**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DE RIBEIRÃO PRETO**

***Participação da galectina-1 na evolução da
histoplasmose experimental***

Lílian Cataldi Rodrigues

Ribeirão Preto

2007

LÍLIAN CATALDI RODRIGUES

***Participação da galectina-1 na evolução da
histoplasmose experimental***

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Biociências
Aplicadas à Farmácia para obtenção do título de
mestre em Biociências Aplicadas à Farmácia.

Área de Concentração: Biociências Aplicadas à
Farmácia.

Orientador: Profº. Drº. Marcelo Dias Baruffi

RIBEIRÃO PRETO

2007

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues, Lílian Cataldi

Participação da galectina-1 na evolução da histoplasmose experimental / Lílian Cataldi Rodrigues; orientador: Marcelo Dias Baruffi. - Ribeirão Preto, 2007, 90 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia. Área de Concentração: Biociências Aplicadas à Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

1. Galectina-1. 2. Inflamação 3. *Histoplasma capsulatum*.
4. Modulação da resposta imunológica 5. Citocinas
6-Eicosanóides

RESUMO

Rodrigues, L.C. **Participação da galectina-1 na evolução da histoplasmose experimental.** 2007. 90 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2007.

A galectina-1 (Gal-1) pertence a uma família de lectinas endógenas que reconhecem β -galactosídeos e atuam em vários processos biológicos. A Gal-1 pode modular a resposta imunológica por vários mecanismos incluindo o controle da liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias e o direcionamento dessa resposta para um padrão do tipo “T_H2”. Apesar da Gal-1 participar de vários processos fisiopatológicos, na literatura não existe relatos sobre o papel dessa lectina em infecções fúngicas. O objetivo deste trabalho foi investigar o impacto biológico da Gal-1 no modelo experimental de histoplasmose murina. Os camundongos (Gal-1^{-/-} e Gal-1^{+/+}) foram inoculados, por via intratraqueal, com uma carga fúngica sub-letal (5x10⁵ leveduras) e a sobrevivência desses animais foi avaliada até o 30º dia de infecção. Considerando que o início da mortalidade dos animais ocorreu após duas semanas de infecção, as demais análises foram realizadas em amostras obtidas no 15º dia. O grau de disseminação do *H. capsulatum* foi analisado pela contagem do número de unidades formadoras de colônia, em partes de pulmões ou baços dos animais infectados. Os cortes de pulmões foram corados por hematoxilina eosina ou por prata (GMS), para investigação histopatológica e quantificação de neutrófilos ou fungos, respectivamente. Nos fluídos bronco-alveolares (BAL) foram realizadas contagens globais e diferenciais de leucócitos. As dosagens de citocinas e de prostagladina E₂ foram feitas por ELISA, em homogeneizados de pulmões. A coloração por tetróxido de ósmio foi usada na avaliação da capacidade da Gal-1 de induzir ou modular a formação de corpúsculos lipídicos, *in vitro*, por componentes do fungo. Nos soros dos animais de experimentação foi determinada a concentração total de nitrito, como indicador da produção de óxido nítrico. A análise dos resultados de sobrevivência indicou que 100% dos animais Gal-1^{+/+} resistiram à infecção por *H. capsulatum*; ao contrário, apenas 33% dos animais Gal-1^{-/-} sobreviveram. Os números médios de unidades formadoras de colônias recuperadas no pulmão e no baço de camundongos Gal-1^{-/-} foram de 2,7 e 3,8 vezes maiores do que os obtidos de animais Gal-1^{+/+},

respectivamente. De modo semelhante, os números médios de neutrófilos e fungos no pulmão de animais Gal-1^{-/-}, foram superiores aos valores encontrados nos pulmões de animais grupo Gal-1^{+/+}. Curiosamente, nos homogeneizados pulmonares dos animais deficientes de Gal-1, foi detectado 2,5 vezes mais PGE₂ e o dobro da concentração de nitrito total sérico. Além disso, nos homogeneizados de pulmão dos animais Gal-1^{-/-} desafiados com o fungo, detectou-se elevadas concentrações de citocinas do tipo T_H1 e inflamatórias (IFN- γ , IL-1 e IL-12) em comparação com amostras de animais selvagens. Em ensaios *in vitro*, esta lectina não foi capaz de induzir corpúsculos em células do lavado peritoneal de camundongos Gal-1^{+/+} e Gal-1^{-/-}, entretanto inibiu parcialmente a formação induzida por F1 e β -glucana. Finalmente, sugerimos que a Gal-1 pode participar da montagem de uma resposta imunológica protetora contra o *Histoplasma capsulatum*, por modular a liberação de citocinas inflamatórias, síntese de eicosanóides, geração de óxido nítrico; e por controlar a migração e/ou as funções de leucócitos. Além disso, os dados obtidos desse trabalho poderão auxiliar no melhor entendimento da fisiopatologia da histoplasmose e no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas envolvendo o reconhecimento de carboidratos na resposta imunológica.

Palavras chave: galectina-1, inflamação, *Histoplasma capsulatum*, modulação da resposta imunológica, citocinas, eicosanóides

1) INTRODUÇÃO

1.1) Lectinas: uma abordagem histórica e aspectos gerais

Lectinas são proteínas capazes de reconhecer carboidratos de modo específico: associados (glicoconjugados), ou não, a outras moléculas como proteínas e lipídeos (SHARON; LIS, 1986; LIS; SHARON, 1998; VARKI *et al.*, 1999). Originalmente, as lectinas foram identificadas em plantas como proteínas que apresentavam a habilidade de aglutinar eritrócitos de diferentes tipos sanguíneos de modo seletivo (revisado por SHARON; LIS, 1972). BOYD E SHAPLEIGH (1954) consideraram a atividade hemaglutinante dessas proteínas para cunharem o nome lectina, do latim *legere*, escolher, reconhecer ou discriminar. SHARON E LIS (1972) propuseram a generalização do termo lectina para toda proteína com capacidade de reconhecer açúcar de modo específico de origem não imune.

As lectinas estão presentes em vários organismos, desde vírus a seres humanos (SHARON; LIS, 1989; KARLSSON, 1995; LIS; SHARON, 1998). Provavelmente, o primeiro registro da literatura sobre a presença de atividade lectínica em animais foi feito por FLEXNER E NOGUCHI (1902). Eles demonstraram que o veneno de serpente *Crotalus durissus* era capaz de promover a aglutinação de eritrócitos humanos (citado em KILPATRICK, 2002).

A primeira evidência direta da existência de lectinas em mamíferos foi obtida a partir de estudos que demonstraram que a meia-vida de glicoproteínas séricas poderia ser controlada por atividade lectínica presente no fígado de coelhos (ASHWELL; MORELL, 1972). A continuação do trabalho destes pesquisadores levou ao isolamento pioneiro de uma lectina de mamífero, ela foi purificada do fígado de coelhos, ligava-se a resíduos de galactose e foi denominada receptor hepático para asialoglicoproteínas (STOCKERT *et al.*, 1974; HUDGIN *et al.*, 1974).

A partir de meados de 70, vários achados sobre lectinas de origem animal e ligantes β -galactosídeos foram descritos. BARONDES *et al.* (1994), propuseram a criação da família das galectinas para agrupar essas proteínas. A “eletrolectin” foi o primeiro membro dessa família, ela foi isolada a partir de tecidos de peixe elétrico (TEICHBERG *et al.*, 1975). Ainda nessa época, foram descritas as primeiras lectinas ligantes de β -galactosídeos derivadas de

mamíferos (de WAARD *et al.*, 1976), as quais foram posteriormente definidas com galectina-1 e 3 (BARONDES *et al.*, 1994).

Há uma enorme diversidade estrutural de glicoconjugados nos seres vivos, a qual pode estar associada a uma grande diversidade biológica, pois estas glico-estruturas podem codificar diversas informações biológicas que podem ser decodificadas por lectinas (SHARON; LIS, 1989; LIS; SHARON, 1998; vide representação esquemática1).

Representação esquemática 1: Interações lectinas-carboidratos.

Lectinas mediam interações célula-célula e/ou célula-matriz extracelular através do reconhecimento específico de glicoconjugados. A interação lectina-carboidrato pode promover a ligação de moléculas bioativas em componentes celulares. As lectinas podem participar de vários eventos biológicos como: infecção microbiana; defesa de plantas; síntese de glicoproteínas; imunidade inata e resposta inflamatória; ativação, proliferação e crescimento celulares; apoptose; embriogênese e fertilização. (Figura baseada em original descrita por SHARON E LIS, 2004 e, disponibilizada no endereço: www.bioiberica.com/.../images/matriz.jpg).

Portanto, o reconhecimento de carboidratos por lectinas é um fenômeno bioquímico associado a vários processos fisiológicos e/ou patológicos como fertilização, embriogênese, migração, proliferação e diferenciação celulares, defesa imunológica, infecção por microorganismos e, câncer (SHARON; LIS,

1986; SHARON; LIS, 1989; LIS; SHARON, 1998; SANTOS-DE-OLIVEIRA *et al.*, 1994; DIAS-BARUFFI *et al.*, 2003; LIU; RABINOVICH, 2005). Além disso, lectinas podem ser utilizadas como ferramentas na pesquisa básica e aplicadas (SANTOS-DE-OLIVEIRA *et al.*, 1994; SANTUCCI *et al.*, 2003; ROGÉRIO *et al.*, 2007, SHARON, 2007).

Nas superfícies das células de vertebrados existe uma camada de glicoconjugados composta por glicoproteínas, glicolipídios e glicosaminoglicanos, conhecida por “glycocalix” que pode ser alvo para diferentes lectinas (VARKI *et al.*, 1999). Geralmente, as lectinas são moléculas multivalentes que podem estabelecer pontes entre células e matriz extracelular, através do reconhecimento concomitante de glicanas contidas em ambas as estruturas (SHARON; LIS, 1993).

Em linhas gerais, o reconhecimento de carboidratos pelas lectinas é um evento reversível que se manifesta por meio de um equilíbrio químico regido pela lei da ação das massas. Assim, a afinidade química de uma lectina por seu ligante pode ser definida a partir da constante desse equilíbrio (VARKI *et al.*, 1999). As ligações químicas mais comuns envolvidas na combinação entre lectinas e glicanas são pontes de hidrogênio (sendo às vezes mediadas pela água), ligações hidrofóbicas, interações eletrostáticas (menos freqüentes) e coordenação por metais (revisto por, SHARON, 2007).

A capacidade das lectinas de se ligar especificamente a açúcares é atribuível a uma porção globular e limitada dessas moléculas, denominada domínio de reconhecimento de carboidrato (CRD) (WEIS; DRICKAMER, 1996, DOBB; DRICKAMER, 2001). Os CRDs de muitas lectinas relacionam-se entre si, quanto à seqüência de aminoácidos e a especificidade de carboidratos, o que faz com que muitas lectinas conhecidas possam ser agrupadas em famílias (WEIS; DRICKAMER, 1996; DOBB; DRICKAMER, 2001). Uma das famílias de lectinas animais mais estudada é a das galectinas, sendo que, inicialmente, os membros dessa família foram caracterizados como lectinas tipo-S ou Lac-S por reconhecerem β -galactosídeos de modo dependente de estado de oxidação de seus grupos sulfidrílicos presentes em cisteínas livres e independente de íons cálcio (BARONDES *et al.*, 1994; COOPER; BARONDES, 1999). Na atualidade, sabe-se que a propriedade lectínica das galectinas não é, necessariamente, dependente de grupos sulfidrílicos (KILPATRICK, 2002).

