária, saúde, pintura, tricô, crochê...  
Surpreendida por dificuldades financeiras, permaneceu  
Surpreendida pelo mal de chagas, permaneceu firme  
Surpreendida pelo primeiro neto, permaneceu avó  
Surpreendida pela terceira neta, permaneceu mãe  
"Mãe, mamãe, mamãe, o avental todo sujo de ovo..."  
Que avental?  
Nos últimos tempos deixou os afazeres da cozinha  
E prossegue sendo fiel ao modo anos 60 de ver a vida  
Permanece Sílvia!*

*“[...] São as perguntas que não sabemos responder que mais nos ensinam. Elas nos ensinam a pensar. Se você dá uma resposta a um homem, tudo o que ele ganha é um fato qualquer. Mas, se você lhe der uma pergunta, ele procurará suas próprias respostas. [...] Assim, quando ele encontrar as respostas – continuei -, elas lhe serão preciosas. Quanto mais difícil a pergunta, com mais empenho procuramos a resposta. Quanto mais a procuramos, mais aprendemos.”*

Patrick Rothfuss (2011, p 545)

## RESUMO

As respostas imunes que envolvem as inflamações crônicas da pele, tais como psoríase e dermatite, são complexas e evidenciam o desafio no diagnóstico clínico, sendo fundamental o estudo de biomarcadores para melhor definição dessas doenças o que contribuirá para uma terapia personalizada. Nesse contexto, destacamos as galectinas (Gal), proteínas caracterizadas por uma sequência conservada de 135 aminoácidos no domínio reconhecedor de carboidrato (CRD) responsável pela afinidade à ligação com açúcares  $\beta$ -galactosídeos. Nas inflamações da pele, o papel das galectinas-1, -3 e -9 tem sido mostrado nas dermatites e psoríase, podendo atuar com papel pró ou anti-inflamatório e, com isso, avaliamos o padrão de expressão das Gal-1, -3 e -9 e sua relação com as células inflamatórias na psoríase (Ps) e dermatite atópica (DA). Também, avaliamos *in vitro* o efeito da administração das galectinas recombinantes na produção de citocinas pelos queratinócitos, linhagem HaCaT, estimulados por TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  ou IL-17 ou IL-4. Nos estudos, foram utilizadas biópsias de pele humana diagnosticadas para Ps ou DA (n = 10/9, respectivamente) e de camundongos Balb/c em modelo de DA induzida pela ovalbumina de galinha. Para o grupo controle, foram utilizadas biópsias de margens de pele clinicamente normais removidas junto com tumores de pele (n=10). A DA foi caracterizada por níveis aumentados de Gal-9 na pele de camundongo e humana, especialmente na epiderme, com influxo acentuado de eosinófilos e mastócitos positivos para Gal-9 em comparação com o grupo de controle. *In vitro*, a Gal-9 mostrou efeito imunomodulador nos queratinócitos, diminuindo a liberação de IL-6 em queratinócitos estimulados por IL-4 ou aumentando os níveis de IL-6 e RANTES quando estimuladas por IL-17 ou TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ , respectivamente. Sob o estímulo com IL-17, o tratamento com Gal-9 também alterou a taxa de proliferação das células. Em relação às Gal-1 e Gal-3, diferentes padrões de expressão das proteínas e RNAm foram mostrados na epiderme de pacientes com DA e Ps. A Gal-3 apresentou intensa imunorreatividade na epiderme de pacientes com DA, e redução na intensidade em amostras de Ps, enquanto o padrão oposto foi detectado para Gal-1 (mais fortemente expresso na Ps). As peles com DA e Ps mostraram células inflamatórias imunopositivas para Gal-1 e Gal-3. *In vitro*, a adição de Gal-3 anulou a liberação de IL-6 e RANTES em queratinócitos estimulados por IL-4 e IL-17A, enquanto a Gal-1 reduziu a liberação de

IL-6, IL-8 e RANTES em células estimuladas por IL-17A. Sob condições de estimulação por IL-4, a Gal-1 reduziu as taxas de migração dos queratinócitos, e sob estimulação com IL-17A ambas as galectinas aumentaram a migração celular em comparação com células não tratadas. No geral, níveis aumentados de Gal-9 na pele com DA contribuem para o controle da resposta inflamatória e do processo proliferativo dos queratinócitos, sugerindo esta lectina como um alvo terapêutico relevante para a DA e sendo um biomarcador para sua severidade. Além disso, as Gal-1 e Gal-3 representam biomarcadores potenciais para diferenciar as biópsias de pele com Ps e DA e, seus efeitos imunorreguladores e de migração nos queratinócitos, as tornam ferramentas terapêuticas interessantes

**Palavras-chave:** Dermatite Atópica. Psoríase. Queratinócitos. Transcriptoma.

## ABSTRACT

Immune responses that involve chronic skin inflammation, such as psoriasis and dermatitis, are complex and demonstrate the challenge in clinical diagnosis, and the study of biomarkers is essential to better define these pathologies, which will contribute to personalized therapy. In this context, we highlight galectins (Gal), proteins characterized by a conserved sequence of 135 amino acids in the carbohydrate recognizing domain (CRD) responsible for binding affinity with  $\beta$ -galactoside sugars. In skin inflammation, the role of Gal-1, -3, and -9 has been shown in dermatitis and psoriasis, and may act as a pro or anti-inflammatory role and, thus we evaluated the expression pattern of galectins-1, -3, and -9 and its relationship with inflammatory cells in psoriasis (Ps) and atopic dermatitis (AD). Also, evaluated *in vitro* the effect of administration of recombinant galectins on the production of cytokines by keratinocytes, HaCaT cell line, stimulated by TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  or IL-17 or IL-4. In our studies, human skin biopsies diagnosed for Ps or AD (n = 10/9, respectively) and a Balb/c mouse in a chicken ovalbumin-induced AD model. For the control group, biopsies of clinically normal skin margins removed along with skin tumors (n=10) were used. AD was characterized by increased levels of Gal-9 in mouse and human skin, especially in the epidermis, and with a marked influx of Gal-9 positive eosinophils and mast cells compared to the control group. Our findings are different expression patterns for Gal-1 and Gal-3 proteins and mRNA in the epidermis of patients with AD and Ps. Gal-3 showed intense immunoreactivity in the epidermis of patients with AD, and reduced intensity in Ps samples, while the opposite pattern was detected for Gal-1 (more strongly expressed in Ps). Skins with AD and Ps showed immunopositivity for inflammatory cells to Gal-1 and Gal-3. *In vitro*, Gal-9 showed an immunomodulatory effect on keratinocytes, decreasing IL-6 release in IL-4-stimulated keratinocytes or increasing IL-6 and RANTES levels when stimulated by IL-17 or TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ , respectively. Under IL-17 stimulation, Gal-9 treatment also altered the rate of cell proliferation. Regarding Gal-1 and Gal-3, different expression patterns of proteins and mRNA were shown in the epidermis of patients with AD and Ps. Gal-3 showed intense immunoreactivity in the epidermis of patients with AD, and reduced intensity in Ps samples, while the opposite pattern was detected for Gal-1 (strongly expressed in Ps). Skins with AD and Ps showed immunopositivity for inflammatory cells to Gal-1 and Gal-3. *In vitro*, Gal-3 addition canceled the release of IL-6 and RANTES in IL-4 and IL-

17A-stimulated keratinocytes, while Gal-1 reduced the release of IL-6, IL-8, and RANTES in IL17A-stimulated cells. Under IL-4 stimulation conditions, Gal-1 reduced keratinocyte migration rates, and under IL-17A stimulation both galectins increased cell migration compared to untreated cells. In general, increased levels of Gal-9 in AD skin contribute to control the inflammatory response and proliferative process of keratinocytes, suggesting this lectin is a relevant therapeutic target for AD and being a biomarker for its severity. In addition, Gal-1 and Gal-3 represent as potential biomarkers to differentiate Ps and AD skin biopsies, and their immunoregulatory and migrating effects on keratinocytes make them interesting therapeutic tools.

**Keywords:** Atopic Dermatitis. Psoriasis. Keratinocytes. Transcriptome.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Camada espinhosa da epiderme.	22
Figura 2 – Estrutura da epiderme e suas células residentes	23
Figura 3 – Região papilar e reticular da derme humana	24
Figura 4 – Representação da estrutura da derme e suas células residentes	25
Figura 5 – Ativação do sistema imune na pele	30
Figura 6 – A patogênese da DA	34
Figura 7 – Características histológicas da DA e Ps	36
Figura 8 – Patogênese da Ps	38
Figura 9 – Estrutura das Galectinas	41

### Capítulo 1 – Versão aceita do artigo: *The Role of Galectin-9 as Mediator of Atopic Dermatitis: Effect on Keratinocytes*

Figura 1.1 – <i>Experimental model of Atopic Dermatitis</i>	47
Figura 1.2 – <i>Inflammatory response in the skin</i>	50
Figura 1.3 – <i>Expression of Gal-9 in the mouse skin</i>	51
Figura 1.4 – <i>Expression of Gal-9 in the human skin</i>	52
Figura 1.5 – <i>Effect of Gal-9 on cytokine release by keratinocytes</i>	53
Figura 1.6 – <i>Effect of Gal-9 on HaCaT proliferation rate</i>	53
Figura 1.7 – <i>Scratch assay: assessment of HaCaT migration rate after cytokine stimulation and Gal-9 treatment</i>	54

### Capítulo 2 – Manuscrito: *Galectin-1 and Galectin-3 in Atopic Dermatitis and Psoriasis: Potential Biomarkers and Immunoregulatory Roles*

Figura 2.1 – <i>Histopathological findings</i>	78
Figura 2.2 – <i>Gal-1 and Gal-3 protein expression in the skin</i>	79
Figura 2.3 – <i>Heatmaps based on the Z-scores of LGALS1 and LGALS3 transcriptional levels</i>	80
Figura 2.4 – <i>Immunomodulatory effect of Gal-1 and Gal-3 on human keratinocytes</i>	81
Figura 2.5 – <i>Scratch assay: assessment of HaCaT migration rate after cytokine stimulation and Gal-1 or Gal-3 treatments</i>	82

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Ab</b>	Anticorpo
<b>ADSC-CM</b>	Células tronco derivadas de adipócitos
<b>AKT</b>	Proteína quinase
<b>AMPs</b>	Peptídeos antimicrobianos
<b>APCs</b>	Células apresentadoras de antígenos
<b>Balf</b>	Fluido do lavado broncoalveolar
<b>BSA</b>	Albumina sérica bovina
<b>CCL</b>	Ligante de quimiocina CC
<b>cDNA</b>	DNA complementar
<b>CRD</b>	Domínio reconhecedor de carboidrato
<b>CXCL</b>	Ligante de quimiocina CXC
<b>C/EBP</b>	Ligante CCAAT/potenciador
<b>DA</b>	Dermatite Atópica
<b>DAB</b>	Diaminobenzidina
<b>DAPI</b>	4',6'-diamino-2-fenil-indol
<b>DC</b>	Células dendríticas
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>ECL</b>	Quimiluminescência aprimorada (Substrato base-luminol)
<b>ECP</b>	Proteína catiônica eosinofílica
<b>EDN</b>	Neurotoxina derivada do eosinófilos
<b>EPO</b>	Peroxidase de eosinófilos
<b>ERK</b>	Quinase regulada por sinal extracelular
<b>FBS</b>	Soro fetal bovino
<b>FITC</b>	Isotiocianato de fluoresceína

<b>GM-CSF</b>	Fator estimulador das colônias de granulócitos e macrófagos
<b>HaCaT</b>	Linhagem de queratinócitos humanos imortalizados
<b>H&amp;E</b>	Hematoxilina-Eosina
<b>FcεR</b>	Receptor Fc para IgE
<b>Gal</b>	Galectina
<b>IFN</b>	Interferon
<b>IL</b>	Interleucina
<b>IgE</b>	Imunoglobulina E
<b>i.p</b>	intraperitoneal
<b>JNK</b>	Quinase c-Jun N-terminal
<b>K</b>	Citoqueratina
<b>KGF</b>	Fator de crescimento de queratinócitos
<b>LC</b>	Célula de Langerhans
<b>MBP</b>	Proteína básica principal
<b>MEC</b>	Matriz extracelular
<b>MHC</b>	Complexo Principal de Histocompatibilidade
<b>mRNA</b>	RNA mensageiro
<b>MTT</b>	(3- (4,5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-Brometo de Difeniltetrazólio)
<b>NFκB</b>	Fator nuclear kappa B
<b>OVA</b>	Ovalbumina de galinha
<b>PAF</b>	Fator de ativação de plaquetas
<b>PASI</b>	Grau de severidade do processo psoriático
<b>PBS</b>	Tampão fosfato-salino
<b>PRR</b>	Receptores de reconhecimento de padrões
<b>Ps</b>	Psoríase
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico

<b>SALT</b>	Tecido linfoide associado a pele
<b>STAT</b>	Transdutor de sinal e ativador da transcrição
<b>TBS</b>	Tampão Tris-salino
<b>TGF<math>\beta</math></b>	Fator de crescimento transformador beta
<b>TLR</b>	Receptores do tipo <i>Toll</i>
<b>TNF</b>	Fator de necrose tumoral
<b>TSLP</b>	Linfopoietina estromal tímica
<b>UV</b>	Luz Ultravioleta
<b>Vs</b>	versus
<b>VEGF</b>	Fator de crescimento endotelial vascular

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>µg</b>	Micrograma
<b>mg / mL</b>	Miligramama por mililitro
<b>µl</b>	Microlitro
<b>h</b>	Horas
<b>mg / kg</b>	Miligramama por quilograma
<b>µm</b>	Micrometro
<b>%</b>	Porcentagem
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>g / L</b>	Gramama por litro
<b>mM</b>	Milimolar
<b>mL</b>	Mililitro
<b>ng / mL</b>	Nanogramama por mililitro
<b>pg / mL</b>	Picogramama por mililitro
<b>OD</b>	Densidade ótica

## SUMÁRIO

	<b>PREFÁCIO</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	20
<b>1.1</b>	<b>A Pele</b>	20
1.1.1	Estrutura e morfologia	20
1.1.2	Imunologia da Pele	26
<b>1.2</b>	<b>Dermatite Atópica</b>	31
<b>1.3</b>	<b>Psoríase</b>	35
<b>1.4</b>	<b>Dermatite Atópica x Psoríase</b>	39
<b>1.5</b>	<b>Galectinas</b>	40
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	44
<b>2.1</b>	<b>Geral</b>	44
<b>2.2</b>	<b>Específicos</b>	44
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO 1 – Versão aceita do artigo: <i>The role of galectin-9 as mediator of atopic dermatitis: effect on keratinocytes</i></b>	45
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO 2 – Manuscrito: <i>Galectin-1 and galectin-3 in atopic dermatitis and psoriasis: potential biomarkers and immunoregulatory roles</i></b>	61
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	83
	<b>REFERÊNCIAS</b>	84
	<b>APÊNDICE A – <i>Galectin-3: role in ocular allergy and potential as a predictive biomarker</i></b>	91
	<b>APÊNDICE B – <i>Lack of endogenous Annexin A1 increases mast cell activation and exacerbates experimental atopic dermatitis</i></b>	92
	<b>APÊNDICE C – <i>Bellis perennis extract mitigates UVA-induced keratinocyte damage: photoprotective and immunomodulatory effects</i></b>	93
	<b>ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA FAMERP</b>	94
	<b>ANEXO B – COMITÊ DE ÉTICA UNESP</b>	98

## PREFÁCIO

O desenvolvimento da tese de doutorado resultou em dois artigos intitulados “*The Role of Galectin-9 as Mediator of Atopic Dermatitis: Effect on Keratinocytes*” e “*Galectin-1 and Galectin-3 in Atopic Dermatitis and Psoriasis: Potential Biomarkers and Immunoregulatory Roles*”. O primeiro artigo foi publicado na *Cells*, com fator de impacto 6,600, da editora MDPI, enquanto o segundo está em fase de análise por revista indexada internacional.

