UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Fisiopatologia e Toxicologia

Papel do metabolismo de triptofano e do interferon-γ na melanogênese

Maryana Stephany Ferreira Branquinho

Orientador: Profª. Titular Ana Campa

São Paulo
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Fisiopatologia e Toxicologia

Papel do metabolismo de triptofano e do interferon-γ na melanogênese

Maryana Stephany Ferreira Branquinho

Versão Corrigida

Tese para obtenção do Título de Doutor.

Orientador: Prof. Tit. Ana Campa

São Paulo
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletronico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Bp

Branquinho, Maryana Stephany Ferreira Branquinho
Papel do metabolismo de triptofano e do interferon-? na melanogênese. / Maryana Stephany Ferreira Branquinho Branquinho. - São Paulo, 2019.
120 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Campa, Ana Campa

1. Melanina. 2. Pigmentação da pele. 3. Melanogênese. 4. Quinurenina. 5. Triptofano. I. T. II. Campa, Ana Campa, orientador.

Maryana Stephany Ferreira Branquinho

Papel do metabolismo de triptofano e do interferon-γ na melanogênese

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do Título de Doutor.

_____

Profa. Tit. Ana Campa
Orientadora/Presidente

_____

1º. examinador

_____

2º. examinador

_____

3º. examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2019.

Dedico este trabalho a Deus, este é mais um propósito Dele em minha vida; e aos meus pais, que sempre confiaram comigo.

“Sua vida, com efeito, não se parece com as outras,
e os seus caminhos são muito diferentes.”

Sabedoria, 2, 15.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a Deus, que em nenhum momento me desamparou. Obrigada por ter me iluminado e colocado em meu caminho pessoas iluminadas nos momentos em que eu via apenas o lado escuro. Agradeço também à minha família, porto seguro com quem dividi fielmente as alegrias e as dificuldades. Obrigada Mãe, Pai, Guilherme, Madrinha e Geovany. Eu amo muito vocês. Obrigada Profª. Ana Campa por sempre me orientar com paciência e imaginação fértil, estou muito feliz pelo nosso trabalho.

Obrigada às técnicas mais empenhadas, sem as quais não teríamos este trabalho, Sika e Silvia, vocês foram essenciais. Obrigada às meninas do lab, pela mão de obra, pelas risadas, pelas cervejas, pelos conselhos, pelas discussões de protocolos e resultados. Marcela, Maria Carmen, Maysa e Paloma vocês são foda!

Obrigada a todos os colaboradores espalhados pelos corredores do departamento e arredores: Profª. Silvya, Profª. Silvia Berlanga e as alunas do seu lab, sempre presentes e bem-dispostas à ajudar; Profº. Ernani, Felipe e Fabi Massas; Profª. Dulcineia, Walter, Jac e Gustavo, obrigada pela vaga temporária na bancada de vocês; Profª. Luciana Lopes e Daniel Miranda. Obrigada Dona Cícera por manter tudo limpinho e ainda ter sempre uma historinha pra contar antes do início do expediente, rs.

Obrigada a todos que estiveram envolvidos neste trabalho, eu tenho muito orgulho desta construção e serei sempre grata.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas..... 03
Lista de figuras..... 05
Lista de tabelas..... 07
1. Introdução..... 08
1.1. A pele e sua pigmentação..... 08
1.2. A regulação da melanogênese..... 18
1.3. O metabolismo do Trp e seus papéis na pele..... 22
1.4. Os metabólitos do Trp e a melanogênese..... 30
1.5. Modelos de melanogênese..... 32
2. Objetivos..... 35
3. Material e Métodos..... 36
3.1. Obtenção das células e condições de cultura celular..... 36
3.2. Geração de pele humana reconstruída..... 36
3.2.1. Avaliação morfológica da pele 37
3.3. Expressão gênica dos modelos 2D de pigmentação via qRT-PCR..... 38
3.4. Expressão proteica dos modelos 2D de pigmentação via Western Blot..... 38
3.5. Quantificação de melanina..... 39
3.6. Quantificação dos metabólitos do Trp..... 40
3.7. Preparo das formulações cosméticas..... 41
3.8. Análise de penetração cutânea de QUIN..... 41
3.9. Análise dos Resultados..... 42
4. Resultados e Discussão..... 43
Capítulo 1..... 44
Capítulo 2..... 53
Capítulo 3..... 70
5. Conclusão..... 78
6. Material Suplementar...... 79
7. Referência..... 93
8. Anexos..... 106