1.2) Galectinas

As galectinas são lectinas de mamíferos que apresentam seqüências de consenso de aminoácidos no CRD e reconhecem preferencialmente unidades repetidas de lactosaminas, polilactosaminas, com resíduos de galactose acessíveis (BARONDES *et al.*, 1994; STOWELL *et al.*, 2004; LOPEZ-LUCENDO *et al.*, 2004). A importância biológica das galectinas pode ser ilustrada pela elevada conservação evolucionária e pela ampla distribuição dessas proteínas, pois distintos tecidos e/ou células de diferentes organismos (protozoários a seres humanos) podem expressar essas lectinas ou seus homólogos (RUBINSTEIN *et al.*, 2004a). Estudos termodinâmicos e biológicos mostram que apesar dessas proteínas reconhecerem lactosaminas como requisito químico mínimo, elas podem apresentar diferenças sutis de especificidade no reconhecimento de carboidratos. Por exemplo, a galectina-1, e não a galectina-3, liga-se com maior afinidade para resíduos de galactose terminais do que os internos em polilactosaminas (AHMAD *et al.*, 2004., STOWELL *et al.*, 2004). Nessa linha, tem sido descrito que as galectinas 1 e 3 podem reconhecer distintas glicanas na superfície de células T e isto pode influenciar diferencialmente a produção de citocinas e a apoptose dessas células (STILLMAN *et al.*, 2006; TOSCANO *et al.*, 2007; VAN DER LEIJ *et al.*, 2007).

Atualmente já foram descritas 15 galectinas derivadas de mamíferos e todas apresentam um CRD com aproximadamente 130 resíduos de aminoácidos. HIRABAYASHI E KASAI (1993) classificaram as galectinas em 3 categorias: “proto-type”, químera e “tandem repeat-type”. As primeiras possuem um único tipo de CRD e se apresentam com monômeros ou dímeros com CRD idênticos associados de modo não-covalente (galectinas: 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14 e 15). A galectina-3 representa o tipo químera, ela tem um CRD e um domínio não-lectínico envolvido em sua oligomerização. As galectinas 4, 6, 8, 9 e 12 são conhecidas como “Tandem repeat-type” por apresentarem dois CDRs distintos unidos por pequeno peptídeo ligador (RUBINSTEIN *et al.*, 2004a ; LIU *et al.*, 2005, vide esquema representativo 2).

Galectinas: 1 - 2 - 7- 10 - 11- 13- 14 - 15

Galectina: 3

Galectinas: 4 - 6 - 8 - 9 - 12

Representação esquemática 2: Membros da família das galectinas.

Adaptado de RUBINSTEIN et al., 2004b.

A maioria das galectinas apresenta características de proteínas citoplasmáticas como região N-terminal acetilada, presença de grupos sulfidrílicos não-oxidados (livres) e ausência de glicosilação (RUBINSTEIN *et al.*, 2004a e b). Entretanto, as galectinas podem estar localizadas na superfície celular, matriz extracelular, citoplasma e núcleo (RUBINSTEIN *et al.*, 2004a). Apesar de essas proteínas serem detectadas no meio extracelular, elas não apresentam peptídeo sinal, sendo secretadas pelas células por mecanismo não clássico e independente do retículo endoplasmático e do complexo de Golgi (HUGHES, 1999). Dados da literatura sugerem que a galectina-1 (Gal-1) pode ser secretada pela translocação direta do citosol através da membrana plasmática com auxílio de fatores do citosol e da membrana, como descrito para o fator-2 de crescimento de fibroblasto (SCHÄFER *et al.*, 2004; NICKEL *et al.*, 2005). Como as galectinas são bivalentes, elas podem promover no meio extracelular o intercruzamento de glicoconjugados da superfície das células e induzir eventos de transdução de sinal por meio da formação de agrupamentos de receptores e de uma malha (galectina-receptor) na superfície celular (BREWER, *et al.*, 2002). Já no meio intracelular, os eventos biológicos das galectinas parecem não depender de sua propriedade lectínica e nesse microambiente elas podem participar do processamento de RNA e da regulação da homeostasia celular (LIU *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2004). Interessantemente, as galectinas podem exercer efeitos antagônicos em

função da localização destas proteínas no meio intra ou extracelulares (YANG *et al.*, 1996; FUKUMORI *et al.*, 2003).

As galectinas são moléculas multifuncionais que participam de vários processos biológicos como controle da adesão, proliferação e ciclo celulares, apoptose, gênese de tumores, fagocitose e processamento de RNA (PERILLO *et al.*, 1995; LIU *et al.*, 2002; DIAS-BARUFFI *et al.*, 2003; LEFFLER *et al.*, 2004; RUBINSTEIN *et al.*, 2004a, STOWELL *et al.*, 2007). As galectinas também podem estar associadas ao risco de infarto do miocárdio e ao controle de processo inflamatório (TANAKA; OZAKI, 2006; OZAKI *et al.*, 2004; TOSCANO *et al.*, 2006).

1.3) A Galectina-1 é uma lectina multifuncional de mamífero que reconhece β -galactosídeos

A Gal-1 foi o primeiro membro dessa família de lectinas de mamíferos e uma das mais estudadas. O gene da galectina-1 em humanos está localizado no cromossomo 22 entre as regiões q12-q13 e em camundongos na região E do cromossomo 15 (GITT; BARONDES, 1991; BALDINI *et al.*, 1993). Esta lectina é um homodímero de 28000 Da, associado de modo não covalente apresentando uma constante de dissociação de $\sim 7\mu\text{M}$ (CHO; CUMMINGS, 1995). A expressão da Gal-1 é verificada em vários tecidos. Em condições normais, a Gal-1 está expressa em músculos, timo, próstata, fígado, baço, células endoteliais, pele e cérebro em desenvolvimento (YANG; LIU, 2003). Recentemente, foi descrito que a Gal-1 pode participar da fisiologia (CASE *et al.*, 2007), e do desenvolvimento embrionário de pulmão (FOSTER *et al.*, 2006). Já em condições patológicas, a Gal-1 é expressa em carcinomas de tireóide, cólon, ovário, melanoma e linfoma (PERILLO *et al.*, 1998). Vários agentes podem induzir a expressão de galectina-1 como, por exemplo, o estrógeno (TAHARA *et al.*, 2003), lipoproteína de baixo peso molecular minimamente oxidada e citocinas (BAUM *et al.*, 1995).

Já foram descritos vários ligantes para a Gal-1 incluindo os localizados na superfície celular, com as integrinas; nos lisossomos, com as proteínas de membrana lisossomal 1 e 2; no citoplasma, com o oncogene H-Ras; no núcleo,

com ribonucleoproteínas e Gemin-4; e na matriz extracelular, com laminina e fibronectina (CAMBY *et al.*, 2006).

A maioria dos efeitos biológicos da Gal-1 são dependentes de sua propriedade lectínica e a oxidação dos grupos sulfidrílicos de suas cisteínas impede o reconhecimento de carboidratos por esta lectina (VARKI *et al.*, 1999). O meio intracelular apresenta caráter redutor enquanto o extracelular é oxidante. Portanto, segundo alguns autores, a preservação da atividade lectínica da Gal-1 no meio extracelular ou em condições experimentais *in vitro* é dependente da ligação imediata dessa proteína aos seus ligantes e/ou da presença de agentes redutores com 2-ME (BAUM *et al.*, 1995, VARKI *et al.*, 1999; DIAS-BARUFFI *et al.*, 2003, STOWELL, *et al.*, 2007). Entretanto, a Gal-1 oxidada, forma sem atividade lectínica, é capaz de promover crescimento axonal de neurônios da raiz dorsal após a instalação de lesão de nervos periféricos (KADOYA *et al.*, 2005).

1.4) O papel da galectina-1 na resposta imunológica

Tem sido descrito que a Gal-1 pode modular negativamente a resposta inflamatória, pois essa lectina é capaz de inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias por células T (RABINOVICH *et al.*, 1999a e b). Nessa linha, foi demonstrado que o efeito antiinflamatório da Gal-1 pode ser exercido através da inibição da secreção de IL-2, Interferon γ (INF- γ) e TNF- α (ILARREGUI *et al.*, 2005). Além disso, estudos *in vivo*, de inflamação crônica e autoimunidade, mostram a capacidade da Gal-1 de modular o balanço da resposta inflamatória em direção a resposta T_H-2, com diminuição dos níveis de IFN- γ e aumento dos níveis de secreção de IL-5 ou IL-10 por estas células (SANTUCCI *et al.*, 2003; BAUM *et al.*, 2003). Estudos com tecidos humanos têm mostrado que galectina-1 induz a produção de IL-10 por linfócitos T (VAN DER LEIJ *et al.*, 2004). Nessa linha, foi descrito que esta lectina pode modular a uveíte autoimune experimental por promover ao mesmo tempo uma resposta tipo T_H2 e modular negativamente a liberação de citocinas pró-inflamatórias (TOSCANO *et al.*, 2006).

Dados da literatura mostram que Gal-1 induz apoptose em timócitos periféricos e em desenvolvimento (PERILLO *et al.*, 1995; RABINOVICH *et al.*,

1997; RABINOVICH *et al.*, 1998). Foi demonstrado que a Gal-1 induz apoptose dos timócitos corticais *in vitro*, sugerindo que a Gal-1 tem um papel na manutenção da tolerância central (PERILLO *et al.*, 1997). A presença de Gal-1 em células T ativadas, mas não em células T em repouso, sugere um mecanismo autócrino de suicídio para manutenção da homeostasia durante o término da resposta imunológica (BLASSER *et al.*, 1998).

Em relação ao potencial pró-apoptótico da Gal-1, existem relatos contraditórios na literatura. As células T linfoblastóides da linhagem CEM quando tratadas com Gal-1 não apresentaram marcação com 7-aminoactinomicina D, um conhecido indicador de apoptose (PERILLO *et al.*, 1995). Em outros estudos, demonstrou-se que Gal-1 induz apoptose em células CEM e em células de linhagem T MOLT-4, indicada pela monitorização da exposição de fosfatidilserina (FS) (PACE *et al.*, 1999; PACE *et al.*, 2000), um fosfolípido de membrana que pode ser expresso na superfície de células apoptóticas (MARTIN *et al.*, 1995) e não-apoptóticas (FRASCH *et al.*, 2000). Ao contrário, mostrou-se que apesar da Gal-1 induzir a exposição de FS na superfície de células MOLT-4, estas não entram em apoptose, pois não se detectou fragmentação de DNA e perda da capacidade proliferativa nessas células após tratamento com Gal-1 (DIAS-BARUFFI *et al.*, 2001; DIAS-BARUFFI *et al.*, 2003; STOWELL *et al.*, 2007). Além disso, Gal-1 dimérica promove a exposição de FS na superfície de neutrófilos pré-ativados e a fagocitose dessas células e das células MOLT-4. Assim, estes autores sugerem que a fagocitose de leucócitos, na ausência de apoptose, é uma das vias pela qual a Gal-1 pode modular a homeostasia leucocitária e a resolução da inflamação. Nessa linha, CHUNG *et al.* (2000) demonstraram que a Gal-1 pode promover a fosforilação parcial da cadeia zeta do receptor de células T e este fato pode inibir os eventos iniciais da ativação dessas células sem promover apoptose. Atualmente, sugere-se que a participação da apoptose nos eventos imunoregulatórios de induzidos pela Gal-1, relacionados ao controle da resposta imunológica adaptativa e da inflamação, podem ocorrer em função do tipo celular, do microambiente e do padrão de glicosilação das células alvo (BIANCO, *et al.*, 2006).

Recentemente, foi relatado que animais deficientes do gene da Gal-1 ou que células T CD4⁺CD25⁺ destituídas do RNA mensageiro para essa lectina

deixaram de manifestar suas funções regulatórias (GARIN *et al.*, 2007). Além disso, a Gal-1 pode promover a apoptose de células T produtoras de citocina pró-inflamatória IL-17 (T_H-17) e não de células T_H2 produtoras de IL-10 e TGF- β (citocinas com caráter anti-inflamatório) por meio de reconhecimento diferencial de glicanas na superfícies dessas células (TOSCANO *et al.*, 2007). De modo interessante, células associadas a linfomas de Hodgkin, podem promover o escape da resposta imunológica antitumoral desses linfomas, por expressar grandes quantidades de Gal-1 (JUSZCZYNSKI *et al.*, 2007). Segundo esses autores, a Gal-1 está envolvida neste processo de escape imunológico por favorecer a secreção de citocinas T_H2 e a expansão de células T regulatórias do tipo CD4+, CD25(*high*) e FOXP3+.