Desta maneira, a tese está apresentada com uma introdução contendo revisão da literatura sobre os aspectos morfológicos, fisiológicos e imunológicos da pele humana. Além disso, são apresentados tópicos sobre a dermatite atópica, psoríase e galectinas. Em sequência, apresentamos o objetivo geral e específicos do trabalho. As ilustrações da tese foram feitas pela própria autora através do *software CorelDRAW 2020* e *Adobe Photoshop CS6*.

Os artigos estão incluídos em inglês seguindo as normas de formatação recomendada pelas revistas e, por último, as conclusões em português. Os demais artigos publicados como coautora durante o período de doutorado estão incluídos como apêndices.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A Pele

A pele é um órgão complexo do corpo humano, com importantes funções para manutenção da fisiologia, tendo uma área de aproximadamente 2 m<sup>2</sup> em adultos e correspondendo a aproximadamente 16% do peso corporal (Slominski *et al.*, 2015; Junqueira, 2018). Atua na prevenção da perda de fluidos, regula a temperatura corporal, transmite estímulos sensoriais como dor, toque e calor. Também age na proteção contra os raios ultravioletas (UV) do sol, síntese de vitamina D, e nas respostas imunológicas e inflamatórias, tendo um sistema imunológico altamente especializado, crucial para o reparo e defesa (Slominski *et al.*, 2015; Tsakovska *et al.*, 2017; Nguyen e Soulika, 2019). Na histologia é composta por 2 camadas, a epiderme de origem embrionária ectodérmica e a derme com origem mesodérmica (Tsakovska *et al.*, 2017). Geralmente, é classificada em dois tipos: pele espessa (epiderme com mais de 5 mm de espessura, recobre a palma das mãos e planta dos pés) e pele delgada (Junqueira, 2018). Ainda, abriga anexos como folículos pilosos, unhas, glândulas sebáceas e sudoríparas (Slominski *et al.*, 2015).

### 1.1.1 Estrutura e morfologia

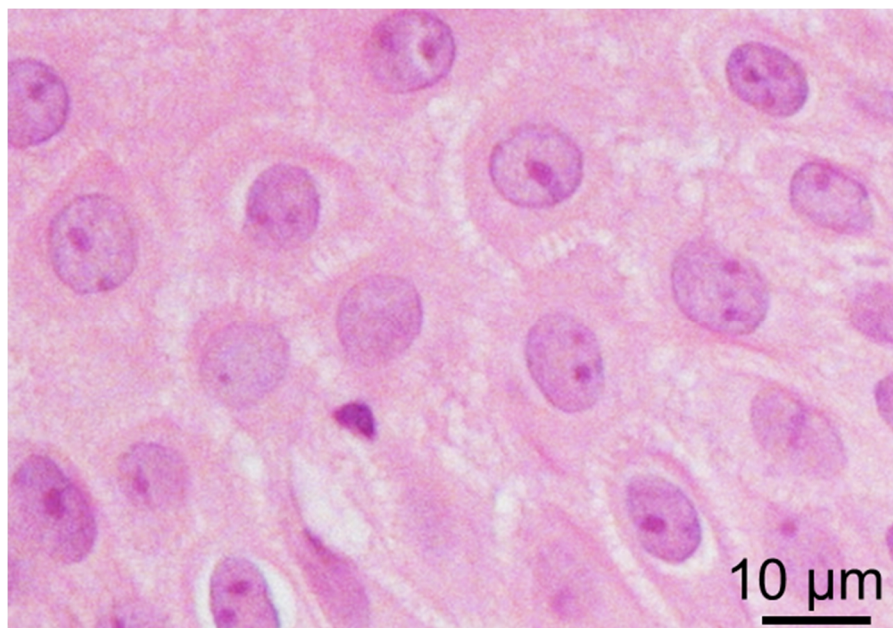
A epiderme é a parte mais superficial da pele, com células justapostas e epitélio estratificado que formam uma barreira composta majoritariamente por camadas de queratinócitos unidos que sofrem diferenciações, migrando da camada basal até a camada mais externa (Tsakovska *et al.*, 2017). Os queratinócitos são compostos por moléculas do citoesqueleto, como os filamentos intermediários (permitem a sua estrutura tridimensional), filamentos de actina (permitem a sua motilidade) e os microtúbulos (fazem parte do transporte intracelular). Os filamentos intermediários mais importantes da epiderme são as citoqueratinas (K) e cada uma delas possui uma expressão distinta no epitélio, sendo as K5/K14 tipicamente expressas na camada basal proliferativa, enquanto K1/K10 nas camadas de diferenciação suprabasais. Particularmente, as K16 e K17 são conhecidas por serem hiperproliferativas, sendo encontradas em doenças como a psoríase (Rivitti, 2018; Donetti *et al.*, 2020; Kim e Lim, 2021).

A camada mais profunda da epiderme é constituída por queratinócitos basais e melanócitos, sendo adjacente a *membrana basal*, que é uma fina camada de matriz extracelular (MEC) que sustenta a porção basal, e é composta majoritariamente de colágeno do tipo IV e outras moléculas como laminina, capaz de proporcionar local de adesão para os hemidesmossomos (Baroni *et al.*, 2012; Tsakovska *et al.*, 2017; Alberts, 2018). Os queratinócitos da camada basal têm formato mais cúbico e núcleo grande. Nessa camada há equilíbrio entre a divisão mitótica e a diferenciação celular, algumas células em divisão migram para a camada acima ou vão somar a população de células tronco, responsáveis pela renovação celular (Rivitti, 2018; Chieosilapatham *et al.*, 2021). A renovação é um evento que pode levar até 28 dias, dependendo da idade/local da pele (Baroni *et al.*, 2012). O balanço da renovação do epitélio é importante para a manutenção da homeostase e em doenças inflamatórias, como a psoríase e a dermatite atópica (Baroni *et al.*, 2012; Rivitti, 2018; Chieosilapatham *et al.*, 2021).

A porção acima da camada basal é chamada camada espinhosa, composta por células poligonais com núcleo de posição central, que vão se achatando em direção a superfície. Nesses queratinócitos, o citoplasma possui expansões com feixes de filamentos de queratina que se unem as outras células por meio dos *desmossomos*, conferindo a célula o aspecto espinhoso (Baroni *et al.*, 2012; Rivitti, 2018; Donetti *et al.*, 2020).

A camada espinhosa é seguida pela camada granulosa, formada por células achatadas com grande quantidade de grânulos de querato-hialina. Esses grânulos possuem uma proteína rica em cistina e histidina fosforilada, responsável pela basofilia apresentada (Junqueira, 2018). Outros componentes dos grânulos são a profilagrina (origina a filagrina) e loricrina. Uma vez formada a filagrina, há união com a queratina, formando microfilamentos (Chieosilapatham *et al.*, 2021). A sua mutação pode ser associada a doenças como a dermatite atópica. Nessa camada os grânulos lamelares, responsáveis pela produção de glicolipídios, são depositados na superfície das células, auxiliando na formação da barreira epitelial, agindo contra a desidratação e penetração de substâncias na pele (Losquadro, 2017; Junqueira, 2018). A figura 1 mostra um corte histológico de pele humana, corada com Hematoxilina-Eosina (H&E), evidenciando a camada espinhosa e suas junções com aspecto “espinhoso”.

Figura 1 – Camada espinhosa da epiderme

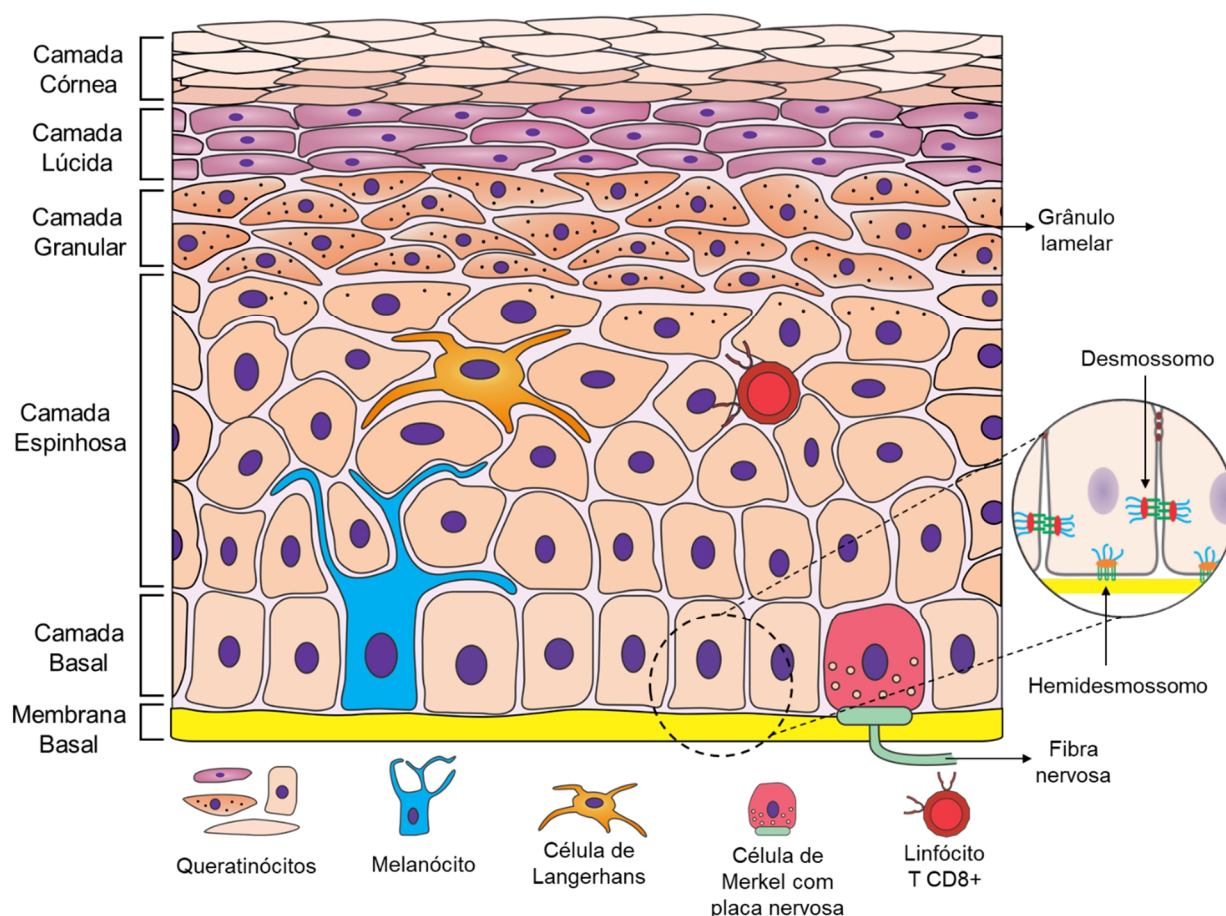


FONTE: A autora, 2021.

A camada lucida é melhor observada na pele grossa e tem uma camada muito fina de células achatadas, eosinofílicas, com núcleos e organelas digeridas por enzimas, desaparecendo. Por fim, a epiderme possui a camada córnea, composta de células anucleadas, mortas, achatadas e com citoplasma repleto de queratina. Nessa fase, os queratinócitos descamam e são responsáveis pela barreira da pele, impedindo a invasão por diferentes agentes (Losquadro, 2017; Junqueira, 2018).

Além dos queratinócitos, a epiderme é composta por células imunes residentes, como as células de Langerhans que atuam como apresentadoras de antígenos e interagem com linfócitos T CD8+ de memória (Kabashima *et al.*, 2019). Também observamos a presença dos melanócitos, responsáveis pela pigmentação, adjacentes a camada basal e das células de Merkel, envolvidas com as sensações táteis (Baroni *et al.*, 2012; Nguyen e Soulika, 2019). As células de Merkel são células semelhantes a queratinócitos, conectadas por desmossomos e apoiadas na membrana basal. São ligadas a uma estrutura em disco, uma placa nervosa, onde as fibras nervosas aferentes que atravessam a membrana basal se conectam (condução do impulso nervoso para o sistema nervoso central) (Junqueira, 2018). A figura 2 mostra uma ilustração da estrutura em camadas da epiderme e as células residentes mais comuns, além de evidenciar os desmossomos e hemidesmossomos, responsáveis pela união dos queratinócitos.