RESUMO

A melanogênese, processo fisiológico de pigmentação da pele, é um mecanismo de defesa em resposta à exposição à luz, e é seguida pelo rápido recrutamento de células imunológicas. Tanto a pigmentação quanto a resposta imune podem ser reguladas por interferon-γ (IFN-γ). Dentre as inúmeras ações descritas para o IFN-γ, sabe-se que ele é o principal indutor da indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO), uma enzima chave no metabolismo do triptofano (Trp). Considerando também que alguns metabólitos do Trp possuem atividade na pele, o objetivo deste trabalho foi avaliar se o efeito do IFN-γ sobre a melanogênese ocorre por meio da modulação do metabolismo do Trp. Para isso, desenvolvemos um modelo de indução de melanogênese em culturas de células primárias de pele humana, o qual se baseia em co-culturas de melanócitos e queratinócitos na proporção de 1:1, na presença de 0,25 mM de tirosina e 5mM de cloreto de amônia (NH_4Cl). Utilizando esse modelo, vimos que quinurenina (QUIN), metabólito do Trp, inibe a produção de melanina pela redução na atividade da tirosinase (TYR), similarmente ao que foi observado para o IFN-γ. Ainda, quando tratamos este mesmo modelo com 1-MT (conhecido inibidor da IDO) observamos indução da produção de melanina. Esses dados suportam nossa hipótese de que o efeito do IFN-γ sobre a melanogênese ocorre por meio da modulação do metabolismo do Trp. Não só o IFN-γ, que é indutor da IDO, como também a QUIN, produto da atividade da enzima, causam uma diminuição na concentração da melanina. Além disso, quando adicionamos 1-MT, a concentração de melanina se reestabeleceu. QUIN mostrou atividade despigmentante não só em co-culturas 2D entre melanócitos e queratinócitos, como também em modelos de pele reconstruída em laboratório, constatada pela diminuição dos melanossomos observados em coloração de Fontana-Masson. Esses dados, somados à possibilidade de veiculação de QUIN à duas formulações distintas, gel e nanoemulsão, sugerem a sua utilização tópica para o clareamento da pele. A ação pigmentante do 1-MT ainda merece ser esclarecida, mas também vê-se uma possibilidade de sua utilização tópica com a finalidade de combater doenças hipocromáticas da pele.

Palavras-chave: interferon-γ, quinurenina, melanogênese, tirosinase, despigmentante.

ABSTRACT

Melanogenesis, a physiological process of skin pigmentation, is a defense mechanism in response to exposure to light and it is followed by rapid recruitment of immune cells. Both the pigmentation and the immune response are regulated by interferon-γ (IFN-γ). Among the many actions described for IFN-γ, it acts as the main inducer of indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO), a key enzyme in tryptophan (Trp) metabolism. Considering also that some Trp metabolites have skin activity, the objective of this work was to evaluate if the effect of IFN-γ on melanogenesis occurs through the modulation of Trp metabolism. In order to do this, we developed a model of melanogenesis induction in cultures of primary human skin cells, which relies on 1: 1 coculture of melanocytes and keratinocytes in the presence of 0.25 mM tyrosine and 5 mM NH_4Cl. Using this model, kynurenine (KYN), which is a Trp metabolite, inhibits melanin production by reducing tyrosinase activity (TYR), similarly to that observed for IFN-γ. Additionally, when we treated this same model with 1-MT (known IDO inhibitor) we observed induction of melanin production. These data supported our hypothesis that the effect of IFN-γ on melanogenesis occurs through the modulation of Trp metabolism. Not only IFN-γ, which is an inducer of IDO, but also KYN (product of enzyme activity) causes a decrease in melanin concentration. In addition, when we added 1-MT, the melanin concentration was restored. KYN showed depigmenting activity not only in 2D co-cultures between melanocytes and keratinocytes, but also in reconstructed skin models in the laboratory, evidenced by the decrease of melanosomes observed in Fontana-Masson staining. These data, coupled with the possibility of incorporate KYN into two distinct formulations (gel, and nanoemulsion) suggest its topical use for skin whitening. The pigment action of 1-MT still deserves to be investigated, but it is also recognized as a possible active for topical use to treat hypochromic skin diseases.