De modo interessante, vários dados da literatura sugerem o uso da Gal-1 com um agente terapêutico para doenças inflamatórias e autoimunes. Nessa linha, a administração *in vivo* da Gal-1 tem sido usada com sucesso na prevenção da instalação da inflamação crônica em modelos experimentais de encefalomielite autoimune (OFFNER *et al.*, 1990); colite (SANTUCCI *et al.*, 2003); pancreatite crônica (WANG *et al.*, 2000). A Gal-1 pode também bloquear eventos da resposta inflamatória aguda, pois ela foi capaz de inibir o edema e o extravasamento de neutrófilos em resposta ao desafio *in vivo* com fosfolipase A2 (RABINOVICH *et al.*, 2000). Além disso, estes autores mostraram que Gal-1, *in vitro*, é capaz de inibir a liberação do ácido aracdônico e a produção de prostaglandina E2, a produção de NO e a expressão de iNOS por macrófagos peritoneais de ratos estimulados com LPS. (CORREA *et al.*, 2003). GIL *et al.* (2006a), reportaram que a injeção intravenosa de Gal-1 inibe o recrutamento de neutrófilos para a cavidade peritoneal de ratos desafiados com carragenina (GIL *et al.*, 2006b). Além disso, segundo alguns pesquisadores o efeito anti-inflamatório de glicocorticóides em pacientes com pólio nasal pode estar parcialmente relacionado ao aumento da expressão de anexina-1 e Gal-1 no epitélio nasal destes pacientes (SENA *et al.*, 2006). Ainda, como base numa abordagem imunomodulatória, foi descrito que galectina-1 pode controlar diferentemente, de modo dose dependente, a expressão de moléculas imunoregulatórias, diminuindo a expressão de Fc γ RI e MHC-II, modulando a atividade fagocítica de macrófagos dependente de Fc γ RI e alterando a apresentação de

antígenos via MHC-II, tanto em monócitos humanos quanto em macrófagos de camundongos (BARRIONUEVO *et al.*, 2007).

De modo similar a citocinas e fatores de crescimento, a galectina-1 parece exibir efeitos múltiplos, dependente de fatores intrínsecos como propriedades físico-químicas da proteína (equilíbrio químico dímero/monômero), a concentração e o estado de oxidação; e fatores extrínsecos relacionadas à célula alvo e ao microambiente (TOSCANO *et al.*, 2007). Nessa linha, ZUNIGA *et al.*, (2001) demonstraram que essa lectina bloqueia a produção de IL-12 nas células infectadas por *Trypanosoma cruzi*. Ainda neste modelo de infecção por *T. cruzi*, foi descrito que a galectina-1 parece modular a replicação da parasita em macrófagos peritoneais isolados de camundongos infectados. Quando adicionada em cultura, baixas concentrações da lectina aumentaram a replicação do *T. cruzi*, enquanto que, altas concentrações diminuíram o número de amastigotas intracelulares e tripomastigotas extracelulares, devido a indução da apoptose em macrófagos ativados (ZUNIGA *et al.*, 2001).

A Gal-1, em determinadas situações, pode apresentar um caráter pró-inflamatório, como a capacidade de promover a geração de radicais livres de oxigênio em neutrófilos humanos ativados (ALMKVIST *et al.*, 2002). Outro exemplo, foi recentemente descrito a partir de ensaios *in vitro* de infecção por Nipah vírus, nesse modelo a Gal-1 foi capaz de induzir a secreção de IL-6 em células dendríticas (LEVRONEY *et al.*, 2005). Além disso, células dendríticas imaturas tratadas com Gal-1 produzem altos níveis de IL-6 e TNF- α , mas não secretam a IL-12, uma citocina importante na polarização da resposta celular para o padrão T_H1 (FULCHER *et al.*, 2006). Portanto, a Gal-1 pode também participar do início da resposta imune adaptativa devido ao seu efeito indutor de maturação de células dendríticas e de migração dessas células para o sítio inflamatório (FULCHER *et al.*, 2006).

1.5) A infecção causada pelo *Histoplasma capsulatum*

O patologista Samuel Darling foi o primeiro a descrever o *Histoplasma capsulatum* há quase um século no Panamá (DARLING, 1906). O nome foi baseado em sua presença no interior de histiócitos (“Histo”), termo arcaico para macrófagos, sua semelhança a um protozoário (“plasma”) e a presença aparente de uma cápsula (“capsulatum”). Entretanto, apenas uma das três designações se mostrou verdadeira; o fato deste microorganismo ser um patógeno intracelular de macrófagos, embora presente também em neutrófilos. O *Histoplasma capsulatum* é um fungo dimórfico, parasita intracelular, não encapsulado, causador da histoplasmose, uma doença crônica e granulomatosa de ampla distribuição pelo mundo. No Brasil esta micose é endêmica em todas as regiões, sendo que inquéritos epidemiológicos demonstraram maior incidência nas regiões sudeste, sul e centro-oeste (UNIS *et al.*, 2004, CAPONE *et al.*, 1999).

Os mamíferos contraem a infecção pela inalação de conídios que alcançam os alvéolos onde são fagocitados (MEDOFF *et al.*, 1987; NEWMAN *et al.*, 1990). A conversão de conídios para leveduras pode variar de horas a dias sendo esta dependente da variação da temperatura (KIMBERLIN *et al.*, 1981). O dimorfismo celular do fungo caracteriza-se pela forma saprófita miceliana à temperatura ambiente (25°C) e pela forma de levedura a 37°C; esta última é responsável pela patogenia da doença (DEEPE, 1994). As leveduras são fagocitadas por macrófagos alveolares dentro dos quais se multiplicam. A proliferação das leveduras no interior da célula pode levar à destruição dos macrófagos fazendo com que macrófagos alveolares residentes e fagócitos profissionais recrutados no pulmão, fagocitem as leveduras recém liberadas, caracterizando um ciclo que culmina com a disseminação da infecção. (DEEP *et al.*, 1992). O mecanismo pelo qual *H. capsulatum* sobrevive dentro da célula está relacionado à modulação do microambiente dentro do fagossoma. (NEWMAN *et al.*, 1992 & EISSENBERG *et al.*, 1993) Em macrófagos murinos, a manutenção do pH a 6.5 no interior do fagossomo contendo *H. capsulatum*, protege as leveduras do efeito letal das hidrolases lisossomais, que requerem acidificação do pH para sua atividade ótima. Entretanto, em macrófagos humanos, o pH em torno de 6.5

parece ativar essas enzimas. Neste caso as leveduras parecem estar protegidas da exposição às hidrolases via inibição da fusão do fagolisossomo (NEWMAN *et al.*, 2006).

Em 95% dos indivíduos imunocompetentes, durante a primeira semana de infecção, ocorre intenso infiltrado de polimorfonucleares (PMN) no pulmão, seguido de infiltrado de células mononucleares e formação de granulomas compactos. A infecção nestes indivíduos evolui para cura espontânea, sendo esta a forma assintomática da infecção. No entanto, 5% dos indivíduos imunocompetentes manifestam a forma sintomática da infecção, nos quais a histoplasmose pulmonar aguda progride para a forma crônica, que pode ou não evoluir para forma disseminada (ZHOU, 1997). Acredita-se que nos indivíduos infectados a formação de granulomas compactos ou frouxos no pulmão é o que determina a contenção do fungo ao local da infecção ou sua disseminação para o baço, fígado, sistema nervoso central e glândulas adrenais, que são órgãos que possuem células do sistema mononuclear fagocítico (GOODWIN *et al.*, 1980). Com base em estudos clínicos, indivíduos que desenvolvem a forma disseminada da doença não apresentam reação inflamatória eficiente e nem formação de granulomas compactos que impedem a disseminação do fungo (PILLAY *et al.*, 1997). A inflamação granulomatosa é uma reação do tecido a diversos estímulos como bactérias, fungos e parasitas (CO *et al.*, 2004). O recrutamento de células inflamatórias e, conseqüentemente, a formação e manutenção de granulomas são processos dependentes, entre outros fatores, dos mediadores quimioatraentes liberados no local da inflamação (revisado por ADAMS, 1976). Os patógenos, uma vez delimitados, podem morrer ou permanecer em estado latente, conservando a capacidade de se replicarem e disseminarem, caso ocorra à desorganização do granuloma compacto (GOODWIN *et al.*, 1980; LIMAYE *et al.*, 2000).

Nos últimos anos a histoplasmose tornou-se um problema mundial devido à infecção ou reativação de infecções latentes em pacientes imunossuprimidos devido à quimioterapia contra câncer, desnutrição e infecção pelo vírus HIV. Nestes pacientes a histoplasmose pode evoluir para formas pulmonares graves ou infecções sistêmicas, em muitos casos levando os pacientes a óbito (NEWMAN, 1999).

1.6) Citocinas e leucotrienos na infecção fúngica

A ativação de macrófagos e padrão de resposta celular, dependente de linfócitos T auxiliares tipo I (“T_H1”) é fundamental na resposta imune adaptativa contra o *H. capsulatum*, sendo que a produção de TNF- α , IL-12, IFN- γ e moléculas microbidas como óxido nítrico (NO₂⁻) são essenciais para sua destruição. (DEEPE, 2000). Macrófagos peritoneais quando incubados com *H. capsulatum* produzem grandes quantidades de TNF- α (SMITH *et al.*, 1990), e este mediador também foi detectado no fluido do lavado brônquio alveolar (LBA) de camundongos infectados por via intranasal com leveduras do fungo.

A importância de TNF- α em infecções sistêmicas e pulmonares por *H. capsulatum*, em animais normais e imunes foi descrita por ALLENDOERFER; DEEPE (1997). Na histoplasmose pulmonar primária, a ausência de TNF- α resulta na diminuição da síntese de IL-12, citocina fundamental para indução de respostas imunes do padrão T_H1, como também inibe a produção de óxido nítrico. O bloqueio de TNF- α em infecções pulmonares secundárias resulta no aumento de IL-4 e IL-10 e o direcionamento da resposta imune para padrão humoral (“T_H2”). ALLENDOERFER; DEEPE (2000) descreveram as funções desempenhadas pelos dois receptores de TNF- α , TNFR1 e TNFR2 no decorrer da infecção. Em infecções primárias, os dois receptores são fundamentais, sendo TNFR1 relacionado à reação inflamatória e TNFR2 à geração de IFN- γ . Em infecções secundárias, somente TNFR1 é fundamental, sendo que seu bloqueio resultou na síntese exacerbada de IL-4 e IL-10. Estas citocinas apresentam atividade anti-apoptótica (PENG *et al.*, 2005). Desta maneira, o aumento na síntese de IL-4 e IL-10 em situações de bloqueio de TNF- α por anticorpos, interfere tanto no padrão de resposta imune como no processo de apresentação de antígenos oriundos de fagócitos infectados em processo de apoptose (PENG *et al.*, 2005). Recentes evidências tem demonstrado a importância da apoptose na geração de resposta imune adequada contra diversos patógenos intracelulares. MEDEIROS *et al.*, (2002) demonstraram a indução da atividade anti-apoptótica em leucócitos pelo *H. capsulatum*. Esse efeito ocorreu em detrimento da diminuição da expressão de Mac-1, que atua

induzindo e acelerando a apoptose de neutrófilos e conseqüentemente a homeostase celular no processo inflamatório.