Figura 2 – Estrutura da epiderme e suas células residentes



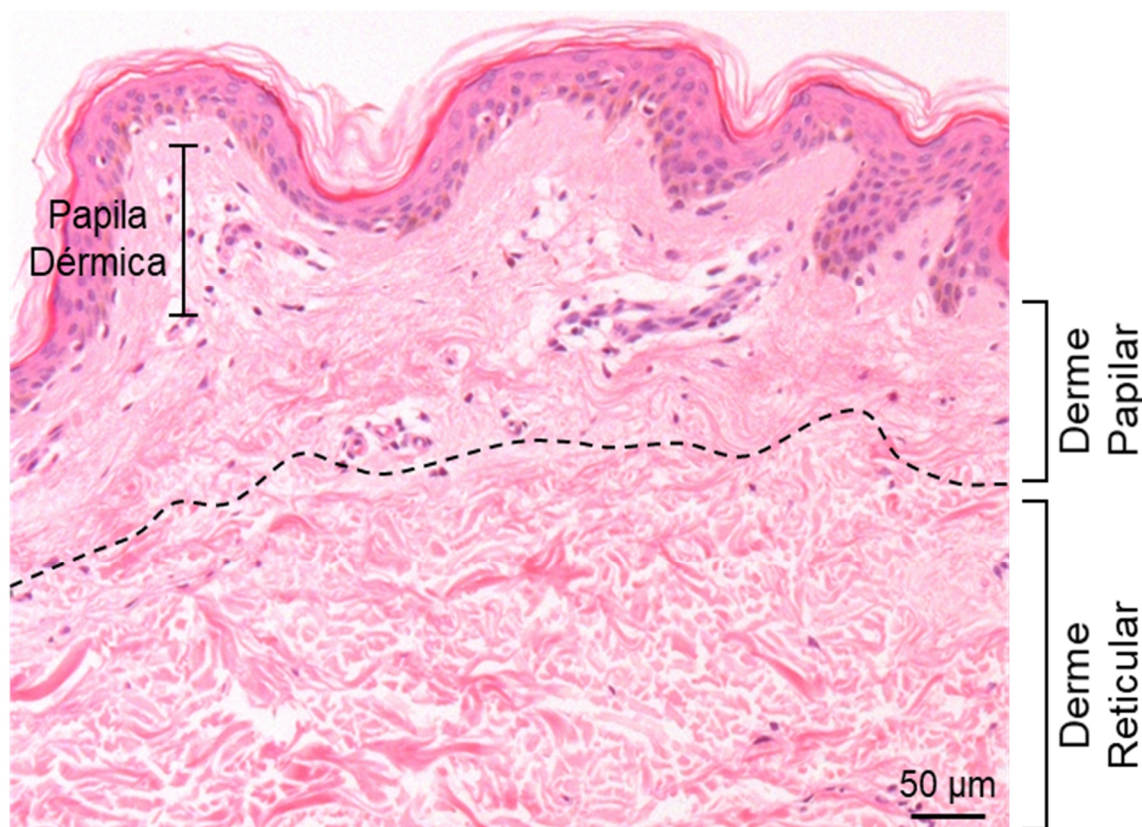
FONTE: A autora, 2021.

Abaixo da membrana basal há a derme, com espessura variável de acordo com a região do organismo. A derme confere a pele a resistência mecânica. É ricamente vascularizada, sendo responsável pela nutrição do tecido adjacente já que a epiderme é uma região avascular. Os fibroblastos são as células mais presentes na derme e são responsáveis pela produção da MEC, fibras colágenas e elásticas, conferindo a composição da estrutura do tecido. As fibras colágenas constituem até 95% da derme, e são organizadas por diferentes fibras de colágeno do tipo I e III (Syed *et al.*, 2011; Rippa *et al.*, 2019).

A derme é composta pelas regiões papilar e reticular. A camada papilar é adjacente a membrana basal (mais superficial) e rica em tecido conjuntivo frouxo, povoado por fibroblastos, fibras colágenas e fibras elásticas. Além disso, forma as papilas dérmicas, reentrâncias entre epiderme-derme. Na porção reticular há mais fibras colágenas e fibras do sistema elástico, sendo constituído por um tecido conjuntivo denso e por uma menor proporção de fibroblastos. As fibras elásticas na

derme papilar são mais espessas. No processo do envelhecimento, a derme papilar diminui de volume, sendo substituída pela reticular (Rippa *et al.*, 2019). A figura 3 mostra um corte histológico de pele fina humana, corada com H&E, onde é possível observar a delimitação entre a região papilar e reticular.

Figura 3 – Região papilar e reticular da derme humana



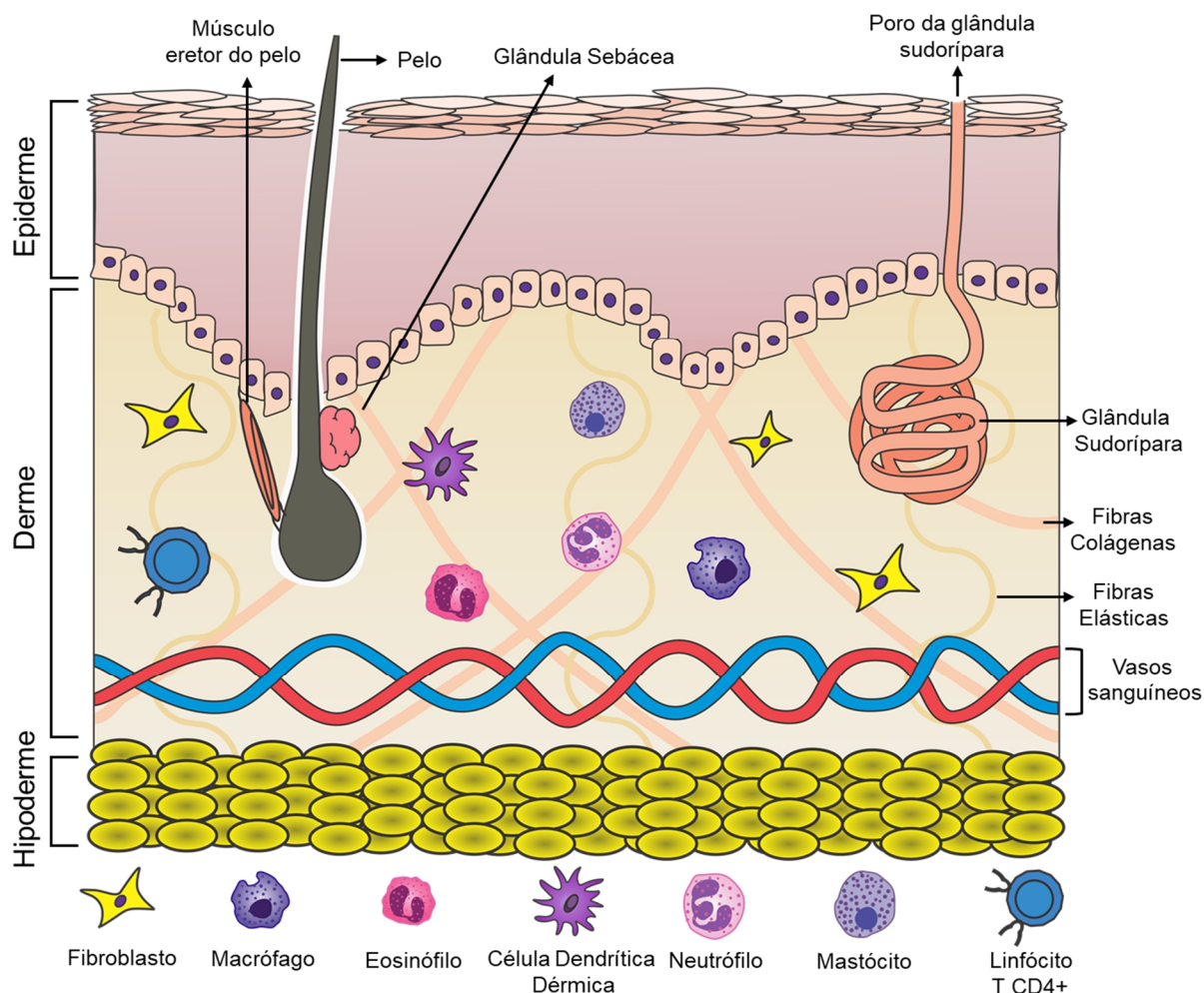
FONTE: A autora, 2021.

A derme também abriga estruturas anexas da pele, como as glândulas sudoríparas, os folículos pilosebáceos e o músculo eretor do pelo, também se encontram nos vasos sanguíneos, vasos linfáticos e estruturas nervosas (Tsakovska *et al.*, 2017; Junqueira, 2018; Rivitti, 2018). Na derme, existem células imunes inatas como as células dendríticas dérmicas, macrófagos, mastócitos, eosinófilos, linfócitos T CD4+, e um pequeno número de neutrófilos (Kabashima *et al.*, 2019).

A hipoderme está localizada abaixo da derme e não faz parte da pele. É um tecido subcutâneo formado por tecido adiposo e conjuntivo frouxo, unindo fracamente a derme e os órgãos subjacentes. Contém inúmeras células adiposas dependendo da região e da nutrição, constituindo o panículo adiposo (Junqueira, 2018). Tem espessura variável e, em geral, pode ser sede para porções secretoras das glândula,

de pelos, vasos sanguíneos e nervos. Funcionalmente, além de depósito nutritivo de reserva, participa do isolamento térmico e na proteção mecânica às pressões e traumas externos (Rivitti, 2018). A figura 4 resume a estrutura da derme, sua composição, células residentes e algumas estruturas anexas.

Figura 4 – Representação da estrutura da derme e suas células residentes



FONTE: A autora, 2021.

Além das funções de barreira, a pele possui funções endócrinas. A mais proeminente é a síntese de vitamina D. Os queratinócitos expressam receptores para vitamina D e são capazes de converter o 7-desidrocolesterol em sua forma ativa, a 1,25 dihidroxivitamina D com o auxílio da luz UV do sol. Além disso, junto com seu tecido adiposo, também pode ser classificada como um tecido esteroidegênico, pois expressa a enzima CYP11A1 (citocromo P450<sub>sc</sub>) necessária para o início da síntese de esteroides (Slominski *et al.*, 2015). Na pele, os andrógenos circulantes dehidroepiandrosterona e androstenediona são convertidos por diferentes vias em

testosterona ou androstenediona e, posteriormente, pelo andrógeno 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona em regiões periféricas (Zouboulis, 2009).

Também estão presentes na pele os receptores nervosos sensoriais dos corpúsculos de Meissner (toque), corpúsculos de Pacini (pressão), corpúsculos de Ruffini (mecanorreceptores), terminais nervosos livres que também penetram na epiderme. A aparência geral, o turgor e outras qualidades da pele fornecem informações sobre a saúde geral do organismo (Slominski *et al.*, 2015).

### 1.1.2 Imunologia da Pele

Por ser um órgão mais exposto ao meio externo, a pele representa a primeira barreira de defesa do corpo. As células imunes da pele enfrentam grandes desafios e caso suas respostas sejam inadequadas, podem ocorrer exacerbação da resposta inflamatória e gerar doenças crônicas. No sistema imune, os linfócitos gerados circulam pelo sangue e viajam para órgãos linfoides, como linfonodos e o baço, fazendo a apresentação de antígenos e produzindo resposta imune direcionada (Kabashima *et al.*, 2019; Nguyen and Soulika, 2019).

Os queratinócitos, apesar de não serem células imunes, podem recrutar e ativar células imunes que produzem citocinas, afetam a proliferação celular e podem gerar uma rede inflamatória. Os queratinócitos podem secretar uma infinidade de citocinas, como as interleucinas (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, linfopietina estromal tímica (TSLP), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ), regulando a resposta inflamatória cutânea, reepitelização e restabelecendo a função de barreira epitelial (Wong *et al.*, 2016; Dainichi *et al.*, 2018). Além disso, expressam na superfície receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) e receptores do tipo *toll* (TLR) que uma vez ativados, sinalizam o início de respostas inflamatórias (Gröne, 2002; Nedoszytko *et al.*, 2014; Nguyen e Soulika, 2019). Os queratinócitos expressam na sua superfície moléculas do complexo principal de histocompatibilidade II (MHC II) auxiliando no reconhecimento de antígenos e tendo potencial para serem células apresentadoras de antígenos (APC). As APCs são importantes para o reconhecimento de antígenos, processamento e ativação de células T (Nestle *et al.*, 2009; Abbas *et al.*, 2018). Os fibroblastos também possuem funções imunológicas estabelecidas, como a produção das citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e IL-25 em situações de traumas e estresse. Também são capazes de expressarem receptores PRRs que

auxiliam na indução e produção de citocinas (Nguyen e Soulika, 2019; Chieosilapatham *et al.*, 2021).

Os queratinócitos também são uma importante fonte de peptídeos antimicrobianos (AMPs), biomoléculas que participam da defesa da pele. São produzidos em locais onde há dano/ invasão de micro-organismos e induzem o rompimento das membranas bacterianas. Além dos queratinócitos, fibroblastos, células dendríticas e macrófagos são responsáveis por sua produção (Nestle *et al.*, 2009; Nguyen e Soulika, 2019). As famílias de AMP mais estudadas na pele humana são as  $\beta$ -defensinas e as catelicidinas (Nguyen e Soulika, 2019). A catelicidina mais estudada é a LL-37 e, juntamente com as  $\beta$ -defensinas, podem servir como alarminas para queratinócitos, induzindo proliferação e migração. Os AMPs no geral atuam como quimioatraentes para neutrófilos, macrófagos, células T de memória e células dendríticas imaturas (Tokumaru *et al.*, 2005; Nguyen e Soulika, 2019).

A pele também possui células imunes residentes que contribuem para a homeostase, secretando fatores de crescimento necessários para a sobrevivência dos queratinócitos e fibroblastos. Ademais, elas mantêm a função do tecido, fagocitando detritos, células apoptóticas e em condições inflamatórias. As células imunes residentes incluem as células dendríticas (DCs) como células de Langerhans (LC), células dendríticas dérmicas (DC dérmicas), macrófagos, mastócitos e eosinófilos. Os neutrófilos raramente são encontrados na pele saudável, porém povoam a pele em condições inflamatórias como na psoríase. As LCs e as DC dérmicas são células migratórias, viajam continuamente para os linfonodos da pele promovendo tolerância na homeostase ou para iniciam respostas imunes adaptativas (Nguyen and Soulika, 2019). Ambas são APCs e ativam os linfócitos T citotóxicos CD8+ e linfócitos T auxiliares CD4+. As APCs reconhecem e absorvem proteínas estranhas, transportando-as para os linfonodos, iniciando as respostas imunológicas e expansão de linfócitos para uma resposta imune direcionada (Abbas *et al.*, 2018; Kabashima *et al.*, 2019). Erros na interação entre queratinócitos residentes e células T podem ativar a inflamação e caminhos imunológicos responsáveis pelo início, progressão e persistência de doenças inflamatórias da pele como a dermatite atópica (Chieosilapatham *et al.*, 2021).