Key words: interferon-γ, kynurenine, melanogenesis, tyrosinase, depigmenting.

Lista de Abreviatura

1-MT: 1-metil-DL-triptofano

5-HT: serotonina

AA: ácido antranílico

AADAT: quinurenina aminotransferase

AANAT: arilalquilamino *N*-acetiltransferase

ACS: 2-amino-3-carboximuconato semialdeído

ACTH: hormônio adrenocorticotrófico

AFMK: *N1*-acetil-*N2*-formil-5-metoxiquinuramina

AhR: receptor aril hidrocarboneto

AMK: *N1*-acetil-α5-metoxiquinuramina

ASIP: proteína sinalizadora *agouti*

cAMP: adenosina monofosfato cíclico

DCT/Tyrp2: dopacromo tautomerase

DDC: dopa-descarboxilase

DHI: 5-6-dihidroxiindol

DHICA: 5-6-dihidroxiindol-2-ácido carboxílico

DMT: dimetiltriptamina

DQ: dopaquinona

ELISA: *Enzyme-Linked Immunsorbent Assay*

f-QUIN: *N*-formil-quinurenina

HAA: ácido 3-hidroxiantranílico

HIAA: ácido 5-hidroxindolacético

HIOMT: acetilsetononina-*O*-metiltransferase

HK: 3-hidroxiquinurenina

HMGS: *Human Melanocyte Growth Supplement*

IAA: ácido indolacético

IBMX: 3-isobutil-1-metilxantina

IDO: indolamina-2,3-dioxigenase

INMT: triptamina-*N*-metil-transferase

KA: ácido quinurênico

KMO: quinurenina mono-oxidase

KYNU: quinureninase

L-DOPA: *L*-3,4-dihidroxifenilalanina

MAO: monoaminoxidase

MCR1: receptores de melanocortina 1

MITF: fator de transcrição associado à microftalmia

MLT: melatonina

MPO: mieloperoxidase

NAM: ácido nicotínico mononucleotídeo

NAS: *N*-acetil-5-hidoxitriptamina

NH_4Cl: Cloreto de amônia

NRF2: fator nuclear eritróide 2

PA: ácido picolínico

PAR-2: receptor ativado por protease-2

POMC: proopiomelanocortina

QA: ácido quinolínico

qRT-PCR: PCR em tempo real

QUIM: quinuramina

QUIN: *L*-quinurenina

TDO: triptofano-2,3-dioxigenase

TRY: triptamina

TYR: tirosinase

Tyrp1: enzima relacionada à tirosinase tipo 1

Via QUIN: via das quinureninas

Via SER: via serotoninérgica

Via TRY: via das triptaminas

XA: ácido xanturênico

α-MSH: alfa- hormônio estimulante de melanócitos

Lista de Figuras

Figura 1: Esquema de indução da melanogênese.....09

Figura 2: Via bioquímica de formação de melanina.....11

Figura 3: Maturação dos melanossomos. 13

Figura 4: Possíveis vias de transferência de melanossomos.....15

Figura 5: Rab7 e Rab27a e as proteínas motoras envolvidas no transporte do melanossomo.....17

Figura 6: Modulação da melanogênese.....22

Figura 7: Metabolismo do Trp pela via das quinureninas (via QUIN).....24

Figura 8: Metabolismo do Trp pela via serotoninérgica (via SER).....27

Figura 9: Metabolismo do Trp pela via das triptaminas (via TRY).....29

Figura 10: Padronização de modelo de melanogênese.....47

Figura 11: Expressão gênica de marcadores da melanogênese.....49

Figura 12: Expressão proteica dos marcadores da melanogênese e produção de melanina ao longo do tempo.....51