Outras citocinas, como a IL-12, liberada predominantemente por macrófagos e células dendríticas, e IFN- γ , secretado por células NK e linfócitos T “helper” 1 (T_H1) (MOSMANN, 1986), participam de maneira significativa da resposta imune em camundongos infectados com *H. capsulatum*. Embora seja necessário um sinal adicional para ativação celular, estudos *in vitro* têm demonstrado que IFN- γ ativa macrófagos peritoneais murinos e essa ativação inibem o crescimento intracelular do fungo (LANE *et al.*, 1994). Além disso, a estimulação de macrófagos *in vitro* com IFN- γ resultou no aumento da expressão de iNOS, enzima responsável pela síntese de NO₂⁻, que apresenta atividade fungicida (LANE *et al.*, 1994). ZHOU *et al.*, (1995) relataram que a administração de IL-12 exógena foi indiretamente capaz de evitar a morte de camundongos infectados com inoculo letal de leveduras de *H. capsulatum*. Na histoplasmose murina foi demonstrado que a eficácia da resposta imune depende da liberação de IL-12 (ZHOU *et al.*, 1995 e 1998) e desta forma se desenvolve uma resposta potencialmente T_H1 com a indução da produção de IFN- γ essencial para resolução da infecção primária (DEEP *et al.*, 2006a).

Estudos recentes têm demonstrado também que os leucotrienos não participam apenas dos processos infecciosos como mediadores quimiotáticos envolvidos no recrutamento celular, mas parecem estar envolvidos na regulação da síntese de citocinas, sugerindo um importante papel deste mediador na resposta imune protetora contra o *H. capsulatum* (MEDEIROS *et al.*, 2004). Os leucotrienos são secretados por diferentes células, entre elas macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos (SAMUELSSON, 1983; LEWIS; AUSTEN, 1984). Dentre essas células destacam-se os macrófagos alveolares residentes, que são células responsáveis pela manutenção da esterilidade do espaço alveolar (LOHMANN-MATTHES *et al.*, 1994) e cuja capacidade fagocítica, microbicida e de síntese de leucotrienos, excede à dos macrófagos de outros tecidos. MEDEIROS *et al.* (2004), demonstraram o importante papel de leucotrienos na formação de granulomas na histoplasmose, uma vez que a ausência deste mediador inibiu a formação de granulomas compactos, resultando na multiplicação e disseminação do *H.*

capsulatum para o baço e aumento da mortalidade dos animais. Células do baço, provenientes de animais infectados com *H. capsulatum* e tratados com MK 886, um inibidor da síntese de leucotrienos, produzem menos IFN- γ e IL-12, assim como células do pulmão destes animais liberaram menos IL-2. Por outro lado, o tratamento dos animais infectados com MK 886 induziu aumento de TNF- α , IL-1, KC e IL-6 (MEDEIROS *et al.*, 2004).

Além do papel imunomodulador de leucotrienos na síntese de citocinas e quimiocinas, sabe-se que estes mediadores lipídicos contribuem para a produção de óxido nítrico, uma substância crítica para o controle da replicação de diferentes agentes infecciosos como fungos, bactérias e vírus (DREW & LEEUWENBURGH, 2002). CHEN *et al.* (2001) descreveram que a ausência de leucotrienos pode modular a síntese de NO. MEDEIROS *et al.* (2004) relatou que células do lavado broncoalveolar de animais infectados com *H. capsulatum*, quando estimuladas com LPS e IFN- γ , produziram níveis elevados de NO, e que a ausência de leucotrienos, resultante do tratamento dos animais infectados com MK 886, inibiu a síntese de óxido nítrico. O óxido nítrico também possui outras atividades sobre o sistema imune, nem sempre positivas. A supressão da atividade linfoproliferativa de células do baço de animais infectados nas primeiras semanas de infecção por *H. capsulatum* (WATSON *et al.*, 1985; DEEPE, *et al.*, 1986) é uma consequência da produção de óxido nítrico. O papel do óxido nítrico está associado não somente a proteção dos animais infectados, mas também na patologia estabelecida pelo excesso de produção dessa molécula (WU-HSIEH *et al.*, 1998).

1.7) Mediadores inflamatórios e a formação de corpúsculos lipídicos

O processo de ativação celular é acompanhado pelo rápido remodelamento de lipídios da membrana, com conseqüente ação de lípases (incluindo PLA₂, PLC, PLD e esfingomielinase) na geração de lipídios bioativos com funções intra e/ou extra-celulares. São eles: eicosanóides, PAF (fator de ativação plaquetária), diacilglicerídeos, ceramidas e autacóides. (SERHAN *et al.*, 1996). Estes mediadores lipídicos são importantes mensageiros em muitos processos fisiológicos além de essenciais para a resolução da inflamação e manutenção da homeostase tecidual (SERHAN *et al.*, 2006).

A geração de eicosanóides nos leucócitos, localizados em sítios inflamatórios, pode estar relacionada à formação de inclusões citoplasmáticas denominadas de corpúsculos lipídicos (BOZZA *et al.*, 1996b).

Os corpúsculos lipídeos são tipicamente escassos em leucócitos normais, mas caracteristicamente aumentam em número e tamanho *in vitro* após estímulo com LPS (PACHECO *et al.*, 2002), e *in vivo* em células associadas a processos inflamatórios, incluindo artrite (BOZZA *et al.*, 1996b), síndrome da angústia respiratória aguda (ARDS) (TRIGGIANI, *et al.*, 1995), síndrome hipereosinofílica (HES) (BOZZA *et al.*, 1998), infecção por *Trypanosoma cruzi* (MELO RC, *et al.*, 2003), sepsis (PACHECO *et al.*, 2002), infecção por *Mycobacterium bovis* (D'AVILA *et al.*, 2006), além de outros processos inflamatórios ou neoplásicos (BOZZA *et al.*, 2007).

Corpúsculos lipídicos são estruturas citoplasmáticas, não ligadas à membrana celular, apresentam uma camada periférica mais eletrodensa constituída por uma monocamada de fosfolipídios anfipáticos (glicolipídios e/ou esterol) envolvendo um centro hidrofóbico constituído principalmente de lipídios neutros, tais como triacilglicerol, (TAG), diacilglicerol (DAG) ou colesterol éster, além de proteínas associadas a eles (WAN *et al.*, 2007, JONHSON *et al.*, 1999, MURPHY 2001). Componentes da família de proteínas denominadas PAT (perilipina, proteína relacionada à diferenciação de adipócito-ADRP ou adipofilinas, TIP47 e S3-12), têm sido associadas aos corpúsculos lipídicos encontrados em diferentes tipos celulares (BRASAEMLE *et al.*, 1997). Estas proteínas parecem atuar na superfície do corpúsculo nos estágios iniciais de formação, agindo como um transportador de ácidos graxos da membrana

plasmática ou do citosol para sua superfície (GAO & SERRERO, 1999, NAKAMURA, *et al.*, 2003).

Para que os corpúsculos lipídicos sejam visualizados através de microscopia de luz ou eletrônica, é necessário à fixação apropriada e a coloração ou contraste específicos para lipídeos celulares, utilizando preferencialmente tetróxido de ósmio (OsO_4). Os corantes solubilizados em álcool, incluindo aqueles de coloração por Wright e Giemsa ou Rosenfeld, solubilizam estas estruturas (COIMBRA AND LOPEZ-VAZ, 1971; BOZZA *et al.*, 2007), impossibilitando o seu reconhecimento. Podem ser utilizadas ainda, sondas fluorescentes, incluindo “Nile red” (JACKSON *et al.*, 2004), ou sondas lipídicas fluorescentes como Bodipy®FL (DIDONATO *et al.*, 2003).

Dados da literatura sugerem que os corpúsculos lipídicos no processo inflamatório podem funcionar como estruturas intracelulares dinâmicas, envolvidas tanto na síntese de mediadores lipídicos como no armazenamento de mediadores protéicos com funções pró-inflamatórias (BANDEIRA-MELO *et al.*, 2002a, WELLER *et al.*, 1994). WELLER e colaboradores (1989) mostraram que o papel do corpúsculo na inflamação está parcialmente relacionado ao metabolismo do ácido araquidônico (AA). Ensaios com AA marcado radioativamente foram utilizados para esta investigação (WELLER & DVORAK, 1985, WELLER *et al.*, 1991). WELLER *et al.*, (1989 e 1991) constataram também que os corpúsculos lipídicos purificados incorporam araquidonato- H^3 . O araquidonato esterificado presente nos corpúsculos pode ser enzimaticamente liberado e agir localmente ou ser transportado dos corpúsculos para outros sítios da síntese de eicosanóides (WELLER AND DVORAK, 1994; YU, *et al.*, 1998).

Enzimas formadoras de eicosanóides como a lipoxigenase (LO), incluindo a 5-LO, a 15-LO e a cicloxigenase (COX) foram co-localizadas nos corpúsculos lipídicos. BOZZA *et al.* (1997) demonstraram que células não estimuladas apresentavam 5-LO no citosol, entretanto quando estas células eram estimuladas por PAF (fator de ativação plaquetária), a 5-LO era translocada para dentro dos corpúsculos. Nos neutrófilos, a formação de corpúsculos lipídicos induzido pelo PAF é mediada por mecanismos sensíveis à toxina pertussis (BOZZA, *et al.*, 1996a).

Deste modo, estímulos que inicializam o *priming* para a produção de eicosanóides (BAULDRY *et al.* 1991, STEWART *et al.*, 1990), derivados da via da LO e COX parecem estimular também a formação de corpúsculos lipídicos (BANDEIRA-MELO 2001; 2002a, BOZZA 1996a, 1996b 1997 e 1998).

Eosinófilos humanos ativados produzem preferencialmente o leucotrieno LTC₄ como produto da 5-LO (WELLER *et al.*, 1983). Leucotrienos são mediadores lipídicos derivados do AA pela via da 5-LO e são potentes quimioatraentes para neutrófilos e eosinófilos (SERHAN *et al.*, 2006, FACCIOLLI *et al.*, 1991). Interessantemente, a LTC₄ sintase foi encontrada em corpúsculos de eosinófilos (BANDEIRA-MELO *et al.*, 2001).

A participação de citocinas e fatores de crescimento têm sido demonstrados em corpúsculos lipídicos de leucócitos ativados. TNF- α parece estar co-localizado com corpúsculos lipídicos formados após estimulação *in vivo* com LPS e em neutrófilos e monócitos de pacientes com septosemia (PACHECO *et al.*, 2002). Corpúsculos lipídicos isolados de mastócitos de pulmão apresentaram fator de crescimento para fibroblasto (b-FGF), os quais foram também encontrados dentro dos grânulos secretórios desta mesma célula (DVORAK *et al.*, 2001). Além disso, RANTES e IL-6 sinalizam via CCR3 a síntese *de novo* de corpúsculos lipídicos em eosinófilos e basófilos. Ao mesmo tempo contribuem para a produção de leucotrieno LTC₄. (BANDEIRA-MELO *et al.*, 2001). A formação de corpúsculos lipídicos em eosinófilos também pôde ser evidenciada via estimulação simultânea das citocinas IL-5 e IL-3 sobre estas células (BOZZA *et al.*, 1998).

A resposta imunológica na histoplasmosse é complexa e multimediada. Além disso, nesta doença, pouco se conhece sobre a participação de lectinas e suas interações com células, citocinas, mediadores lipídicos e geração de óxido nítrico. Deste modo, o estudo do impacto biológico da galectina-1, uma lectina imunoregulatória, nesta infecção, poderá contribuir para o melhor entendimento da elaboração de uma resposta imunológica protetora a este fungo.

2) CONCLUSÃO

A galectina-1 pode participar da montagem de uma resposta imunológica protetora na histoplasmose experimental, uma vez que:

- Os camundongos C57BL/6 deficientes para o gene da Gal-1 são altamente sensíveis a infecção sub-letal por *H. capsulatum*;
- A disseminação do *H. capsulatum* é favorecida em animais destituídos do gene da Gal-1;
- A deficiência de Gal-1 endógena apresenta correlação positiva com o excesso de citocinas (inflamatórias e do tipo T_H1) e de PGE₂ nos pulmões de animais infectados com esse fungo;
- Os animais Gal-1^{-/-} infectados produzem altos níveis séricos de nitrito total;
- Os pulmões de animais Gal-1^{-/-} e infectados com *H. capsulatum* apresentam um elevado influxo de neutrófilos;
- A Gal-1 exógena não induz e inibe a formação de corpúsculos lipídicos induzidos *in vitro* por componentes do *H. capsulatum*.

3) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, DO. The granulomatous inflammatory response. A review. **The American journal of pathology**, Bethesda, v. 84, p. 164-91, 1976.

AHMAD, N.; GABIUS, H.J.; SABESAN, S.; OSCARSON, S.; BREWER, C.F. Thermodynamic binding studies of bivalent oligosaccharides to galectin-1, galectin-3, and the carbohydrate recognition domain of galectin-3. **Glycobiology**, New York, v. 14, n. 9, p. 817-25, sep. 2004.

ALLEN HL, DEEPE GS. Apoptosis modulates protective immunity to the pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum*. **The Journal of clinical investigation**. Ann Arbor, MI, Oct;115(10), p:2875-85, 2005.

ALLEENDOERFFER, R; DEEPE, GS Jr. Intrapulmonary response to *Histoplasma capsulatum* in gamma interferon knockout mice. **Infection and immunity**, Washington, DC, v. 65, p. 2564-2569, 1997.

ALLEENDOERFER, R.; DEEPE, GS JR. Regulation of infection with *Histoplasma capsulatum* by TNFR1 and -2. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, v. 165, p. 2657-2664, 2000.

ALMKVIST J, DAHLGREN C, LEFFLER H, KARLSSON A. Activation of the neutrophil nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase by galectin-1. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, v. 168(8), p. 4034-4, 2002.

ARONOFF DM, CANETTI C, PETERS-GOLDEN M. Prostaglandin E₂ inhibits alveolar macrophage phagocytosis through an E-prostanoid 2 receptor-mediated increase in intracellular cyclic AMP. **Journal of immunology**. Baltimore, MD, Jul 1;173(1), p. 559-65, 2004.

ASHWELL, G.; MORELL, A.G. Membrane glycoproteins and recognition phenomena. **Trends in Biochemical Science**, v. 2, p. 76-78, 1972.

BANDEIRA-MELO C, PHOOFULO M, WELLER PF. Extranuclear lipid bodies, elicited by CCR3-mediated signaling pathways, are the sites of chemokine enhanced leukotriene C₄ production in eosinophils and basophils. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore, MD, v. 276, p. 22779-22787, 2001.

BANDEIRA-MELO C, BOZZA PT, WELLER PF. The cellular biology of eosinophil eicosanoid formation and function. **The Journal of allergy and clinical immunology**, St. Louis, Mosby, v. 109, p. 393-400, 2002a.

BARONDES SH, CASTRONOVO V, COOPER DN, CUMMINGS RD, DRICKAMER K, FEIZI T, GITT MA, HIRABAYASHI J, HUGHES C, KASAI K, et al. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell*, Cambridge, v. 76, p. 597-8, 1994.

BARRIONUEVO P, BEIGIER-BOMPADRE M, ILARREGUI JM, TOSCANO MA, BIANCO GA, ISTURIZ MA, RABINOVICH GA. A novel function for galectin-1 at the crossroad of innate and adaptive immunity: galectin-1 regulates monocyte/macrophage physiology through a nonapoptotic ERK-dependent pathway. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Jan 1;178(1):436-45, 2007.

BALDINI, A.; GRESS, T.; PATEL, K.; MURESU, R.; CHIARIOTTI, L.; WILLIAMSON, P.; BOYD, Y.; CASCIANO, I.; WELLS, V.; BRUNI, C.B.; MALLUCCI, L.; SINISCALCO,

M. Mapping on human and mouse chromosomes of the gene for the beta-galactoside-binding protein, an autocrine-negative growth factor. **Genomics**, San Diego, v. 15, n. 1, p. 216-8, jan. 1993.

BAULDRY SA, WYKLE RL, BASS DA. Differential actions of diacyl- and alkylacylglycerols in priming phospholipase A₂, 5-lipoxygenase and acetyltransferase activation in human neutrophils. **Biochimica et biophysica acta**, Amsterdam, Jul 9;1084(2), p. 178-84, 1991.

BAUM LG, SEILHARMER JJ, PANG M, LEVINE WB, BEYNON D, BERLINER JA. Synthesis of an endogenous lectin, galectin-1, by human endothelial cells is up regulated by endothelial cell activation. **Glycoconjugate journal**, Boston, v. 12, p. 63-68, 1995.

BAUM LG, BLACKALL DP, ARIAS-MAGALLANO S, NANIGIAN D, UH SY, BROWNE JM, HOFFMANN D, EMMANOUILIDES CE, TERRITO MC, BALDWIN GCI. Amelioration of graft versus host disease by galectin-1. **Clinical immunology**, Orlando, FL, v. 109, p. 295-07, 2003.

BIANCO, G.A.; TOSCANO, M.A.; ILARREGUI, J.M.; RABINOVICH, G.A. Impact of protein-glycan interactions in the regulation of autoimmunity and chronic inflammation. **Autoimmunity reviews**, Amsterdam, v. 5, n. 5, p. 349-56, may. 2006.

BLASER C, KAUFMANN M, MULLER C, ZIMMERMANN C, WELLS V, MALLUCCI L, PIRCHER H. β -galactoside binding protein secreted by activated T cells inhibits antigen-induced proliferation of T cells **European journal of immunology**, Weinheim, v. 28, p. 2311-9, 1998.

BOYD WC, SHAPLEIGH E. Separation of individuals of any blood group into secretors and non-secretors by use of a plant agglutinin (lectin). **Blood**, Washington, DC, v. 9(12), p.1194-8, 1954.

BOZZA PT, PAYNE JL, GOULET JL, WELLER PF. Mechanisms of platelet-activating factor-induced lipid body formation: requisite roles for 5-lipoxygenase and de novo protein synthesis in the compartmentalization of neutrophil lipids. **The Journal of experimental medicine**, New York, NY, v. 183, p. 1515-1525, 1996a.

BOZZA PT, PAYNE JL, MORHAM SG, LANGENBACH R, SMITHIES O, WELLER PF. Leukocyte lipid body formation and eicosanoid generation: cyclooxygenase-independent inhibition by aspirin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 93, p. 11091-11096, 1996b.

BOZZA PT, YU W, PENROSE JF, MORGAN ES, DVORAK AM, WELLER PF. Eosinophil lipid bodies: specific, inducible intracellular sites for enhanced eicosanoid formation. **The Journal of experimental medicine**, New York, NY, v. 186, p. 909-920, 1997.

BOZZA PT, YU W, CASSARA J, WELLER PF. Pathways for eosinophil lipid body induction: differing signal transduction in cells from normal and hypereosinophilic subjects. **Journal of leukocyte biology**, New York, NY, v. 64, p.563-569, 1998.

BOZZA PT, MELO RC, BANDEIRA-MELO C. Leukocyte lipid bodies regulation and function: Contribution to allergy and host defense. **Pharmacology & therapeutics**, Oxford, Elmsford, NY, Jan;113 (1), p. 30-49. Epub 2006 Sep 1, 2007.

BRASAEMLE DL, BARBER T, WOLINS NE, SERRERO G, BLANCHETTE-MACKIE EJ, LONDOS C. Adipose differentiation-related protein is an ubiquitously expressed lipid storage droplet-associated protein. **Journal of lipid research**, Bethesda Md Federation of American Societies for Experimental Biology, Nov; 38(11), p. 2249-63, 1997.

BREWER CF, MICELI MC, BAUM LG. Clusters, bundles, arrays and lattices: novel mechanisms for lectin-saccharide-mediated cellular interactions. **Current opinion in structural biology**, London, UK, Oct; 12(5), p. 616-23, 2002.

CAIN JA, DEEPE GS. Evolution of the primary immune response to *Histoplasma capsulatum* in murine lung. **Infection and immunity**, Washington, DC, Apr; 66(4). p. 1473-81, 1998.

CALICH VL, PURCHIO A, PAULA CR. A new fluorescent viability test for fungi cells. **Mycopathologia**, Dordrecht Kluwer Academic, v. 66, p. 175-7, 1979.

CAMBY I, LE MERCIER M, LEFRANC F, KISS R. Galectin-1: a small protein with major functions. **Glycobiology**, New York, Nov; 16(11), p.137R-157R, 2006.

CAPONE D, WANKE B, MONTEIRO PC, LAZERA MS, DE NORONHA ANDRADE G, DO VALLE AC, MORENO AM, LONDERO AT. Chronic pulmonary histoplasmosis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Mycopathologia**, Dordrecht Kluwer Academic, v. 145(2), p. 75-9, 1999.

CASE, D.; IRWIN, D.; IVESTER, C.; HARRAL, J.; MORRIS, K.; IMAMURA, M.; ROEDERSHEIMER, M.; PATTERSON, A.; CARR, M.; HAGEN, M.; SAAVEDRA, M.; CROSSNO, J.; YOUNG, K.A.; DEMPSEY, E.C.; POIRIER, F.; WEST, J.; MAJKA, S. Mice deficient in galectin-1 exhibit attenuated physiological responses to chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension. **American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology**, Bethesda, v. 292, n. 1, p. L154-64, jan. 2007.

CHEN N, RESTIVO A, REISS CS. Leukotrienes play protective roles early during experimental VSV encephalitis. **Journal of neuroimmunology**, Amsterdam, v. 120(1-2), p. 94-102, 2001.

CHUNG, C.D.; PATEL, V.P.; MORAN, M.; LEWIS, L.A.; MICELI, M.C. Galectin-1 induces partial TCR zeta-chain phosphorylation and antagonizes processive TCR signal transduction. **Journal of immunology**, Baltimore, v. 165, n. 7, p. 3722-9, 1 oct. 2000.

CO DO, HOGAN LH, IL-KIM S, SANDOR M. T cell contributions to the different phases of granuloma formation. **Immunology letters**, Amsterdam, Mar 29; v. 92(1-2), p.135-42, 2004.

COIMBRA A, LOPES-VAZ A. The presence of lipid droplets and the absence of stable sudanophilia in osmium-fixed human leukocytes. **The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society**, New York, NY Sep;19(9), p. 551-7, 1971.

COOPER DN, BARONDES SH. God must love galectins; he made so many of them. **Glycobiology**, New York, NY, v. 9, p. 979-84, 1999.

CORREA SG, SOTOMAYOR CE, AOKI MP, MALDONADO CA, RABINOVICH GA. Opposite effects of galectin-1 on alternative metabolic pathways of L-arginine in resident, inflammatory, and activated macrophages. **Glycobiology**, New York, NY, Feb; 13(2), p. 119-28, 2003.

DARLING, S. T. A. A protozoan general infection producing pseudotubercles in the lungs and focal necroses in the liver, spleen and lymph nodes. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 46, p. 1283, 1906.

D'AVILA H, MELO RC, PARREIRA GG, WERNECK-BARROSO E, CASTRO-FARIA-NETO HC, BOZZA PT. Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin induces TLR2-mediated formation of lipid bodies: intracellular domains for eicosanoid synthesis in vivo. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Mar 1; 176(5), p. 3087-97, 2006.

DEEPE, G. S. Jr.; SMITH, J. G.; SONNENFELD, G.; DENMAN, D.; BULLOCK, W. E. Development and characterization of *Histoplasma capsulatum*-reactive T-cell lines and clones. **Infection and Immunity**, v. 54, p. 714-22, 1986.

DEEPE GS. Immune response to early and late *Histoplasma capsulatum* infections. **Current opinion in microbiology**, London ; New York. Aug; 3(4), p. 359-62, 2000.

DEEPE, G. S. Jr.; BULLOCK, W. E. Histoplasmosis. A granulomatous inflammatory response. In: GALLIN, J. I.; GOLDSTEIN, I. M.; SNYDERMAN, R. **Inflammation: basic principles and clinical correlates**. 2^a edição, New York: Raven Press Ltd, p. 943-58, 1992.