Os linfócitos T têm capacidade de reconhecer diferentes antígenos através dos seus receptores, servindo como repositório de memória imunológica, persistindo por décadas e fornecendo imunidade flexível. Na superfície da pele de um adulto existem

mais de 20 bilhões de linfócitos, número superior ao encontrado na circulação. Os linfócitos T virgens, ou *naives*, são encontrados na circulação e nos linfonodos, local onde encontram as DCs contendo antígenos. Uma vez apresentados aos antígenos, sofrem diferenciação e ganham funções efetoras, como a produção de citocinas e citotoxicidade. A maior parte dos linfócitos na pele são de memória (Clark, 2010).

Os linfócitos T formam populações com funções distintas, sendo as mais bem definidas as células T auxiliares (*helper*) e os linfócitos T citotóxicos. Os linfócitos T *helper* CD4<sup>+</sup> secretam citocinas que estimulam a resposta imune, recrutando leucócitos e estimulando que estes eliminem micro-organismos. Os linfócitos citotóxicos CD8<sup>+</sup> estão envolvidos na eliminação de células infectadas. Os diferentes linfócitos são distinguidos pela expressão de proteínas na superfície celular, chamadas por um número *CD* (cluster de diferenciação). As células T CD4<sup>+</sup> *naives* podem se diferenciar em subpopulações em resposta específica a um antígeno ou citocinas e promover uma resposta mais direcionada, sendo as subpopulações principais chamadas de Th1, Th2 e Th17 (Abbas *et al.*, 2018). Na epiderme a maioria dos linfócitos são T CD8<sup>+</sup> de memória, tendo uma proximidade com as LCs. Na derme, as células T estão preferencialmente agrupadas em torno das vênulas pós-capilares e logo abaixo da epiderme ou próximas às estruturas anexas (Nestle *et al.*, 2009).

Os macrófagos são encontrados na camada dérmica da pele. Depois da fase embrionária, a maior fonte de macrófagos dérmicos são os monócitos circulantes que amadurecem assim que adentram a pele, sendo responsáveis por remover detritos celulares. Evidências sugerem que os macrófagos desempenham um papel essencial na manutenção da homeostase e integridade da pele, auxiliando na cicatrização de feridas, no reparo de tecidos e na resposta ao estresse (Yanez *et al.*, 2017).

Os mastócitos são as células residentes mais presentes na derme. São rapidamente ativadas após estímulos, liberando uma variedade de mediadores pré-formados como histamina, proteases, triptase e citocinas como TNF- $\alpha$ . Depois de ativados, os mastócitos ainda podem secretar outros mediadores como prostaglandinas e leucotrienos (Wilgus e Wulff, 2014; Voss *et al.*, 2021). Os mastócitos expressam receptores de alta afinidade a IgE (Fc $\epsilon$ RI) que se ligam a anticorpos imunoglobulina E (IgE) solúveis produzidos por linfócitos B após a sensibilização a um alérgeno específico. Também, são o principal depósito de histamina, uma amina bioativa que conduz as reações alérgicas e anafilaxia. Uma importante função dos mastócitos é a comunicação com outras células, por exemplo os fibroblastos, que são

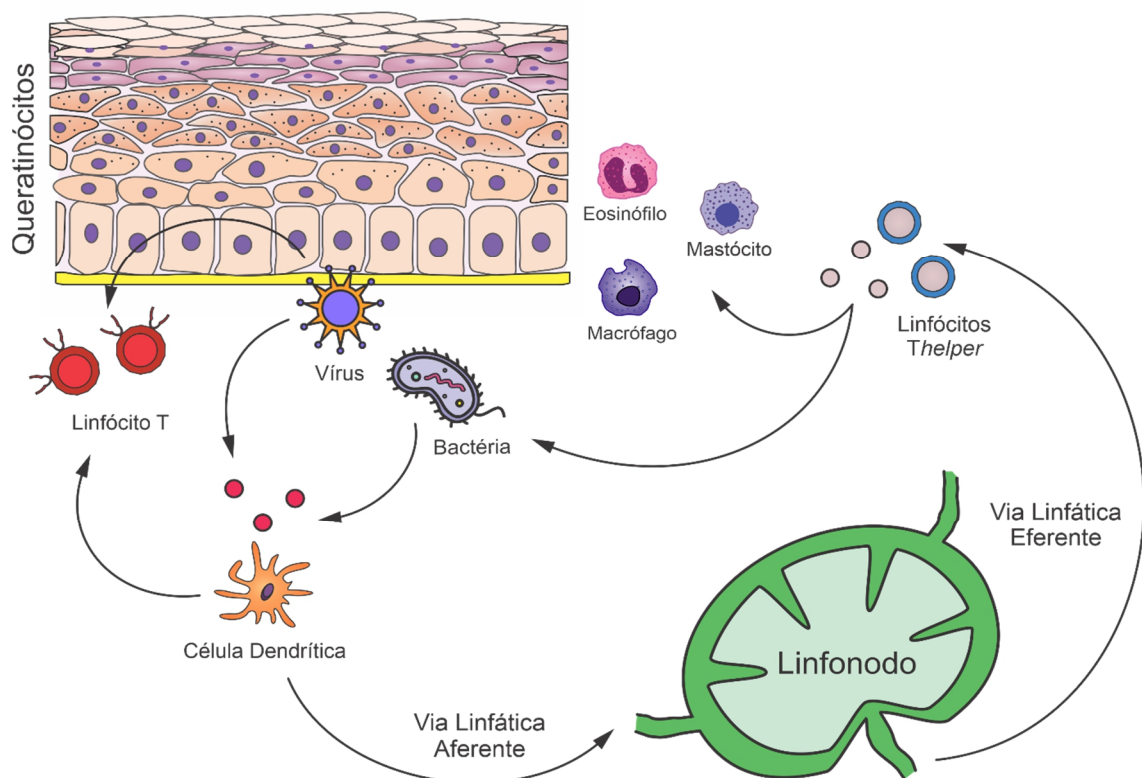
estimulados através de IL-4, IL-13 e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Voss *et al.*, 2021). Os mastócitos têm efeitos inibitórios e ativadores sobre os queratinócitos. Eles podem expressar fator de crescimento de queratinócitos (KGF) e fator de ativação de plaquetas (PAF) que ativam os queratinócitos. Já a liberação de histamina, heparina e outros mediadores, inibe a proliferação dos queratinócitos, controlando a regeneração epidérmica. A histamina é o principal mediador que leva a dilatação e permeabilização dos vasos sanguíneos, levando a edema local. As citocinas e quimiocinas como TNF, IL-6, CXCL1 e eotaxinas são responsáveis pelo recrutamento precoce de neutrófilos e, devido a permeabilidade, impactam no recrutamento de outras células imunes para o local da inflamação. Além dessas funções, os mastócitos podem afetar as DCs, através de TNF e histamina, promovendo a ativação e a migração dessas células. Os mastócitos têm sido implicados no aparecimento de dor neuropática, coceira e prurido, sendo este último alguns dos principais sintomas da psoríase (Voss *et al.*, 2021).

Os eosinófilos estão envolvidos na defesa do hospedeiro, expressando diferentes receptores, como TLR, quimiocinas, citocinas e outros. A estimulação desses receptores leva a liberação de seus grânulos que são repletos de proteínas potentes e tóxicas, como a proteína básica principal (MBP), peroxidase de eosinófilos (EPO), neurotoxina derivada dos eosinófilos (EDN) e proteína catiônica eosinofílica (ECP). Assim como os mastócitos, os eosinófilos produzem leucotrienos e prostaglandinas (Nguyen e Soulika, 2019). Os eosinófilos funcionam como células imunomoduladoras por serem associados a linfócitos Th2, respondendo à IL-5 e secretando IL-4, IL-9 e IL-13, afetando outros linfócitos Th2, células B e macrófagos. Além disso, podem atrair neutrófilos por liberarem GM-CSF e IL-8, além de terem relação com prurido por serem fonte de IL-31, importante em doenças como a dermatite atópica (Radonjic-Hoesli *et al.*, 2021).

A figura 5 mostra um resumo da resposta imune na pele. A invasão de micro-organismos (vírus ou bactérias), pode ativar diretamente os linfócitos T residentes da pele e/ou serem reconhecidos por DCs que farão o reconhecimento, processamento desses antígenos. Após o processamento, as DCs migram até os linfonodos, pela via aferente e apresentam o complexo peptídeo-MHC para as células T *naives*, causando sua diferenciação em linfócitos T específicos. Os linfócitos migram pela via eferente linfática até o local do processo inflamatório, proporcionando uma resposta

imunológica por secretar citocinas específicas e recrutam leucócitos para destruição dos agentes invasores e restabelecimento da estrutura da pele.

Figura 5 – Ativação do sistema imune na pele



FONTE: A Autora, 2021.

Na pele, o agrupamento de leucócitos representa uma estrutura local de apresentação de antígenos, denominada tecido linfoide associado à pele (SALT, do inglês *skin-associated lymphoid tissue*). Apesar de ser um termo conceitual, é uma estrutura real, aparecendo transitoriamente ao redor das vênulas pós-capilares em resposta a vários estímulos imunogênicos. O SALT é composto por diferentes células inflamatórias, como macrófagos, DCs dérmicas e células T. Após a resposta imune na pele, as DCs dérmicas exibem aglomerados ao redor das vênulas pós-capilares em poucas horas. Citocinas produzidas por queratinócitos ativam macrófagos ao redor das vênulas que auxiliam no recrutamento de DCs. Na psoríase, uma estrutura semelhante ao SALT foi relatada nas lesões de pele em humanos, mostrando que o SALT pode servir como uma estrutura importante no desenvolvimento de respostas imunológicas em outras doenças inflamatórias da pele (Kabashima et al., 2019; Egawa e Kabashima, 2020).

## 1.2 Dermatite Atópica

A dermatite atópica (DA), também conhecida como eczema, é uma doença que tem início na infância e normalmente tem auto resolução até a fase adulta. Entretanto, uma significativa parte dos casos persistem na fase adulta. As lesões em crianças são localizadas nas bochechas, pescoço, tronco e áreas extensoras, sendo lesões avermelhadas, com bordas indistintas entre a pele afetada e não afetada, provocando prurido intenso e descamação. As feridas são úmidas e podem ser colonizadas por diferentes micro-organismos (Guttman-Yassky e Krueger, 2017; Kapur *et al.*, 2018). Os pacientes adultos, especialmente que tiveram início ou recorrência na idade adulta, tem predileção por lesões na cabeça/pescoço, mãos e pés (Sacotte e Silverberg, 2018). As coceiras provocadas pelas lesões pioram no período noturno e independe da idade do paciente (Kapur *et al.*, 2018). As lesões causam estigma social aos pacientes, o que leva a perda da qualidade de vida, com profundo impacto psicossocial e econômico, podendo ocasionar distúrbios do sono e quadros depressivos (Coghi *et al.*, 2007; Castro *et al.*, 2021; Milanesi *et al.*, 2021).

As características histopatológicas das lesões na DA incluem: a espongiose (acúmulo de líquido, levando à formação de vesículas), acantose (espessamento da camada espinhosa), a hiperqueratose ortoqueratótica (aumento da camada córnea com queratinócitos anucleados) e o infiltrado celular de eosinófilos e mastócitos na derme (Guttman-Yassky *et al.*, 2011). Os efeitos prejudiciais da DA não se resumem apenas a pele, sendo alguns pacientes detentores de elevados níveis de IgE, que é associado a características alérgicas como a rinite, asma e alergias alimentares, chamado de marcha atópica. Além da relação com as alergias, os afetados podem sofrer obesidade, problemas cardiovasculares, diabetes mellitus tipo II, complicações oculares, osteoporose, fratura de osso e doenças articulares. Muitas dessas comorbidades estão relacionadas à gravidade da DA e ao controle insatisfatório da doença a longo prazo (Guttman-Yassky *et al.*, 2018; Sacotte e Silverberg, 2018).

A DA pode afetar mundialmente mais de 30% das crianças, tendo uma prevalência de 9,8% nos Estados Unidos, 15,3% no Reino Unido e a menor de 2,7% em Israel. Na América Latina, o Brasil tem a maior prevalência, sendo de 20,1% (Sacotte e Silverberg, 2018; Silverberg *et al.*, 2021). Estudos internacionais sobre a DA em adultos encontraram prevalência de até 9,7% que variam por região, chegando a afetar até 34,1% dos adultos de até 30 anos na Escandinávia (Bylund *et al.*, 2020).

A patogênese da DA é atribuída a um desequilíbrio no sistema imune adaptativo e a um desbalanço na barreira da pele, incluindo a disfunção das células T *helper* (Th) e aumento da produção de IgE (Dhingra *et al.*, 2013; Guttman-Yassky e Krueger, 2017). A barreira cutânea nestes pacientes possui anormalidades, com provável associação a mutação em genes como da filagrina, uma proteína necessária para a estrutura da pele. A pele acometida também é deficiente na expressão de AMP como a catelicidinas (reduzida também pelas citocinas IL-4 e IL-13). Todas essas anormalidades levam a perda de água transepidérmica, facilitando a entrada de alérgenos e micro-organismos na pele. É comum a colonização por *Staphylococcus aureus* nas lesões de DA (Guttman-Yassky *et al.*, 2018; Kapur *et al.*, 2018).