Figura 13: Perfil do metabolismo do Trp ao longo da melanogênese.....53

Figura 14: Rota de conversão de Trp à QUIN.....54

Figura 15: Viabilidade das co-culturas na presença de componentes do metabolismo do Trp.....55

Figura 16: QUIN modulando a melanogênese.....56

Figura 17: 1-MT modulando a melanogênese.....57

Figura 18: INF-γ não modula a melanogênese em células IDO negativas.....59

Figura 19: Expressão gênica dos moduladores de melanogênese na presença de QUIN.....61

Figura 20: Expressão proteica dos moduladores de melanogênese na presença de QUIN.....63

Figura 21: Modulação do metabolismo do Trp.....65

Figura 22: QUIN regula a melanogênese via inibição de TYR.....68

Figura 23: Veiculação e permeabilidade de QUIN em formulações cosméticas....71

Figura 24: Pele reconstruída em laboratório tratada com gel de QUIN.....73

Figura 25: Peles reconstruídas em laboratório na presença de estímulos pigmentantes e despigmentates.....74

Figura 26: Marcação de melanossomos em peles reconstruídas em laboratório na presença de estímulos pigmentantes e despigmentates.....76

Fig.Sup.1: Imagem do irradiador UV-A e espectro de emissão das lâmpadas.....80

Fig.Sup.2: Irradiação de co-culturas de queratinócitos e melanócitos com luz UV-A.....81

Fig.Sup.3: Marcadores da melanogênese na co-cultura de melanócitos e queratinócitos.....82

Fig.Sup.4: Viabilidade dos queratinócitos após exposição à luz UV-A.....83

Fig.Sup.5: Expressão gênica das enzimas da via QUIN em queratinócitos irradiados.....85

Fig.Sup.6: Expressão gênica das enzimas da via SER em queratinócitos irradiados.....86

Fig.Sup.7: Expressão gênica das enzimas da via das TRY em queratinócitos irradiados.....87

Fig.Sup.8: Marcadores da melanogênese em monoculturas de melanócitos de pele branca após estímulo com IBMX.....89

Fig.Sup.9: Concentração de melanina em linhagem de B16-F10 após estímulo com IBMX.....90

Fig.Sup.10: Produção relativa de melanina nos tempos de 8, 24, 48 e 72 horas.....91

Fig.Sup.11: Oxidação de L-Dopa nos tempos de 8, 24, 48 e 72 horas.....92

Lista de Tabelas

Tabela 1: Modulação da melanogênese por componentes do metabolismo do Trp.....57

Tabela Suplementar 1: Condições de irradiação utilizadas.....80

Tabela Suplementar 2: Perfil de modulação da expressão de mRNA das enzimas envolvidas nas três rotas de metabolização do Trp para melanócitos, melanomas e fibroblastos.....87

1. INTRODUÇÃO

1.1. A pele e sua pigmentação

A pele humana possui diferentes tonalidades e isso se deve à presença de um pigmento quimicamente inerte chamado melanina que desempenha um papel essencial na defesa do organismo contra os raios UV. Podemos dizer que a pele é a principal barreira contra estímulos mecânicos e químicos, sendo dividida em três camadas: epiderme, derme e hipoderme (Costin e Hearing, 2007).

A epiderme é dividida em quatro subcamadas, chamadas de estratos basal, espinhoso, granuloso e córneo. As principais células presentes nesta camada são os queratinócitos, que representam aproximadamente 95% do componente celular da epiderme, e os melanócitos, presentes em menor número. A proporção entre melanócitos e queratinócitos na epiderme é composta de 35 à 40 queratinócitos para cada um melanócito, e esse conjunto de células é conhecido com unidade melano-epidermica. Podemos encontrar também outros tipos celulares na epiderme, como as células de Merkel, dispostas no estrato basal e responsáveis pela transmissão sensorial; as células de Langerhans, que se localizam no estrato espinhoso e compõe a porção imunológica das células da pele; e os corneócitos presentes no estrato córneo (Elias, 2005).