DEEPE, G. S. Role of CD8⁺ T cells in host resistance to systemic infection with *Histoplasma capsulatum* in mice. **The Journal of Immunology**, v.152, p.3491, 1994.

DEEPE GS, GIBBONS RS. Protective and memory immunity to *Histoplasma capsulatum* in the absence of IL-10. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Nov 15; 171(10), p. 5353-62, 2003.

DEEPE GS, GIBBONS RS. T cells require tumor necrosis factor- α to provide protective immunity in mice infected with *Histoplasma capsulatum*. **The Journal of infectious diseases**, Jan 15;193(2), p. 322-30, 2006a.

DEEPE GS, MCGUINNESS M. Interleukin-1 and host control of pulmonary histoplasmosis. **The Journal of infectious diseases**. Chicago, Sep 15; 194(6), p. 855-64, 2006b.

DIAS-BARUFFI, M.; ZHU, H.; MOON-JAE, C.H.O.; KARMAKAR, S.; MCEVER, R.P.; CUMMINGS, R.D. Galectin-1 induction of Adipogenesis in Human leukocytes. **Glycobiology**, New York, abstract, v. 11, n. 10, p. 889, oct. 2001.

DIAS-BARUFFI M, ZHU H, CHO M, KARMAKAR S, MC EVER RP, CUMMINGS RD. Dimeric Galectin-1 Induces Surface Exposure of Phosphatidylserine and Phagocytic Recognition of Leukocytes without inducing Apoptosis. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore, MD, v. 278, p. 41282-93, 2003.

DIDONATO D, BRASAEMLE DL. Fixation methods for the study of lipid droplets by immunofluorescence microscopy. **The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society**, New York, NY, Jun; 51(6), p. 773-80, 2003.

DODD, R.B.; DRICKAMER, K. Lectin-like proteins in model organisms: implications for evolution of carbohydrate-binding activity. **Glycobiology**, New York, v. 11, n. 5, p. 71R-9R, may, 2001.

DREW B, LEEUWENBURGH C. Aging and the role of reactive nitrogen species. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, NY, v. 959, p. 66-81, 2002.

DVORAK AM, MORGAN ES, WELLER PF. Ultrastructural immunolocalization of basic fibroblast growth factor to lipid bodies and secretory granules in human mast cells. **The Histochemical journal**, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, v. 33, p. 397-402, 2001.

EISSENBERG, L. G., W. E. GOLDMAN, AND P. H. SCHLESINGER. *Histoplasma capsulatum* modulates the acidification of phagolysosomes. **The Journal of experimental medicine**. New York, NY, v. 177, p. 1605–1611, 1993.

FACCIOLI LH, NOURSHARGH S, MOQBEL R, WILLIAMS FM, SEHMI R, KAY AB, WILLIAMS TJ. The accumulation of ¹¹¹In-eosinophils induced by inflammatory mediators, in vivo. **Immunology**, Oxford, v. 73, p. 222-227, 1991.

FOSTER JJ, GOSS KL, GEORGE CL, BANGSUND PJ, SNYDER JM. Galectin-1 in secondary alveolar septae of neonatal mouse lung. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, Bethesda, MD, Dec;291(6), p. L1142-9, 2006.

FRASCH SC, HENSON PM, KAILEY JM, RICHTER DA, JANES MS, FADOK VA, BRATTON DL. Regulation of phospholipid scramblase activity during apoptosis and cell activation by protein kinase Cdelta. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore, MD, vol. 275, p. 23065-73, 2000.

FUKUMORI, T.; TAKENAKA, Y.; YOSHII, T.; KIM, H.R.; HOGAN, V.; INOHARA, H.; KAGAWA, S.; RAZ, A. CD29 and CD7 mediate galectin-3-induced type II T-cell apoptosis. **Cancer research**, Chicago, v. 63, n. 23, p. 8302-11, 1 dec. 2003.

FULCHER JA, HASHIMI ST, LEVRONEY EL, PANG M, GURNEY KB, BAUM LG, LEE B. Galectin-1-matured human monocyte-derived dendritic cells have enhanced migration through extracellular matrix. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Jul 1; 177(1), p. 216-26, 2006.

GAO J, SERRERO G. Adipose differentiation related protein (ADRP) expressed in transfected COS-7 cells selectively stimulates long chain fatty acid uptake. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore, MD, Jun 11; 274(24), p. 16825-30, 1999.

GARÍN, M.I.; CHU, C.C.; GOLSHAYAN, D.; CERNUDA-MOROLLÓN, E.; WAIT, R.; LECHLER, R.I. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells. **Blood**, New York, v. 109, n. 5, p. 2058-65, 1 mar. 2007.

GIL CD, COOPER D, ROSIGNOLI G, PERRETTI M, OLIANI SM. Inflammation-induced modulation of cellular galectin-1 and -3 expression in a model of rat peritonitis. **Inflammation research**, Basel, Mar; 55 (3), 99-107, 2006a.

GIL CD, LA M, PERRETTI M, OLIANI SM. Interaction of human neutrophils with endothelial cells regulates the expression of endogenous proteins annexin 1, galectin-1 and galectin-3. *Cell biology international*, London, Apr; 30(4):338-44, 2006b.

GITT MA, BARONDES SH. Genomic sequence and organization of two members of a human lectin gene family. **Biochemistry**, Washington DC, v. 30(1), p. 82-9, 1991.

GONZALEZ MI, RUBINSTEIN N, ILARREGUI JM, TOSCANO MA, SANJUAN NA, RABINOVICH GA. Regulated expression of galectin-1 after in vitro productive infection with herpes simplex virus type 1: implications for T cell apoptosis. **International journal of immunopathology and pharmacology**, Silvi Marina (TE), Italy , Oct-Dec;18(4), p. 615-23, 2005.

GOODWIN RA, SHAPIRO JL, THURMAN GH, THURMAN SS, DES PREZ RM. Disseminated histoplasmosis: clinical and pathologic correlations. **Medicine**, Baltimore, MD, Jan;59(1), p. 1-33, 1980.

HENINGER E, HOGAN LH, KARMAN J, MACVILAY S, HILL B, WOODS JP, SANDOR M. Characterization of the Histoplasma capsulatum-induced granuloma. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Sep 1; 177(5), p. 3303-13, 2006.

HIRABAYASHI, J.; KASAI, K. The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. **Glycobiology**, New York, v. 3, n. 4, p. 297-304, aug. 1993.

HUDGIN, R.L.; PRICER, W.E.; ASHWELL, G.; STOCKERT, R.J.; MORELL, A.G. The isolation and properties of a rabbit liver binding protein specific for asialoglycoproteins. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore, v. 249, n. 17, p. 5536–5543, 10 sep. 1974.

HUGHES, R.C. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins. **Biochimica et biophysica acta**, Amsterdam, v.1473, n. 1, p. 172-85, 6 dec. 1999.

ILARREGUI, J.M.; BIANCO, G.A.; TOSCANO, M.A.; RABINOVICH, G.A. The coming of age of galectins as immunomodulatory agents: impact of these carbohydrate binding proteins in T cell physiology and chronic inflammatory disorders. **Annals of the Rheumatic disease**, London, v. 64, p. 96-03, nov. 2005.

JACKSON KE, KLONIS N, FERGUSON DJ, ADISA A, DOGOVSKI C, TILLEY L. Food vacuole-associated lipid bodies and heterogeneous lipid environments in the malaria parasite, Plasmodium falciparum. **Molecular microbiology**, Boston, MA Oct; 54(1), p. 109-22, 2004.

JOHNSON MM, VAUGHN B, TRIGGIANI M, SWAN DD, FONTEH AN, CHILTON FH. Role of arachidonyl triglycerides within lipid bodies in eicosanoid formation by human polymorphonuclear cells. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, New York, NY, v. 21, p. 253-258, 1999.

JUSZCZYNSKI P, OUYANG J, MONTI S, RODIG SJ, TAKEYAMA K, ABRAMSON J, CHEN W, KUTOK JL, RABINOVICH GA, SHIPP MA. The AP1-dependent secretion of galectin-1 by Reed Sternberg cells fosters immune privilege in classical Hodgkin lymphoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, Aug 1; [Epub ahead of print] 2007

KADOYA, T.; OYANAGI, K.; KAWAKAMI, E.; HASEGAWA, M.; INAGAKI, Y.; SOHMA, Y.; HORIE, H. Oxidized galectin-1 advances the functional recovery after peripheral nerve injury. **Neuroscience letters**, Amsterdam, v. 380, n. 3, p. 284-8, 3 jun. 2005.

KARLSSON KA. Microbial recognition of target-cell glycoconjugates. **Current opinion in structural biology**, London, UK, Oct; 5(5), p. 622-35, 1995.

KILPATRICK DC. Animal lectins: a historical introduction and overview. **Biochimica et biophysica acta**, Amsterdam, 1572(2-3), p. 187-97, 2002.

KIMBERLIN CL, HARIRI AR, HEMPEL HO, GODMAN N.L. Interaction between *Histoplasma capsulatum* and macrophages from normal and treated mice: comparison of the mycelial and yeast in alveolar and peritoneal macrophages. **Infection and immunity**, Washington, DC, v. 34, p. 6-10, 1981.

KOHATSU L, HSU DK, JEGALIAN AG, LIU FT, BAUM LG. Galectin-3 induces death of *Candida* species expressing specific beta-1,2-linked mannans. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Oct 1; 177(7), p. 4718-26, 2006.

LA M, CAO TV, CERCHIARO G, CHILTON K, HIRABAYASHI J, KASAI K, OLIANI SM, CHERNAJOVSKY Y, PERRETTI M. A novel biological activity for galectin-1: inhibition of leukocyte-endothelial cell interactions in experimental inflammation. **The American journal of pathology**, Bethesda, MD, vol. 163(4), p. 1505-15, 2003.

LANE TE, WU-HSIEH BA, HOWARD DH. Antihistoplasma effect of activated mouse splenic macrophages involves production of reactive nitrogen intermediates. **Infection and immunity**, Washington, DC, v. 62, p. 1940-5, 1994.

LEFFLER, H; CARLSSON, S; HEDLUND, M; QIAN, Y; POIRIER, F. Introduction to galectins. **Glycoconjugate journal**, Boston, v. 19, n. (7-9), p. 433-40, 2004.

LEVRONEY EL, AGUILAR HC, FULCHER JA, KOHATSU L, PACE KE, PANG M, GURNEY KB, BAUM LG, LEE B. Novel innate immune functions for galectin-1: galectin-1 inhibits cell fusion by Nipah virus envelope glycoproteins and augments dendritic cell secretion of proinflammatory cytokines. **Journal of immunology**, Baltimore, MD., Jul 1;175(1):413-20, 2005.

LEWIS RA, AUSTEN KF. The biologically active leukotrienes. Biosynthesis, metabolism, receptors, functions, and pharmacology. **The Journal of clinical investigation**, Ann Arbor, MI, v. 73, p. 889-97, 1984.

LIMAYE AP, CONNOLLY PA, SAGAR M, FRITSCHER TR, COOKSON BT, WHEAT LJ, STAMM WE. Transmission of *Histoplasma capsulatum* by organ transplantation. **The New England journal of medicine**, Boston, Oct 19; 343(16), p. 1163-6, 2000.

LIS H, SHARON N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. **Chemical reviews**, Washington, DC, 98(2), p. 637-674, 1998.

LIU FT. Regulatory roles of galectins in the immune response. **International archives of allergy and immunology**, Basel, New York, v. 136(4), p. 385-400, 2005.

LOHMANN-MATTHES ML, STEINMULLER C, FRANKE-ULLMANN G. Pulmonary macrophages. **The European respiratory journal: official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology**, Lausanne, Switzerland, v. 7, p. 1678-89, 1994.