O comprometimento da barreira cutânea junto com a colonização por micro-organismos promove a liberação de citocinas pelos queratinócitos, como IL-25, IL-33 e TSLP que estimulam as LC e as DC dérmicas a ativarem linfócitos Th2, liberando IL-4, IL-13 e IL-31. (Dainichi *et al.*, 2018; Guttman-Yassky *et al.*, 2018; Wong *et al.*, 2021). Os linfócitos Th2 e Th22 são as populações mais ativas na maioria dos subtipos de DA e estão envolvidos na ativação de células dendríticas (Guttman-Yassky e Krueger, 2017). As células dendríticas na DA possuem alta expressão do receptor para TSLP e para o ligante OX40L, responsáveis por direcionar a polarização Th2 dos linfócitos através da expressão induzida de OX40 nas células T ativadas. Outra característica de células dendríticas *atópicas* é a alta expressão do FcεR que é uma conexão para a inflamação alérgica (Guttman-Yassky e Krueger, 2017; Dainichi *et al.*, 2018). A histamina liberada pelos mastócitos, o TSLP e a IL-31 estimulam os nervos sensoriais, provocando prurido intenso no local da lesão (Furue, 2021; Wong *et al.*, 2021).

No estágio crônico da DA, as células dendríticas também produzem IL-23 que ativa resposta Th17 e podem produzir IL-12, responsável pela ativação da resposta Th1. As citocinas produzidas por linfócitos Th2, Th17 e Th22 (IL-4/IL-13 e IL-17/IL-22, respectivamente) vão atuar inibindo a diferenciação terminal da epiderme, intensificando a quebra da barreira epitelial, criando um mecanismo de autoalimentação (Guttman-Yassky e Krueger, 2017; Dainichi *et al.*, 2018). A resposta da hiperplasia epidérmica na DA crônica é impulsionada diretamente pela IL-22 que também contribui para a ativação de STAT3 (do inglês, *Signal Transducer and Activator of Transcription 3*), aumentando a proliferação de queratinócitos nucleados (hiperplasia) na epiderme. Esse mecanismo também pode acontecer pela indução

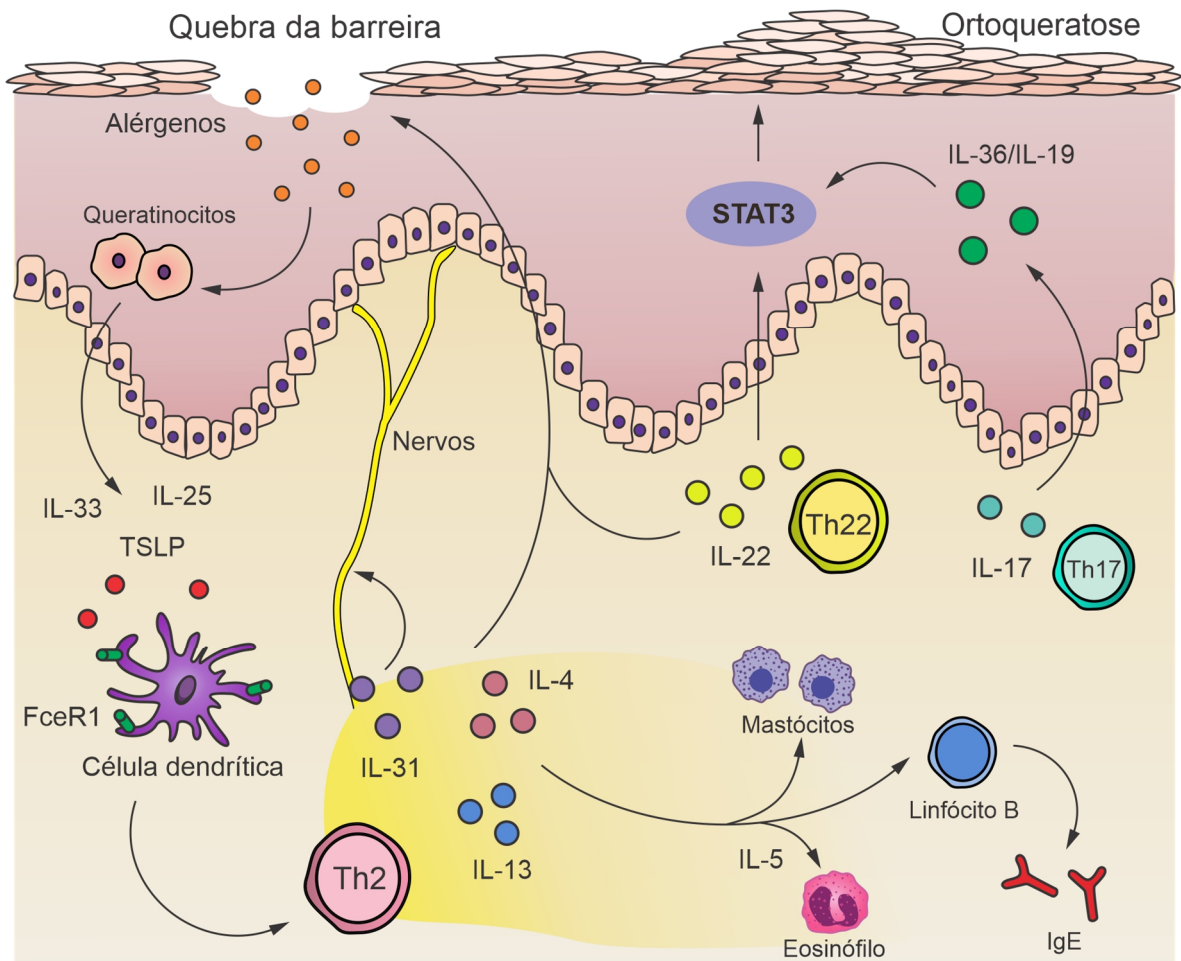
indireta da IL-17, que aumenta a produção de IL-19 ou IL-36 (Guttman-Yassky e Krueger, 2017). A alta produção de IgE na DA, como nas reações alérgicas, é impulsionada por IL-14 e IL-13 e a IL-5 é principal responsável pelo recrutamento/manutenção de eosinófilos no local da lesão (Oldhoff *et al.*, 2005; Dainichi *et al.*, 2018).

A DA é uma doença complexa, possuindo alguns subtipos como a associação a IgE (DA extrínseca) ou não (intrínseca, sendo menos comum). Outras classificações incluem a DA pediátrica que possui apenas linfócitos Th2 no sangue, mas as lesões cutâneas têm ativação robusta de populações de células Th2, Th17 e Th22. Já a DA Europeia-Americana tem o eixo Th17 diminuído quando é extrínseca (depende de IgE), mas permanece aumentado na DA intrínseca (sem ação de IgE). Entretanto, a DA asiática tem características semelhantes da psoríase, com forte ativação de linfócitos Th2, Th17 e Th22 nas lesões, assim como na DA pediátrica, distinguindo dessa pela ativação de linfócitos Th1 (Guttman-Yassky e Krueger, 2017; Brunner e Guttman-Yassky, 2019).

O tratamento para a DA pode ser complicado devido aos múltiplos eixos que contribuem para as características da doença. O tratamento pode ser feito com emolientes, corticoides como a dexametasona, fototerapias e imunossupressores tais como ciclosporina A, que são eficientes na redução da inflamação, mas causam efeitos adversos, como a toxicidade renal, surgimento de neoplasias malignas na pele e recaídas com o abandono dos tratamentos (Luger *et al.*, 2015; Guttman-Yassky *et al.*, 2018). Os novos tratamentos promissores incluem agentes biológicos que são os anticorpos monoclonais. Um caso curioso é que apesar da existência de um eixo Th1 em alguns quadros de DA, o tratamento com inibidores de TNF não se mostraram úteis e podem até exacerbar os sintomas, como o Infliximabe e o Etanercept (Buka *et al.*, 2005; Jacobi *et al.*, 2005). A administração do antagonista monoclonal de IL-5 Mepolizumabe em pacientes com DA reduz a eosinofilia periférica, mas não é o suficiente para melhorar o quadro da doença (Oldhoff *et al.*, 2005). O uso do Dupilumabe tem resultados notáveis contra a DA. Esse anticorpo bloqueia a subunidade alfa do receptor IL-4, bloqueando a ação de IL-4 e IL-13, principais citocinas do eixo Th2. Esse tratamento também reduz os níveis de IgE nas primeiras semanas de tratamento, mas infelizmente não impede a resposta alérgica. Apesar dos efeitos, aproximadamente 60% dos pacientes têm resultados positivos, o que evidencia que a DA atua por múltiplos eixos, sendo interessante que tratamentos futuros utilizem o bloqueio de diferentes eixos, como Th22 e potencialmente Th17, por

atorem em diferentes tipos de DA (Guttman-Yassky e Krueger, 2017; Guttman-Yassky *et al.*, 2018; Wong *et al.*, 2021). A figura 6 resume os principais eventos na patogênese da DA.

Figura 6 – A patogênese da DA. A quebra da barreira epitelial facilita a entrada de alérgenos na pele que ativam queratinócitos a secretarem fatores como IL-25, IL-33 e TSLP, ativando as DCs e liberando IL-4, IL-13 e IL-31. A IL-4 e IL-13 são as principais envolvidas com a cronicidade da DA, pois ativam queratinócitos, facilitando a perda de água pela epiderme e recrutando células inflamatórias como mastócitos, eosinófilos e aumentando a produção de IgE. As DCs na DA expressam receptores FcεR que se ligam a IgE, relacionado às reações alérgicas. As citocinas Th17 e Th22 também estão envolvidas, aumentando a espessura da epiderme por indução da STAT3 e promovendo a hiperproliferação de queratinócitos anucleados, evento nomeado de ortoqueratose. A IL-31 na DA é a principal citocina envolvida com os sintomas de prurido por ativar os nervos cutâneos, característica marcante da doença.



FONTE: A autora, 2021.

Um possível tratamento mais recente utiliza o Nemozumabe, anticorpo monoclonal humano contra o receptor IL-31RA, envolvido no prurido e na inflamação (Kabashima *et al.*, 2020). Nos ensaios clínicos, os pacientes tiveram redução do prurido e seu uso com corticoides intensificou os efeitos. O Nemozumabe foi capaz de diminuir a gravidade da dermatite, reduzir distúrbios do sono, melhorar a qualidade de vida e comprometimento da produtividade/atividade no trabalho (Furue, 2021).

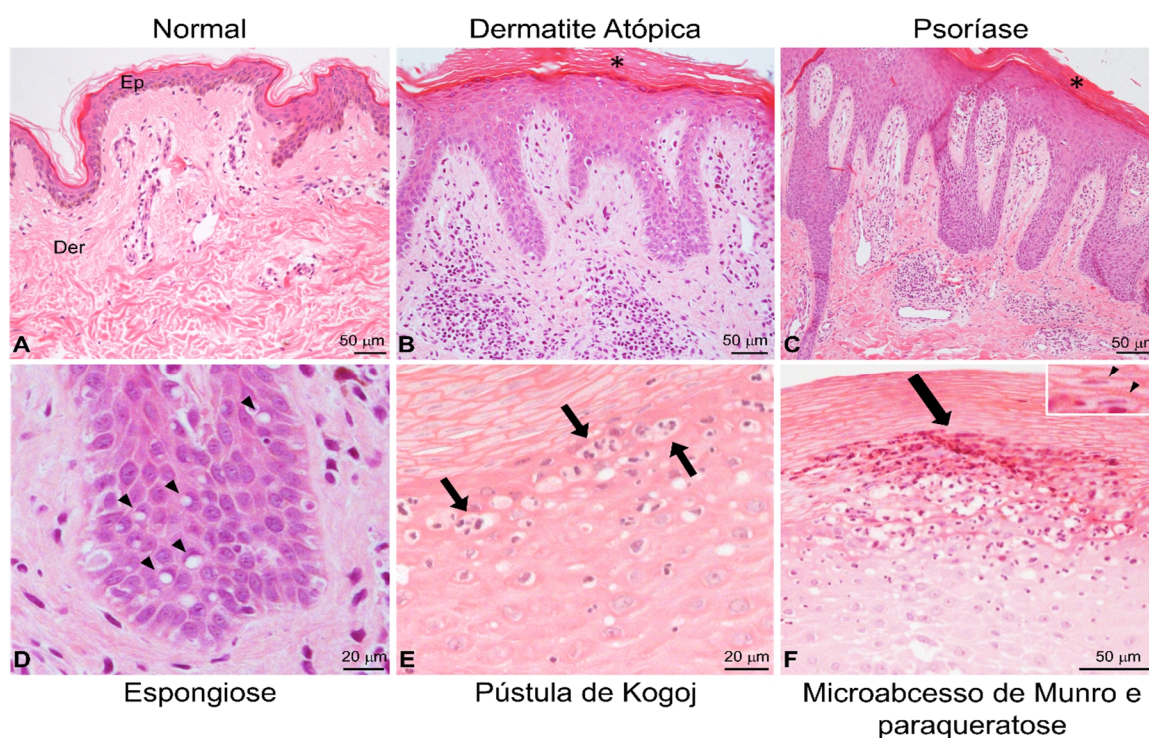
### 1.3 Psoríase

A psoríase (Ps) é uma doença inflamatória crônica da pele com forte predisposição genética e até mesmo ação do envelhecimento. Fatores ambientais, trauma, infecção e drogas podem influenciar o desenvolvimento da doença (Petit *et al.*, 2021). Os produtos genéticos envolvidos na inflamação da Ps representam uma parte consistente da suscetibilidade genética, estabelecida progressivamente por numerosos estudos genômicos nos últimos anos, com a identificação de loci genéticos de risco de psoríase, denominados PSORS 1-9, explicando seu perfil imunológico peculiar (Chiricozzi *et al.*, 2018). As lesões características são placas eritematosas com descamação prateada, bem demarcadas e com diferentes graus de prurido, acometendo também unhas das mãos e pés (Guttman-Yassky *et al.*, 2018). As regiões acometidas mostram distribuição simétrica, envolvendo comumente o couro cabeludo, região sacral, superfície extensora dos cotovelos e joelhos (Dainichi *et al.*, 2018). A prevalência da Ps pode atingir até 11% da população de alguns países como a Noruega e cerca de 1,3% da população brasileira (Michalek *et al.*, 2017).

O pico de início das manifestações dos sinais de Ps é na fase adulta, por volta dos 30-39 anos (Dainichi *et al.*, 2018). Cerca de 30% dos acometidos podem desenvolver artrite psoriática, envolvendo entese (endurecimento) de articulações ou mesmo da coluna vertebral. Além da artrite psoriática, a Ps é cada vez mais reconhecida como uma doença multissistêmica, podendo ocorrer a síndrome metabólica, obesidade, doença inflamatória intestinal (doença de Crohn), distúrbios cardiovasculares e transtornos psicológicos/psiquiátricos como ansiedade e depressão (Oliveira *et al.*, 2015). Observando a histologia das lesões na Ps, o espessamento da epiderme é um dos eventos histológicos mais importantes e ocorre pela proliferação descontrolada dos queratinócitos (Dainichi *et al.*, 2018). A característica desse epitélio é o alongamento das cristas epidérmicas, com

alargamento bulboso, pústulas espongiformes de *Kogoj* formadas pela migração de neutrófilos com agregação abaixo do estrato córneo e à medida que esses neutrófilos migram para o estrato córneo, se tornam picnóticos e formam os microabscessos de *Munro* (Murphy et al., 2007). As lesões, diferente da DA, são secas, e normalmente não provocam coceira excessiva. A hiperqueratose que ocorre é do tipo paraqueratótica, onde os queratinócitos mais externos são nucleados (Guttman-Yassky et al., 2011). A figura 7 exemplifica os achados histológicos que ocorrem tanto na DA como na Ps, na coloração por H&E.

Figura 7 – Características histológicas da DA e Ps. A: pele normal, epiderme (Ep) e derme (Der) de aspecto saudável, sem espessamento da epiderme e infiltrado inflamatório na derme. B: Dermatite Atópica. É possível observar o espessamento epidérmico e infiltrado inflamatório na derme. C: Psoríase. É possível observar espessamento epidérmico por aumento das células espinhosas (acantose), as projeções da epiderme com alongamento das cristas epidérmicas e a presença de infiltrado inflamatório. D: Espongiose na epiderme (cabeça de setas), caracterizada por edema intercelular. E: Pústula de Kogoj, causada pela infiltração de neutrófilos na epiderme. F: Microabcesso de Munro, neutrófilos picnóticos provenientes da pústula de Kogoj. No detalhe, o fenômeno da paraqueratose é evidenciado (cabeça de setas para o núcleo das células). \*: hiperqueratose. Coloração H&E.



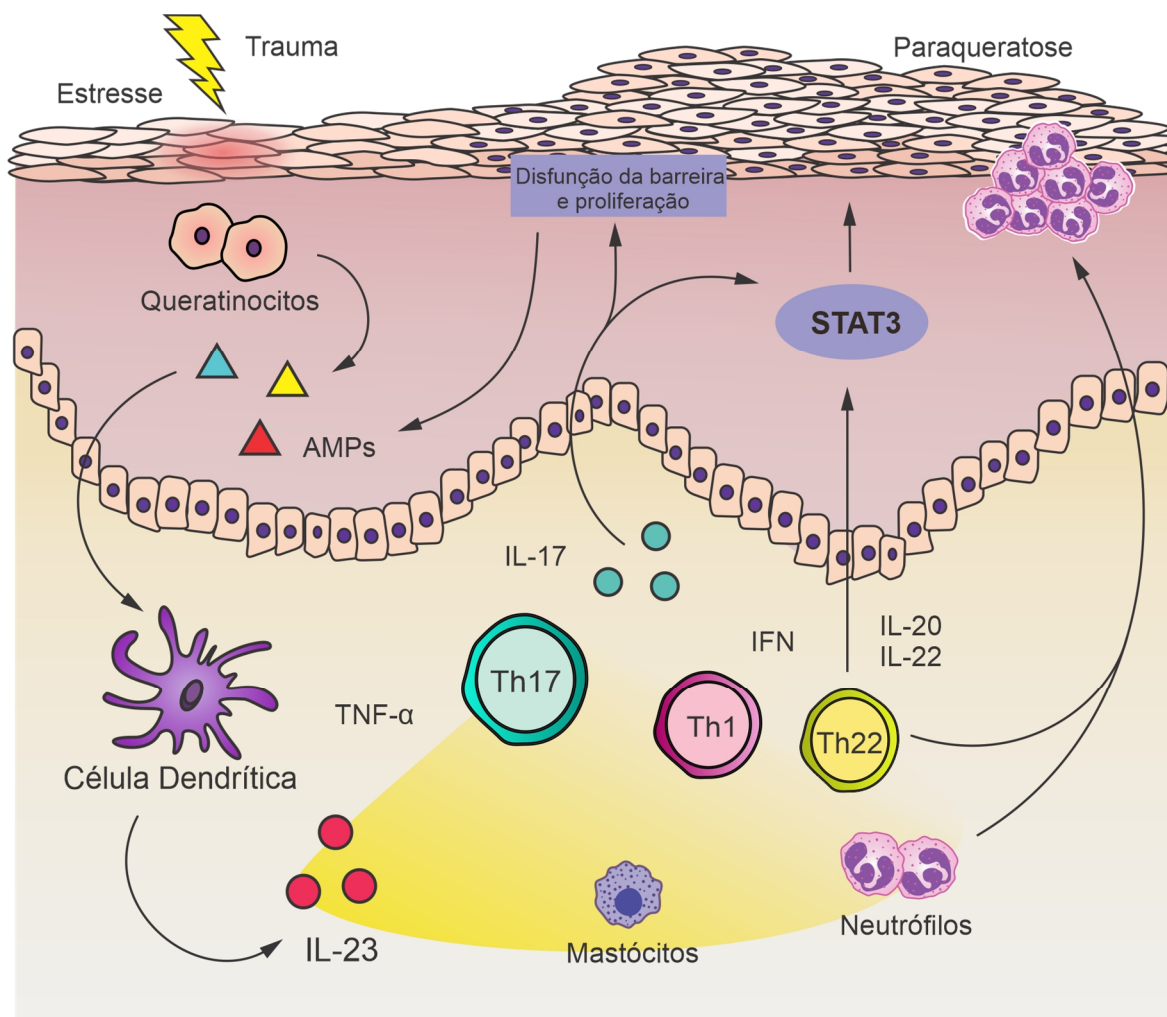
FONTE: A autora, 2021.

A patogênese da Ps não é totalmente esclarecida. Uma das vias propostas ocorre por diferentes gatilhos (patógenos, estresse ou traumas) que estimulam os queratinócitos a secretarem AMPs. Esses queratinócitos na Ps secretam especialmente a LL-37,  $\beta$ -defensinas e proteínas da família S100. A LL-37 é a principal responsável por ativar receptores como TLR9, ativando células dendríticas que secretam TNF- $\alpha$  e IL-23 (Rendon e Schäkel, 2019). A IL-23 é a principal estimuladora da produção de linfócitos Th17, além de também estimular mastócitos e neutrófilos, a secretar IL-17. Outras citocinas derivadas de linfócitos Th1, Th22 e queratinócitos como IL-19, IL-20, IL-22, IL-36, IFN- $\gamma$  e quimiocinas CCL20, CXCL1 e CXCL8 também contribuem para o desenvolvimento da Ps (Chiricozzi *et al.*, 2018). Estas citocinas junto da IL-17 ativam fatores de transcrição como STAT1, fator nuclear *kappa* B (NF $\kappa$ B) e proteínas da família C/EBP (ligante CCAAT/potenciador) nas células residentes da pele, principalmente queratinócitos, criando resposta inflamatória que se auto amplifica (Guttman-Yassky e Krueger, 2017).

A IL-17 também ativa, por via indireta, a STAT3 através do estímulo de IL-19/IL-36, responsáveis por sua ativação na epiderme. O mesmo pode ocorrer através da IL-22 e IL-20 de forma direta por serem também ativadoras da STAT3 (Guttman-Yassky e Krueger, 2017). A resposta da epiderme na Ps é caracterizada, principalmente, pela via inflamatória IL-23 – Th17, onde a IL-23 conduz a expansão das células Th17 (Rendon e Schäkel, 2019). O TNF- $\alpha$  possui duas funções, ativar as células dendríticas para a síntese de IL-23 e fazer sinergia com a IL-17 para a indução de muitos genes relacionados à Ps em queratinócitos. Assim, um antagonista da via IL-23/Th17 representa um antagonista indireto do TNF- $\alpha$  (Guttman-Yassky e Krueger, 2017). Além disso, muitos alelos de risco codificam proteínas que direcionam a diferenciação dos linfócitos Th17. Assim, consideramos que a Ps é um exemplo de imunidade polarizada para Th17, sendo consolidada pela observação de que aproximadamente 90% dos pacientes com Ps podem ser tratados por antagonistas específicos de IL-17 (Guttman-Yassky e Krueger, 2017). A figura 8 mostra um resumo da patogênese da Ps.

Figura 8 – Patogênese da Ps. Após diferentes gatilhos, os queratinócitos secretam AMPs que ativam as DCs para produção de TNF- $\alpha$  e IL-23. A IL-23 estimula a proliferação de linfócitos Th17, além de ativar mastócitos e neutrófilos. Os linfócitos Th1 e Th22 auxiliam na disfunção da barreira epitelial e aumento da espessura da

epiderme através da ativação da STAT3. Na Ps, os queratinócitos proliferam numa taxa rápida, ainda possuindo núcleo quando chegam na camada externa, resultando na paraqueratose. As citocinas atuantes na Ps auxiliam na migração de neutrófilos para epiderme, sendo comum encontrá-los nessa região em pacientes com Ps.



FONTE: A autora, 2021.

Os tratamentos para a Ps requerem uma terapia a longo prazo. A escolha é devido a gravidade e a comorbidades presentes. Os pacientes são classificados em dois grupos, leve ou moderada, ou grave, dependendo da gravidade clínica das lesões, da porcentagem da área de superfície corporal afetada e a qualidade de vida do paciente. O escore PASI (grau de severidade do processo psoriático) é amplamente utilizado em ensaios clínicos, especialmente aqueles pertencentes ao desenvolvimento de drogas biológicas. A Ps leve a moderada pode ser tratada com glicocorticoides, fototerapia e imunomoduladores, como a ciclosporina. Infelizmente esses tratamentos podem ter efeitos colaterais como toxicidade renal, câncer e

náuseas (Rendon e Schäkel, 2019). Na atualidade, novas estratégias vêm sendo adotadas para tratar os casos graves. Muitos dos novos agentes são biológicos, principalmente anticorpos monoclonais que têm como alvo as principais vias das citocinas. Inibidores do TNF- $\alpha$ , incluindo Etanercepte e Infliximabe vem sendo usados para tratar a Ps (Guttman-Yassky *et al.*, 2018). O Ustekinumabe é um tratamento aprovado para Ps, onde se liga a sua subunidade p40 da IL-23, impedindo a ativação de linfócitos Th17. É uma terapia que mostrou eficácia de aproximadamente 70% em 12 semanas de tratamento (Noda *et al.*, 2015).

#### 1.4 Dermatite Atópica x Psoríase

Os queratinócitos são o principal alvo das doenças de pele como a Ps e DA. Os queratinócitos da linhagem HaCaT são imortalizados, oriundos da pele normal de um adulto e exibem diferenciação normal, representando uma ferramenta de estudo da regulação de células humanas. São semelhantes aos queratinócitos normais, mantendo as queratinas específicas de diferenciação, K1 e K10 e outros marcadores como involucrina e filagrina (maior componente dos grânulos de querato-hialina) expressos e regularmente localizados. Além disso, permanecem não tumorigênicas e não invasivas *in vivo*. Seu nome mostra sua origem a partir de queratinócitos da pele humana, cultivados sob baixas condições de Ca<sup>2+</sup> (cálcio) e temperatura elevada (Boukamp *et al.*, 1988).

Embora a DA e a Ps sejam clinicamente diferentes, seus estágios crônicos têm muitas semelhanças histológicas, incluindo hiperplasia epidérmica aumentada e grande infiltrado de linfócitos T e DCs. Em estudos genômicos, foi possível observar que genes envolvidos na regulação da proliferação de células epidérmicas são supra regulados em ambas as doenças (Guttman-Yassky *et al.*, 2011). Além disso, um subconjunto de pacientes com Ps tem lesões que se parecem com a DA, ou seja, não apresentam as características típicas de forte descamação da Ps. Também, quando observados os processos de patogênese de doenças na pele, há muitas sobreposições e semelhanças na ativação de células imunes, alterações resultantes na estrutura e função do tecido, particularmente quando se considera as formas intrínsecas, asiáticas e pediátricas de DA (Guttman-Yassky e Krueger, 2017).

Devido a essas sobreposições, o seguinte trabalho busca analisar o papel de proteínas endógenas como possíveis biomarcadores para DA e Ps, e compreender

suas funções durante o processo inflamatório. Nesse contexto, destacamos as galectinas, descritas no próximo tópico.

## 1.5 Galectinas

As lectinas são proteínas de ligação a carboidratos que reconhecem uma diversidade de estruturas de polissacarídeos em diversos glicoconjugados (Chan *et al.*, 2018). Elas podem atuar como sinais, receptores e elementos estruturais em microambientes intracelulares e extracelulares (Farhadi e Hudalla, 2016). Como resultado, a ligação lectina-glicano pode iniciar, amplificar, atenuar ou inibir a transdução de sinal transmembrana para modular a proliferação celular, diferenciação, migração, apoptose e imunidade e tolerância em vários processos normais e patológicos (Farhadi e Hudalla, 2016; Chan *et al.*, 2018).