LOPEZ-LUCENDO MF, SOLIS D, ANDRE S, HIRABAYASHI J, KASAI K, KALTNER H, GABIUS HJ, ROMERO A. Growth-regulatory human galectin-1: crystallographic characterisation of the structural changes induced by single-site mutations and their impact on the thermodynamics of ligand binding. **Journal of molecular biology**, New York, NY, v. 343(4), p. 957-70, 2004.

MARTIN SJ, REUTELINGSPERGER CP, MCGAHON AJ, RADER JA, VAN SCHIE RC, LAFACE DM, GREEN DR. Early redistribution of plasma membrane phosphatidylserine is a general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus: inhibition by overexpression of Bcl-2 and Abl. **The Journal of experimental medicine**, New York, NY, vol. 182, p. 1545-56, 1995.

MAYFIELD JA, RINE J. The genetic basis of variation in susceptibility to infection with *Histoplasma capsulatum* in the mouse. **Genes and immunity**, Houndmills, Basingstoke, Hampshire, UK Jul 12; [Epub ahead of print] 2007.

MEDEIROS AI, BONATO VL, MALHEIRO A, DIAS AR, SILVA CL, FACCIOLI LH. *Histoplasma capsulatum* inhibits apoptosis and Mac-1 expression in leucocytes. **Scandinavian journal of immunology**, Oxford: Blackwell Scientific Publications, v. 56, p. 392-398, 2002.

MEDEIROS AI, AS-NUNES A, SOARES EG, PERES CM, SILVA CL, FACCIOLI, L.H. Blockade of endogenous leukotrienes exacerbates pulmonary histoplasmosis. **Infection and immunity**, Washington, DC, v. 72(3), p.1637-1644, 2004.

MEDOFF G, KOBAYASHI GS, PAINTER A, TRAVIS S. Morphogenesis and pathogenicity of *Histoplasma capsulatum*. **Infection and immunity**, Washington, DC, v.55, p. 1355-8,1987.

MELO RC, D'AVILA H, FABRINO DL, ALMEIDA PE, BOZZA PT. Macrophage lipid body induction by Chagas disease in vivo: putative intracellular domains for eicosanoid formation during infection. **Tissue Cell**, Edinburgh, Feb; 35(1), p. 59-67, 2003.

MOISEEVA EP, JAVED Q, SPRING EL, DE BONO DP. Galectin 1 is involved in vascular smooth muscle cell proliferation. **Cardiovascular research**, Amsterdam Elsevier Science B.V., Jan 14; 45(2), p. 493-502, 2000.

MOSMANN TR, CHERWINSKI H, BOND MW, GIEDLIN MA, COFFMAN RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Apr1; 136(7), p. 2348-57, 1986.

MURPHY DJ. The biogenesis and functions of lipid bodies in animals, plants and microorganisms. **Progress in lipid research**, Oxford; Elmsford, NY, v. 40(5), p. 325-438, 2001.

NAKAMURA N, FUJIMOTO T. Adipose differentiation-related protein has two independent domains for targeting to lipid droplets. **Biochemical and biophysical research communications**, San Diego, CA, v. 306, p. 333-338, 2003.

NEWMAN SL, BUTCHER C, RHODES J. Phagocytosis of *Histoplasma capsulatum* yeast and microconidia by human cultured macrophages and alveolar macrophages.

Cellular cytoskeleton requirement for attachment and ingestion. **The Journal of clinical investigation**, Ann Arbor, MI, v. 85, p. 223-30, 1990.

NEWMAN, S. L., L. GOOTEE, R. MORRIS, AND W. E. BULLOCK. Digestion of *Histoplasma capsulatum* yeasts by human macrophages. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, v. 149, p. 574–580, 1992.

NEWMAN SL. Macrophages in host defense against *Histoplasma capsulatum*. **Trends in microbiology**, Cambridge, UK, Feb; 7(2), p. 67-71, 1999.

NEWMAN SL, GOOTEE L, HILTY J, MORRIS RE. Human macrophages do not require phagosome acidification to mediate fungistatic/fungicidal activity against *Histoplasma capsulatum*. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Feb 1;176(3), p. 1806-13, 2006.

NICKEL, W. Unconventional secretory routes: direct protein export across the plasma membrane of mammalian cells. **Traffic**, Copenhagen, v. 6, n. 8, p. 607-14, aug. 2005.

OFFNER H, CELNIK B, BRINGMAN TS, CASENTINI-BOROCZ D, NEDWIN GE, VANDENBARK AA. Recombinant human beta-galactoside binding lectin suppresses clinical and histological signs of experimental autoimmune encephalomyelitis. **Journal of neuroimmunology**, Amsterdam, vol. 28(2), p. 177-84, 1990.

OLIVEIRA, J. S. Investigação do impacto biológico da galectina-1 sobre neutrófilos.-70 f. Dissertação (mestrado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

OZAKI, K.; INOUE, K.; SATO, H.; IIDA, A.; OHNISHI, Y.; SEKINE, A.; SATO, H.; ODASHIRO, K.; NOBUYOSHI, M.; HORI, M.; NAKAMURA, Y.; TANAKA, T. Functional variation in LGALS2 confers risk of myocardial infarction and regulates lymphotoxin-alpha secretion in vitro. **Nature**, London, v. 429, n. 6987, p. 72–75, 6 may. 2004.

PACE KE, LEE C, STEWART PL, BAUM LG. Restricted receptor segregation into membrane microdomains occurs on human T cells during apoptosis induced by galectin-1. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, vol. 163(7), p. 3801-11, 1999.

PACE KE, HAHN HP, PANG M, NGUYEN JT, BAUM LG. CD7 delivers a pro-apoptotic signal during galectin-1-induced T cell death. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, v. 165(5), p. 2331-4, 2000.

PACHECO P, BOZZA FA, GOMES RN, BOZZA M, WELLER PF, CASTRO-FARIANETO HC, BOZZA PT. Lipopolysaccharide-induced leukocyte lipid body formation in vivo: innate immunity elicited intracellular Loci involved in eicosanoid metabolism. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, v.169, p. 6498-6506, 2002.

PENG JK, LIN JS, KUNG JT, FINKELMAN FD, WU-HSIEH BA. The combined effect of IL-4 and IL-10 suppresses the generation of, but does not change the polarity of, type-1 T cells in *Histoplasma* infection. **International immunology**, Oxford, Feb; 17(2), p. 193-205, 2005.

PERILLO NL, PACE KE, SEILHAMER JJ, BAUM LG. Apoptosis of T cells mediated by galectin-1. **Nature**, London, vol. 378(6558), p. 736-9, 1995.

PERILLO NL, UITTENBOGAART CH, NGUYEN JT, BAUM LG. Galectin-1, an endogenous lectin produced by thymic epithelial cells, induces apoptosis of human thymocytes. **The Journal of experimental medicine**, New York, NY, v.185, p. 1851-8, 1997.

PERILLO NL, MARCUS ME, BAUM LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. **Journal of molecular medicine**, Amsterdam, v. 76, p. 402-12, 1998.

PETERS-GOLDEN M, COFFEY M. Role of leukotrienes in antimicrobial defense of the lung. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, New York, NY, v. 132, p. 251-7, 1998.

PILLAY T, PILLAY DG, BRAMDEV A. Disseminated histoplasmosis in human immunodeficiency virus-infected African child. **The Pediatric infectious disease journal**, Baltimore, MD, Apr; 16(4), p. 417-8, 1997.

RABINOVICH, G.A.; MODESTI, N.M.; CASTAGNA, L.F.; LANDA, C.A.; RIERA, C.M.; SOTOMAYOR, C.E. Specific inhibition of lymphocyte proliferation and induction of apoptosis by CLL-I, a β -galactoside-binding lectin. **Journal of biochemistry**, Tokyo, v. 122, n. 2, p. 365–73, aug. 1997.

RABINOVICH, G.A.; IGLESIAS, M.M.; MODESTI, N.M.; CASTAGNA, L.F.; WOLFENSTEIN-TODEL, C.; RIERA, C.M.; SOTOMAYOR, C.E. Activated rat macrophages produce a galectin-1-like protein that induces apoptosis of T cells: biochemical and functional characterization. **Journal of immunology**, Baltimore, v. 160, n. 10, p. 4831–40. 15 may. 1998.

RABINOVICH GA, ARIEL A, HERSHKOVIZ R, HIRABAYASHI J, KASAI KI, LIDER O. Specific inhibition of T-cell adhesion to extracellular matrix and pro-inflammatory cytokine secretion by human recombinant galectin-1. **Immunology**, Oxford, vol. 97, p. 100–106, 1999a.

RABINOVICH GA, DALY G, DREJA H, TAILOR H, RIERA CM, HIRABAYASHI J, CHERNAJOVSKY Y. Recombinant galectin-1 and its genetic delivery suppress collagen-induced arthritis via T cell apoptosis. **The Journal of experimental medicine**, New York, NY, vol. 190(3), p. 385-98, 1999b.

RABINOVICH GA, SOTOMAYOR CE, RIERA CM, BIANCO I, CORREA SG. Evidence of a role for galectin-1 in acute inflammation. **European journal of immunology**, Weinheim, vol. 30(5), p. 1331-9, 2000.

ROGERIO, A.P.; CARDOSO, C.R.; FONTANARI, C.; SOUZA, M.A.; AFONSO-CARDOSO, S.R.; SILVA, E.V.; KOYAMA, N.S.; BASEI, F.L.; SOARES, E.G.; CALIXTO, J.B.; STOWELL, S.R.; DIAS-BARUFFI, M.; FACCIOLI, L.H. Anti-asthmatic potential of a D-galactose binding lectin from *Synadenium carinatum* latex. **Glycobiology**, New York, may. 2007 [No prelo; disponível em: <http://glycob.oxfordjournals.org/cgi/reprint/cwm053v1>].

RUBINSTEIN N, ILARREGUI JM, TOSCANO MA, RABINOVICH GA. The role of galectins in the initiation, amplification and resolution of the inflammatory response. **Tissue Antigens**, Copenhagen, Munksgaard, v. 64, p. 1-12, 2004.

RUBINTESTEIN, N.; OLARREGUI, J.M.; TOSCANO, M.A.; RABIONOVICH, G.A. The role of galectins in the initiation, amplification and resolution of the inflammatory response. **Tissue Antigens**, Copenhagen, v. 64, n. 1, p. 1-12, jul. 2004b.

SAMUELSSON B. Leukotrienes: a new class of mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. **Advances in prostaglandin, thromboxane, and leukotriene research**, New York, NY, v. 11, p.1-13, 1983.

SANTOS-DE-OLIVEIRA R, DIAS-BARUFFI M, THOMAZ SM, BELTRAMINI LM, ROQUE-BARREIRA MC. A neutrophil migration-inducing lectin from *Artocarpus integrifolia*. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, v. 153, n .4, p. 1798-807, 1994.

SANTUCCI L, FIORUCCI S, RUBINSTEIN N, MENCARELLI A, PALAZZETTI B, FEDERICI B, RABINOVICH GA, MORELLI A. Galectin-1 suppresses experimental colitis in mice. **Gastroenterology**, Philadelphia, PA, vol.124 (5), p. 1381-94, 2003.

SÃ-NUNES A, MEDEIROS AI, SORGI CA, SOARES EG, MAFFEI CM, SILVA CL, FACCIOLI LH. Gr-1(+) cells play an essential role in an experimental model of disseminated histoplasmosis. **Microbes and infection**, New York, Dec 12 [Epub ahead of print], 2006.

SCHÄFER, T.; ZENTGRAF, H.; ZEHE, C.; BRÜGGER, B.; BERNHAGEN, J.; NICKEL, W. Unconventional secretion of fibroblast growth factor 2 is mediated by direct translocation across the plasma membrane of mammalian cells. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore, v. 279, n. 8, p. 6244–6251, 20 feb. 2004.