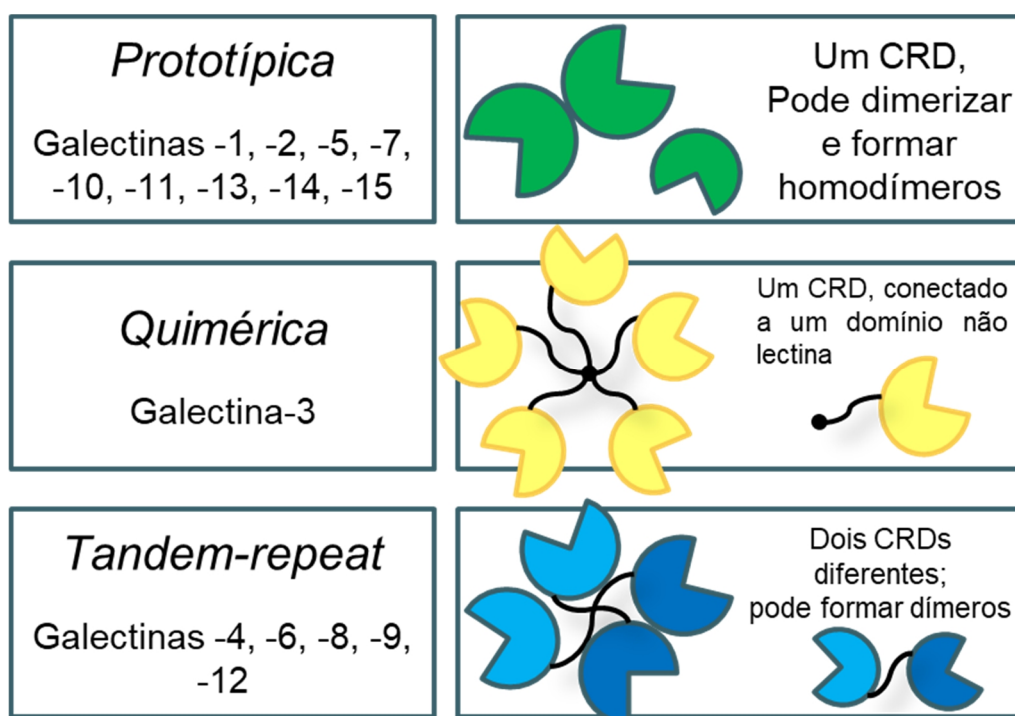
As galectinas (Gals) são membros da família das lectinas, são pequenas proteínas citosólicas que se ligam aos resíduos  $\beta$ -galactosídeos e compartilham uma sequência de aproximadamente 135 aminoácidos em seu domínio de reconhecimento de carboidratos (CRDs) onde ocorre a ligação com os glicanos. A descoberta das Gals ocorreu através do isolamento de uma proteína chamada de eletrolectina, isolada da enguia elétrica e, após estudos subsequentes, foi reconhecida como o primeiro membro descrito da família (Teichberg *et al.*, 1975; Kamili *et al.*, 2016). As Gals estão presentes em todos os metazoários, tornando-as uma das famílias de ligantes de glicanos evolutivamente mais antigas expressas em mamíferos (Kamili *et al.*, 2016).

Quinze membros da sua família já foram identificados em mamíferos e nomeados de acordo com sua organização estrutural e ordem de descoberta, sendo categorizadas em três subfamílias: prototípica, quimérica e repetição em tandem (Chan *et al.*, 2018). A subfamília prototípica inclui as Gal-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 e -15, onde cada Gal contém um único CRD que podem homodimerizar, tendo uma função bivalente quanto a sua ligação aos carboidratos. A subfamília do tipo repetição em tandem (*tandem repeat*) incluem as Gal-4, -6, -8, -9 e -12. Cada uma contém dois CRDs diferentes em cada extremidade da cadeia polipeptídica e possuem função bivalente com esses dois locais para ligação aos carboidratos. A subfamília do tipo quimérica possui apenas um membro, a Gal-3, composta por um domínio não lectina N-terminal ligado a um CRD podendo assumir forma homotípica múltipla, como um

pentâmero, que pode se ligar a carboidratos multivalentes (Chan *et al.*, 2018; Johannes *et al.*, 2018).

Na superfície de membranas, as Gals são capazes de fazer ligação com os glicanos de glicolipídeos ou glicoproteínas por intermédio do seu CRD, podendo fazer um *crosslink*, ou seja, formando redes necessárias para que haja a transmissão de sinais. Interessantemente, as Gals são monoméricas em soluções com concentrações fisiológicas, e a maioria é capaz de se agregar formando redes (Johannes *et al.*, 2018). Por exemplo, a Gal-1 possui um dímero fraco, mas após a ligação a sua dimerização aumenta (Salomonsson *et al.*, 2010). Já a Gal-3 existe como um monômero e pode agregar e se unir na sua região N-terminal não CRD (Ahmad *et al.*, 2004; Nieminen *et al.*, 2007). A maior parte das funções da Gal-3 depende da oligomerização da região N-terminal, e a remoção dessa região impede a Gal-3 de exercer as suas funções (Pelletier e Sato, 2002). As Gals com dois CRD distintos, como no grupo *tandem-repeat*, também podem formar dímeros (Kamili *et al.*, 2016). A ligação das Gals pode modular receptores, ativando linfócitos T, promovendo a secreção de citocinas, ativação de neutrófilos ou ativando a apoptose. Também pode regular a proliferação, diferenciação e sobrevivência de células (Vasta *et al.*, 2012). A figura 9 exemplifica os subgrupos das galectinas descritas em mamíferos até o momento.

Figura 9 - Estrutura das Galectinas.



As Gals são encontradas no citosol, núcleo, matriz extracelular ou na circulação. Os seus transcritos são traduzidos nos ribossomos livres no citoplasma da célula e as proteínas podem ser translocadas para o núcleo onde se associam com as ribonucleoproteínas. Através de mecanismos não convencionais, as Gals são secretadas para o espaço extracelular e podem ter diferentes atuações. Entre elas: receptores para glicanos de micro-organismos, ligação com glicanos da superfície celular da célula hospedeira, ou formar redes entre elas e os glicanos da MEC, promovendo a migração celular. Elas também podem formar redes com os glicanos da superfície celular e desencadear cascatas de sinalização ou promover interação entre células vizinhas (Vasta *et al.*, 2012). No ambiente intracelular, as Gals podem exercer funções biológicas que não envolvem a interação com glicanos, podendo regular a motilidade celular, a apoptose, o ciclo celular e o tráfego de vesículas e participar do *splicing* do pré-mRNA e da ativação de fatores de transcrição (Wu e Liu, 2018). A Gal-3 intracelular, por exemplo, faz associação com o centróssoma e corpos basais, e sua deleção faz com que haja desarranjo de microtúbulos e defeitos na morfologia do epitélio de cílios (Koch *et al.*, 2010). Já algumas das funções extra e intracelulares das Gals são opostas. A Gal-1 extracelular, por exemplo, é responsável por promover a proliferação de células cancerosas, mas intracelular desempenha um papel oposto na proliferação celular (Than *et al.*, 2015). A inibição da Gal-1 em modelo murino de câncer induzido pela inoculação subcutânea de células tumorais da glândula mamária (linhagem 4T1), mostrou uma redução no crescimento tumoral e na formação de metástases (Dalotto-Moreno *et al.*, 2013).

Na pele, as Gals foram detectadas em diferentes tipos celulares, sendo a Gal-1 expressa em queratinócitos, fibroblastos e LC (Akimoto *et al.*, 1995), a Gal-3 expressa em queratinócitos, fibroblastos, DCs e macrófagos (Larsen *et al.*, 2011), a Gal-7 é expressa em queratinócitos (Chen *et al.*, 2016) e a Gal-9 expressa em queratinócitos (Corrêa *et al.*, 2021). Diferentes Gals podem ter relação com a patogênese de diferentes doenças cutâneas como a DA, Ps, dermatite de contato alérgica, nas cicatrizações e também processos tumorais da pele (Wu e Liu, 2018). Pacientes com DA apresentam altos níveis de Gal-9 no sangue e na epiderme, que são maiores quanto mais severa a doença e diminuem após tratamento dos pacientes (Nakajima *et al.*, 2015). Além disso, a expressão da Gal-9 é relacionada com severidade da DA (Frag *et al.*, 2020). Em modelo experimental de DA, camundongos tratados com a Gal-1 recombinante tiveram melhora dos sinais clínicos e redução do

infiltrado inflamatório (Corrêa *et al.*, 2017). Já a Gal-9 exógena exerce papel anti-inflamatório na DA de contato experimental e na Ps, diminuindo os sinais inflamatórios e a produção de IFN- $\gamma$  e IL-17, mas não de citocinas Th2 (Niwa *et al.*, 2009). Em biópsias de pele com e sem lesões de Ps, foi detectada baixa expressão do RNAm de Gal-1 e IL-10 em relação às peles sem a doença, enquanto o RNAm de Gal-3 diminuiu somente nas lesões e Gal-9 não mostrou alteração em nenhuma condição (De La Fuente *et al.*, 2012). Em pacientes com Ps, os níveis séricos de Gal-3 são diminuídos e após 3 meses de tratamento com luz UVB, há diminuição do escore PASI e restabelecimento dos níveis de Gal-3 sério (Khater *et al.*, 2020). Já pacientes com DA, há aumento da expressão da Gal-3 nas células inflamatórias da pele (Saegusa *et al.*, 2009).

Devido aos seus diversos papéis como sinais moduladores do comportamento de células imunológicas e à centralidade desses eventos de sinalização para vários processos normais e patológicos, há um interesse crescente nas Gals como alvos terapêuticos e a análise comparativa da expressão dessas proteínas em biópsias de pele com Ps e DA poderá auxiliar no diagnóstico diferencial de ambas as doenças.

## 5 CONCLUSÕES

- Em relação à Gal-9 na DA:
  1. A Gal-9 tem seus níveis aumentados em queratinócitos na DA murina e humana;
  2. Em camundongos, mastócitos e eosinófilos são fonte potencial dessa lectina na inflamação causada pela DA;
  3. A análise de transcriptomas mostra que a pele lesionada tem aumento dos níveis do RNAm da Gal-9, enquanto a pele sem lesão de pacientes com DA e após o tratamento com Dupilumabe, tem seus níveis reduzidos;
  4. A Gal-9 exógena tem efeito imunomodulador e na proliferação de queratinócitos estimulados por citocinas presentes na DA;
  
- Em relação às Gal-1 e -3 na DA e Ps:
  1. As lesões com DA apresentam intensa imunorreatividade para a proteína Gal-3 na epiderme, enquanto as lesões de Ps apresentam expressão mais intensa de Gal-1 na epiderme.
  2. Os níveis de RNAm da Gal-1 são reduzidos na pele com DA e nenhuma alteração significativa foi detectada entre as lesões de Ps e a pele saudável.
  3. Os níveis de RNAm da Gal-3 são reduzidos nas lesões de pele com DA e Ps em comparação com a pele controle.
  4. *In vitro*, as Gal-1 e Gal-3 mostraram efeitos imunomoduladores e migratórios em queratinócitos estimulados por IL-4- ou IL-17.

Em conjunto, nossos resultados mostraram que níveis aumentados da Gal-9 na patogênese da DA representam uma etapa importante para a contrarregulação da resposta inflamatória da pele e proliferação da epiderme. Também, que as Gal-1 e Gal-3 representam potenciais biomarcadores para biópsias de pele com Ps e DA, e seus efeitos imunomoduladores e de migração nos queratinócitos as tornam importantes ferramentas terapêuticas.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K. et al. **Imunologia Celular e Molecular**. 9ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018. ISBN 978-85-352-9074-5

AHMAD, N. et al. Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes. **J Biol Chem**, v. 279, n. 12, p. 10841-7, Mar 19 2004. ISSN 0021-9258. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14672941> >.

AKIMOTO, Y. et al. Expression of the endogenous 14-kDa beta-galactoside-binding lectin galectin in normal human skin. **Cell Tissue Res**, v. 280, n. 1, p. 1-10, Apr 1995. ISSN 0302-766X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7750127> >.

ALBERTS, B. **Essential cell biology**. Fifth edition. New York: W. W. Norton & Company, 2018. ISBN 9780393428643 PDF 0393428648.

BARONI, A. et al. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clin Dermatol**, v. 30, n. 3, p. 257-62, 2012 May-Jun 2012. ISSN 1879-1131. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22507037> >.

BOUKAMP, P. et al. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. **J Cell Biol**, v. 106, n. 3, p. 761-71, Mar 1988. ISSN 0021-9525. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2450098> >.

BRUNNER, P. M.; GUTTMAN-YASSKY, E. Racial differences in atopic dermatitis. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v. 122, n. 5, p. 449-455, May 2019. ISSN 1534-4436. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30465859> >.

BUKA, R. L. et al. Etanercept is minimally effective in 2 children with atopic dermatitis. **J Am Acad Dermatol**, v. 53, n. 2, p. 358-9, Aug 2005. ISSN 1097-6787. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16021144> >.

BYLUND, S. et al. Prevalence and Incidence of Atopic Dermatitis: A Systematic Review. **Acta Derm Venereol**, v. 100, n. 12, p. adv00160, Jun 2020. ISSN 1651-2057. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32412646> >.

CASTRO, C. R. et al. Evaluation of depression, stress and quality of life indexes in patients with atopic dermatitis. **An Bras Dermatol**, Jul 2021. ISSN 1806-4841. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34281740> >.

CHAN, Y. C. et al. Dissecting the Structure-Activity Relationship of Galectin-Ligand Interactions. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 2, Jan 2018. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29382172> >.

CHEN, H. L. et al. Galectin-7 Regulates Keratinocyte Proliferation and Differentiation through JNK-miR-203-p63 Signaling. **J Invest Dermatol**, v. 136, n. 1, p. 182-191, Jan 2016. ISSN 1523-1747. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26763438> >.

CHIEOSILAPATHAM, P. et al. Keratinocytes: innate immune cells in atopic dermatitis. **Clin Exp Immunol**, Jan 2021. ISSN 1365-2249. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33460469> >.

CHIRICOZZI, A. et al. Scanning the Immunopathogenesis of Psoriasis. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 1, Jan 2018. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29316717> >.

CLARK, R. A. Skin-resident T cells: the ups and downs of on site immunity. **J Invest Dermatol**, v. 130, n. 2, p. 362-70, Feb 2010. ISSN 1523-1747. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19675575> >.

COGHI, S. et al. Quality of life is severely compromised in adult patients with atopic dermatitis in Brazil, especially due to mental components. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 62, n. 3, p. 235-42, Jun 2007. ISSN 1807-5932. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17589662> >.

CORRÊA, C. C. In: **Mãe: porções, posses e poções**. São José do Rio Preto: Editora Ponto Z, 2021. 31p.

CORRÊA, M. P. et al. The Role of Galectin-9 as Mediator of Atopic Dermatitis: Effect on Keratinocytes. **Cells**, v. 10, n. 4, Apr 2021. ISSN 2073-4409. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33923930> >.

DAINICHI, T. et al. The epithelial immune microenvironment (EIME) in atopic dermatitis and psoriasis. **Nat Immunol**, v. 19, n. 12, p. 1286-1298, 12 2018. ISSN 1529-2916. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30446754> >.

DALOTTO-MORENO, T. et al. Targeting galectin-1 overcomes breast cancer-associated immunosuppression and prevents metastatic disease. **Cancer Res**, v. 73, n. 3, p. 1107-17, Feb 01 2013. ISSN 1538-7445. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23204230> >.

DE LA FUENTE, H. et al. Psoriasis in humans is associated with down-regulation of galectins in dendritic cells. **J Pathol**, v. 228, n. 2, p. 193-203, Oct 2012. ISSN 1096-9896. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22271227> >.

DHINGRA, N.; GULATI, N.; GUTTMAN-YASSKY, E. Mechanisms of contact sensitization offer insights into the role of barrier defects vs. intrinsic immune abnormalities as drivers of atopic dermatitis. **J Invest Dermatol**, v. 133, n. 10, p. 2311-2314, Oct 2013. ISSN 1523-1747. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24030647> >.

DONETTI, E. et al. The psoriatic shift induced by interleukin 17 is promptly reverted by a specific anti-IL-17A agent in a three-dimensional organotypic model of normal human skin culture. **Eur J Histochem**, v. 64, n. 2, Apr 2020. ISSN 2038-8306. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32312032> >.

FARAG, A. G. A. et al. Role of Galectin-9 in Atopic Dermatitis - Is It Mediated Through E Selectin? A Clinical and Immunohistochemical Study. **Clin Cosmet Investig Dermatol**, v. 13, p. 11-19, 2020. ISSN 1178-7015. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32021366> >.

FARHADI, S. A.; HUDALLA, G. A. Engineering galectin-glycan interactions for immunotherapy and immunomodulation. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 241, n. 10, p. 1074-83, 05 2016. ISSN 1535-3699. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27229902> >.

FURUE, M. Interleukin-31 and Pruritic Skin. **J Clin Med**, v. 10, n. 9, Apr 2021. ISSN 2077-0383. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33924978> >.

GRÖNE, A. Keratinocytes and cytokines. **Vet Immunol Immunopathol**, v. 88, n. 1-2, p. 1-12, Sep 2002. ISSN 0165-2427. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12088639> >.

GUTTMAN-YASSKY, E.; KRUEGER, J. G. Atopic dermatitis and psoriasis: two different immune diseases or one spectrum? **Curr Opin Immunol**, v. 48, p. 68-73, Oct 2017. ISSN 1879-0372. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28869867> >.

GUTTMAN-YASSKY, E.; KRUEGER, J. G.; LEBWOHL, M. G. Systemic immune mechanisms in atopic dermatitis and psoriasis with implications for treatment. **Exp Dermatol**, v. 27, n. 4, p. 409-417, 04 2018. ISSN 1600-0625. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28266782> >.

GUTTMAN-YASSKY, E.; NOGRALES, K. E.; KRUEGER, J. G. Contrasting pathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis--part I: clinical and pathologic concepts. **J Allergy Clin Immunol**, v. 127, n. 5, p. 1110-8, May 2011. ISSN 1097-6825. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21388665> >.

JACOBI, A. et al. Infliximab in the treatment of moderate to severe atopic dermatitis. **J Am Acad Dermatol**, v. 52, n. 3 Pt 1, p. 522-6, Mar 2005. ISSN 1097-6787. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15761436> >.

JOHANNES, L.; JACOB, R.; LEFFLER, H. Galectins at a glance. **J Cell Sci**, v. 131, n. 9, 05 2018. ISSN 1477-9137. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29717004> >.

JUNQUEIRA, L. C. U. **Histologia básica: texto e atlas**. 13ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. ISBN 978-85-277-3216-1

KABASHIMA, K. et al. The immunological anatomy of the skin. **Nat Rev Immunol**, v. 19, n. 1, p. 19-30, 01 2019. ISSN 1474-1741. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30429578> >.

KABASHIMA, K. et al. Trial of Nemolizumab and Topical Agents for Atopic Dermatitis with Pruritus. **N Engl J Med**, v. 383, n. 2, p. 141-150, 07 2020. ISSN 1533-4406. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32640132> >.

KAMILI, N. A. et al. Key regulators of galectin-glycan interactions. **Proteomics**, v. 16, n. 24, p. 3111-3125, 12 2016. ISSN 1615-9861. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27582340> >.

KAPUR, S.; WATSON, W.; CARR, S. Atopic dermatitis. **Allergy Asthma Clin Immunol**, v. 14, n. Suppl 2, p. 52, 2018. ISSN 1710-1484. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30275844> >.

KHATER, M. H. et al. Evaluation of Galectin3 levels in psoriatic patients treated by narrow-band UVB phototherapy. **J Dermatolog Treat**, v. 31, n. 8, p. 758-762, Dec 2020. ISSN 1471-1753. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31557066> >.

KIM, Y.; LIM, K. M. Skin barrier dysfunction and filaggrin. **Arch Pharm Res**, v. 44, n. 1, p. 36-48, Jan 2021. ISSN 0253-6269. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33462753> >.

KOCH, A. et al. Galectin-3, a novel centrosome-associated protein, required for epithelial morphogenesis. **Mol Biol Cell**, v. 21, n. 2, p. 219-31, Jan 15 2010. ISSN 1939-4586. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19923323> >.

LARSEN, L. et al. Galectin-3 and the skin. **J Dermatol Sci**, v. 64, n. 2, p. 85-91, Nov 2011. ISSN 1873-569X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21889881> >.

LOSQUADRO, W. D. Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. **Facial Plast Surg Clin North Am**, v. 25, n. 3, p. 283-289, Aug 2017. ISSN 1558-1926. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28676156> >.

LUGER, T. et al. Pimecrolimus in atopic dermatitis: consensus on safety and the need to allow use in infants. **Pediatr Allergy Immunol**, v. 26, n. 4, p. 306-15, Jun 2015. ISSN 1399-3038. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25557211> >.

MICHALEK, I. M.; LORING, B.; JOHN, S. M. A systematic review of worldwide epidemiology of psoriasis. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 31, n. 2, p. 205-212, Feb 2017. ISSN 1468-3083. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27573025> >.

MILANESI, N. et al. Effect of dupilumab on sleep disturbances in adult patients with severe atopic dermatitis. **Ital J Dermatol Venerol**, Jul 2021. ISSN 2784-8450. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34282867> >.

MURPHY, M.; KERR, P.; GRANT-KELS, J. M. The histopathologic spectrum of psoriasis. **Clin Dermatol**, v. 25, n. 6, p. 524-8, 2007 Nov-Dec 2007. ISSN 0738-081X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18021888> >.

NAKAJIMA, R. et al. Elevated serum galectin-9 levels in patients with atopic dermatitis. **J Dermatol**, v. 42, n. 7, p. 723-6, Jul 2015. ISSN 1346-8138. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25899120> >.

NEDOSZYTKO, B. et al. Chemokines and cytokines network in the pathogenesis of the inflammatory skin diseases: atopic dermatitis, psoriasis and skin mastocytosis. **Postepy Dermatol Alergol**, v. 31, n. 2, p. 84-91, May 2014. ISSN 1642-395X. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25097473> >.

NESTLE, F. O. et al. Skin immune sentinels in health and disease. **Nat Rev Immunol**, v. 9, n. 10, p. 679-91, Oct 2009. ISSN 1474-1741. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19763149> >.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The Dynamics of the Skin's Immune System. **Int J Mol Sci**, v. 20, n. 8, Apr 2019. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31013709> >.

NIEMINEN, J. et al. Visualization of galectin-3 oligomerization on the surface of neutrophils and endothelial cells using fluorescence resonance energy transfer. **J Biol Chem**, v. 282, n. 2, p. 1374-83, Jan 12 2007. ISSN 0021-9258. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17082191> >.

NIWA, H. et al. Stable form of galectin-9, a Tim-3 ligand, inhibits contact hypersensitivity and psoriatic reactions: a potent therapeutic tool for Th1- and/or Th17-mediated skin inflammation. **Clin Immunol**, v. 132, n. 2, p. 184-94, Aug 2009. ISSN 1521-7035. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19464955> >.

NODA, S.; KRUEGER, J. G.; GUTTMAN-YASSKY, E. The translational revolution and use of biologics in patients with inflammatory skin diseases. **J Allergy Clin Immunol**, v. 135, n. 2, p. 324-36, Feb 2015. ISSN 1097-6825. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25541257> >.

OLDHOFF, J. M. et al. Anti-IL-5 recombinant humanized monoclonal antibody (mepolizumab) for the treatment of atopic dermatitis. **Allergy**, v. 60, n. 5, p. 693-6, May 2005. ISSN 0105-4538. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15813818> >.

OLIVEIRA, M. E. F.; ROCHA, B. E. O.; DUARTE, G. V. Psoriasis: classical and emerging comorbidities. **An Bras Dermatol**, v. 90, n. 1, p. 9-20, 2015 Jan-Feb 2015. ISSN 1806-4841. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25672294> >.

PELLETIER, I.; SATO, S. Specific recognition and cleavage of galectin-3 by *Leishmania major* through species-specific polygalactose epitope. **J Biol Chem**, v. 277, n. 20, p. 17663-70, May 17 2002. ISSN 0021-9258. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11882664> >.

PETIT, R. G. et al. Psoriasis: From Pathogenesis to Pharmacological and Nano-Technological-Based Therapeutics. **Int J Mol Sci**, v. 22, n. 9, May 2021. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34067151> >.

RADONJIC-HOESLI, S. et al. Eosinophils in skin diseases. **Semin Immunopathol**, v. 43, n. 3, p. 393-409, Jun 2021. ISSN 1863-2300. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34097126> >.

RENDON, A.; SCHÄKEL, K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. **Int J Mol Sci**, v. 20, n. 6, Mar 2019. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30909615> >.

RIPPA, A. L.; KALABUSHEVA, E. P.; VOROTELYAK, E. A. Regeneration of Dermis: Scarring and Cells Involved. **Cells**, v. 8, n. 6, 06 2019. ISSN 2073-4409. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31216669> >.

RIVITTI, E. A. **Dermatologia de Sampaio e Rivitti**. 4ª edição. São Paulo: Artes Médicas, 2018. ISBN 978-85-277-3216-1

ROTHFUSS, P. **O temor do sábio**. São Paulo: Editora Arqueiro, 2011. 545p.

SACOTTE, R.; SILVERBERG, J. I. Epidemiology of adult atopic dermatitis. **Clin Dermatol**, v. 36, n. 5, p. 595-605, 2018 Sep - Oct 2018. ISSN 1879-1131. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30217272> >.

SAEGUSA, J. et al. Galectin-3 is critical for the development of the allergic inflammatory response in a mouse model of atopic dermatitis. **Am J Pathol**, v. 174, n. 3, p. 922-31, Mar 2009. ISSN 1525-2191. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19179612> >.

SALOMONSSON, E. et al. Monovalent interactions of galectin-1. **Biochemistry**, v. 49, n. 44, p. 9518-32, Nov 09 2010. ISSN 1520-4995. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20873803> >.

SILVERBERG, J. I. et al. Atopic dermatitis in the pediatric population: A cross-sectional, international epidemiologic study. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v. 126, n. 4, p. 417-428.e2, 04 2021. ISSN 1534-4436. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33421555> >.

SLOMINSKI, A. T.; MANNA, P. R.; TUCKEY, R. C. On the role of skin in the regulation of local and systemic steroidogenic activities. **Steroids**, v. 103, p. 72-88, Nov 2015. ISSN 1878-5867. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25988614> >.

SYED, F. et al. Fibroblasts from the growing margin of keloid scars produce higher levels of collagen I and III compared with intralesional and extralesional sites: clinical implications for lesional site-directed therapy. **Br J Dermatol**, v. 164, n. 1, p. 83-96, Jan 2011. ISSN 1365-2133. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20849516> >.

TEICHBERG, V. I. et al. A beta-D-galactoside binding protein from electric organ tissue of *Electrophorus electricus*. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 72, n. 4, p. 1383-7, Apr 1975. ISSN 0027-8424. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1055413> >.

THAN, N. G. et al. Galectins: Double-edged Swords in the Cross-roads of Pregnancy Complications and Female Reproductive Tract Inflammation and Neoplasia. **J Pathol Transl Med**, v. 49, n. 3, p. 181-208, May 2015. ISSN 2383-7837. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26018511> >.

TOKUMARU, S. et al. Induction of keratinocyte migration via transactivation of the epidermal growth factor receptor by the antimicrobial peptide LL-37. **J Immunol**, v. 175, n. 7, p. 4662-8, Oct 2005. ISSN 0022-1767. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16177113> >.

TSAKOVSKA, I. et al. Quantitative structure-skin permeability relationships. **Toxicology**, v. 387, p. 27-42, 07 2017. ISSN 1879-3185. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28645577> >.

VASTA, G. R. et al. Galectins as self/non-self-recognition receptors in innate and adaptive immunity: an unresolved paradox. **Front Immunol**, v. 3, p. 199, 2012. ISSN 1664-3224. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22811679> >.

VOSS, M. et al. Mast Cells in the Skin: Defenders of Integrity or Offenders in Inflammation? **Int J Mol Sci**, v. 22, n. 9, Apr 2021. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33925601> >.

ZOUBOULIS, C. C. The skin as an endocrine organ. **Dermatoendocrinol**, v. 1, n. 5, p. 250-2, Sep 2009. ISSN 1938-1980. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20808511> >.

WILGUS, T. A.; WULFF, B. C. The Importance of Mast Cells in Dermal Scarring. **Adv Wound Care (New Rochelle)**, v. 3, n. 4, p. 356-365, Apr 2014. ISSN 2162-1918. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24757590> >.

WONG, L. S.; YEN, Y. T.; LEE, C. H. The Implications of Pruritogens in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis. **Int J Mol Sci**, v. 22, n. 13, Jul 2021. ISSN 1422-0067. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34281281> >.

WONG, R. et al. The dynamic anatomy and patterning of skin. **Exp Dermatol**, v. 25, n. 2, p. 92-8, Feb 2016. ISSN 1600-0625. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26284579> >.

WU, N. L.; LIU, F. T. The expression and function of galectins in skin physiology and pathology. **Exp Dermatol**, v. 27, n. 3, p. 217-226, 03 2018. ISSN 1600-0625. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29427464> >.

YANEZ, D. A. et al. The role of macrophages in skin homeostasis. **Pflugers Arch**, v. 469, n. 3-4, p. 455-463, 04 2017. ISSN 1432-2013. Available at: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28233123> >.