SENA AA, PROVAZZI PJ, FERNANDES AM, CURY PM, RAHAL P, OLIANI SM. Spatial expression of two anti-inflammatory mediators, annexin 1 and galectin-1, in nasal polyposis. *Clinical and experimental allergy*, Oxford, Oct;36(10), p. 1260-7, 2006.

SEREZANI CH, CHUNG J, BALLINGER MN, MOORE BB, ARONOFF DM, PETERS-GOLDEN M. Prostaglandin E2 Suppresses Bacterial Killing in Alveolar Macrophages by Inhibiting NADPH Oxidase. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, New York, NY, Jun 21; [Epub ahead of print] 2007.

SERHAN CN. Inflammation. Signalling the fat controller. **Nature**, London, Nov 7; 384 (6604), p. 23-4, 1996.

SERHAN CN. Resolution Phases of Inflammation: Novel Endogenous Anti-Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators and Pathways. **Annual review of immunology**, Palo Alto, Calif., Nov 6; [Epub ahead of print] 2006.

SHARON N & LIS H. Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific proteins. **Science**, Washington, DC, v.177, p. 949–959, 1972.

SHARON N, LIS H. Lectin biochemistry. New way of protein maturation. **Nature**, London, v. 23(6085), p. 203-4, 1986.

SHARON N & LIS H. Lectins as cell recognition molecules. **Science**, Washington, DC, v. 246, p. 227-34, 1989.

SHARON N & LIS H. Carbohydrates in cell recognition. **Scientific American**, New York, NY, v. 268, p.82-9, 1993.

SHARON N & LIS H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, Oxford, v. 14, p. 53R-62R, 2004.

SHARON, N. Lectins: carbohydrate-specific reagents and biological recognition molecules. **The Journal of biological chemistry**, Baltimore, v. 282, n. 5, p. 2753-64, 2 feb. 2007.

SMITH JG, MAGEE DM, WILLIAMS DM, GRAYBILL JR. Tumor necrosis factor-alpha plays a role in host defense against *Histoplasma capsulatum*. **The Journal of infectious diseases**, Chicago, IL, v. 162, p. 1349-1353, 1990.

STEWART AG, DUBBIN PN, HARRIS T, DUSTING GJ. Platelet-activating factor may act as a second messenger in the release of eicosanoids and superoxide anions from leukocytes and endothelial cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, Apr; 87(8), p. 3215-9, 1990.

STILLMAN, B.N.; HSU, D.K.; PANG, M.; BREWER, C.F.; JOHNSON, P.; LIU, F.T.; BAUM, L.G. Galectin-3 and galectin-1 bind distinct cell surface glycoprotein receptors to induced T cell death. **Journal of immunology**, Baltimore, v. 176, n. 2, p. 778-89, 15 jan. 2006.

STOCKERT, R.J.; MORELL, A.G.; SCHEINBERG, I.H. MAMMALIAN HEPATIC LECTIN. **SCIENCE**, NEW YORK, V. 186, N. 4161, P. 365-366, 25 OCT. 1974.

STOWELL SR, DIAS-BARUFFI M, PENTTILA L, RENKONEN O, NYAME AK, CUMMINGS RD. Human galectin-1 recognition of poly-N-acetyllactosamine and chimeric polysaccharides. **Glycobiology**, Oxford, v. 14(2), p. 157-67, 2004.

STOWELL, S.R.; KARMAKAR, S.; STOWELL, C.J.; DIAS-BARUFFI, M.; MCEVER, R.P.; CUMMINGS, R.D. Human galectin-1, -2, and -4 induce surface exposure of phosphatidylserine in activated human neutrophils but not in activated T cells. **Blood**, New York, v. 109, n. 1, p. 219-27, 1 jan. 2007.

SORGI, C.A. Mecanismo de formação de corpúsculos lipídicos na histoplasmose experimental murina. 121 f. Tese (doutorado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2006.

TAHARA, K.; TSUCHIMOTO, D.; TOMINAGA, Y.; ASOH, S.; OHTA, S.; KITAGAWA, M.; HORIE, H.; KADOYA, T.; NAKABEPPU, Y. DeltaFosB, but not FosB, induces delayed apoptosis independent of cell proliferation in the Rat1a embryo cell line. **Cell death differentiation**, London, v. 10, n. 5, p. 496-507, may. 2003.

TEICHBERG VI, SILMAN I, BEITSCH DD, RESHEFF G. A beta-D-galactoside binding protein from electric organ tissue of *Electrophorus electricus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 72(4), p. 1383-87, 1975.

TOSCANO MA, COMMODARO AG, ILARREGUI JM, BIANCO GA, LIBERMAN A, SERRA HM, HIRABAYASHI J, RIZZO LV, RABINOVICH GA. Galectin-1 suppresses autoimmune retinal disease by promoting concomitant T_H2- and T regulatory-mediated anti-inflammatory responses. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, May 15;176(10), 6323-32, 2006

TOSCANO MA, ILARREGUI JM, BIANCO GA, CAMPAGNA L, CROCI DO, SALATINO M, RABINOVICH GA. Dissecting the pathophysiologic role of endogenous lectins:

glycan-binding proteins with cytokine-like activity? **Cytokine & growth factor reviews**, Oxford : Elsevier Science, c1996, Feb-Apr;18(1-2):57-71, 2007.

TRIGGIANI M, ORIENTE A, SEEDS MC, BASS DA, MARONE G, CHILTON FH. Migration of human inflammatory cells into the lung results in the remodeling of arachidonic acid into a triglyceride pool. **The Journal of experimental medicine**, New York, NY, v.182, p. 1181-1190, 1995.

TURATO, W. M. Participação de β_2 integrinas na histoplasmose pulmonar murina. 73 f. Dissertação (mestrado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

UNIS G, OLIVEIRA FDE M, SEVERO LC. Disseminated histoplasmosis in Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio De Janeiro, Nov-Dec; 37(6), p. 463-8, 2004.

VAN DER LEIJ J, VAN DEN BERG A, BLOKZIJL T, HARMS G, VAN GOOR H, ZWIERS P, VAN WEEGHEL R, POPPEMA S, VISSER L. Dimeric galectin-1 induces IL-10 production in T-lymphocytes: an important tool in the regulation of the immune response. **The Journal of pathology**, London, Dec; 204(5), p. 511-8, 2004.

VAN DER LEIJ, J.; VAN DEN BERG, A.; HARMS, G.; ESCHBACH, H.; VOS, H.; ZWIERS, P.; VAN WEEGHEL, R.; GROEN, H.; POPPEMA, S.; VISSER, L. Strongly enhanced IL-10 production using stable galectin-1 homodimers. **Molecular immunology**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 506-13, jan. 2007.

VARKI, A.; CUMMINGS, R. D.; ESKO, J.; FREEZE, H.; HART, G.; MARTH, J. **Essentials of Glycobiology**, 1st Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Inc., Boston. 1999.

WAN HC, MELO RC, JIN Z, DVORAK AM, WELLER PF. Roles and origins of leukocyte lipid bodies: proteomic and ultrastructural studies. **The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, MD, Jan; 21(1), p. 167-78, .2007.

WANG, L.; FRIESS, H.; ZHU, Z.; FRIGERI, L.; ZIMMERMANN, A.; KORC, M.; BERBERAT, P.O.; BÜCHLER, M.W. Galectin-1 and galectin-3 in chronic pancreatitis. **Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology**, New York, v. 80, n. 8, p. 1233-41, aug. 2000.

WANG JL, GRAY RM, HAUDEK KC, PATTERSON RJ. Nucleocytoplasmic lectins. **Biochimica et biophysica acta**, Amsterdam, v. 6; p. 1673:75-93, 2004.

WATSON, S. R.; SCHMITT, S. K.; HENDRICKS, D. E.; BULLOCK, W. E.; Immunoregulation in disseminated murine histoplasmosis: disturbances in the production of interleukins 1 and 2. **The Journal of Immunology**, v.135, p. 3487-93, 1985.

WEIS WI, DRICKAMER K. Structural basis of lectin-carbohydrate recognition, **Annual review of biochemistry**, Palo Alto, CA, v. 65, p. 441-73, 1996.

WELLER PF, LEE CW, FOSTER DW, COREY EJ, AUSTEN KF, LEWIS RA. Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotrienes by human eosinophils: predominant production of leukotriene C4. **Proceedings of the National**

Academy of Sciences of the United States of America, Washington, DC, Dec;80(24), p. 7626-30, 1983.

WELLER PF, DVORAK AM. Arachidonic acid incorporation by cytoplasmic lipid bodies of human eosinophils. **Blood**, Washington, DC, May; v.65(5), p.1269-74, 1985.

WELLER PF, ACKERMAN SJ, NICHOLSON-WELLER A, DVORAK AM. Cytoplasmic lipid bodies of human neutrophilic leukocytes. **The American journal of pathology**, Bethesda, MD, v.135, p. 947-959, 1989.

WELLER PF, RYEOM SW, PICARD ST, ACKERMAN SJ, DVORAK AM. Cytoplasmic lipid bodies of neutrophils: formation induced by cis-unsaturated fatty acids and mediated by protein kinase C. **The Journal of cell biology**, New York, NY, v. 113, p. 137-146, 1991.

WELLER PF, DVORAK AM. Lipid bodies: intracellular sites for eicosanoid formation. **The Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, Dec. v. 94(6 Pt 2), p. 1151-6, 1994.

WU-HSIEH BA. Resistance mechanisms in murine experimental histoplasmosis. **Archives of medical research**, New York, NY, Autumn; 24(3), p. 233-8, 1993.

WU-HSIEH, B. A.; CHEN, W.; LEE, H. J. Nitric oxide synthase expression in macrophages of *Histoplasma capsulatum*-infected mice is associated with splenocyte apoptosis and unresponsiveness. **Infection and Immunity**, v. 66, 5520-6, 1998.

YANG, R.Y.; HSU, D.K.; LIU, F.T. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 93, n. 13, p. 6737-42, 25 jun. 1996.

YANG, R.Y.; LIU, F.T. Galectins in cell growth and apoptosis. **Cellular and molecular life sciences**, Birkhauser, v. 60, n. 2, p. 267-76, feb. 2003.

YU W, BOZZA PT, TZIZIK DM, GRAY JP, CASSARA J, DVORAK AM, WELLER PF. Co-compartmentalization of MAP kinases and cytosolic phospholipase A2 at cytoplasmic arachidonate-rich lipid bodies. **The American journal of pathology**, Bethesda, MD, Mar; 152(3), p. 759-69, 1998.

ZHOU P, SIEVE MC, BENNETT J, KWON-CHUNG KJ, GAZZINELLI RT, SHER A, SEDER RA. IL-12 prevents mortality in mice infected with *Histoplasma capsulatum* through induction of IFN-gamma. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, v. 15, p. 785-795, 1995.

ZHOU, P.; SIEVE, M. C.; TEWARI, R. P.; SEDER, R.A. Interleukin-12 modulates the protective immune response in SCID mice infected with *Histoplasma capsulatum*. **Infection and Immunity**, v. 65, p.936-42, 1997.

ZHOU P, MILLER G, SEDER RA. Factors involved in regulating primary and secondary immunity to infection with *Histoplasma capsulatum*: TNF-alpha plays a critical role in maintaining secondary immunity in the absence of IFN-gamma. **Journal of immunology**, Baltimore, MD, Feb 1; 160 (3), p. 1359-68, 1998.

ZUNIGA E, RABINOVICH GA, IGLESIAS MM, GRUPPI A. Regulated expression of galectin-1 during B-cell activation and implications for T-cell apoptosis. **Journal of leukocyte biology**, New York, NY, Jul; 70(1), p. 73-9, 2000.

ZUNIGA E, GRUPPI A, HIRABAYASHI J, KASAI KI, RABINOVICH GA. Regulated expression and effect of galectin-1 on Trypanosoma cruzi-infected macrophages: modulation of microbicidal activity and survival. **Infection and immunity**, Washington, DC, vol. 69(11), p. 6804-12, 2001.