A derme, por sua vez, é composta principalmente por fibroblastos, mas também possui células imunológicas, representadas pelos macrófagos, linfócitos, mastócitos e algumas células de Langerhans, bem como alguns melanócitos (Costin e Hearing, 2007). A hipoderme é a camada mais interna da pele, constituída principalmente por tecido adiposo, que tem a função de ligar a derme aos tecidos subjacentes (Spellberg, 2000).

O processo de pigmentação da pele, conhecido como melanogênese, depende da síntese da melanina pelos melanócitos da epiderme, da transferência deste pigmento para os queratinócitos presentes na epiderme (Opitz *et al.*, 2011), e da secreção de fatores pró-melanogênicos por fibroblastos que estão na derme (Costin e Hearing, 2007). Este processo envolve uma via metabólica complexa que combina reações químicas catalisadas enzimaticamente e espontâneas.

Quando a pele é exposta à irradiação UV, o gene da proteína p53 no núcleo dos queratinócitos é ativado em resposta ao dano do DNA. Esta ativação de p53 leva à clivagem da proopiomelanocortina (POMC), um precursor hormonal, que origina vários produtos como a β-endorfina e o *α*-hormônio estimulante de melanócitos (α-MSH). O α-MSH quando se liga aos receptores de melanocortina 1 (MCR1) em melanócitos adjacentes, ativa via adenosina monofosfato cíclico (cAMP), o principal fator de transcrição da melanogênese, o fator de transcrição associado à microftalmia (MITF) **(Fig.1)** (Lo e Fisher, 2014).

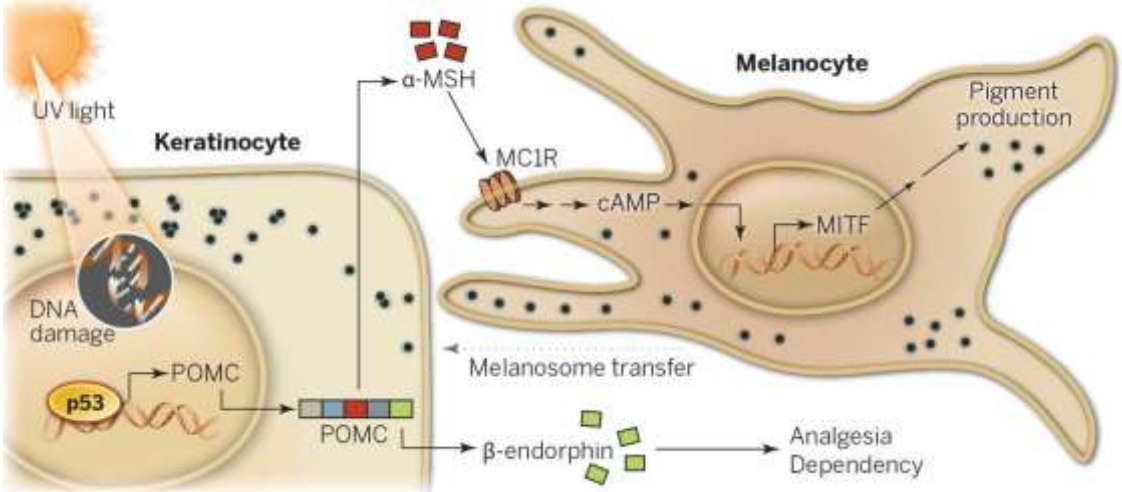


Figura 1: ***Esquema de indução da melanogênese.*** Proopiomelanocortina (POMC); alfa-hormônio estimulante de melanócitos (α-MSH); receptor de melanocortina 1 (MCR1); fator de transcrição associado à microftalmia (MITF). *Imagem retirada de Lo and Fisher, 2014.*

MITF ativa a transcrição da enzima tirosinase (TYR), responsável pela hidroxilação de *L*-tirosina a *L*-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) que, além de ser

precursor na biossíntese das melaninas, é também encaminhado para a via das catecolaminas, atuando separadamente nestas vias. A oxidação de L-DOPA para dopaquinona (DQ) (Garbe *et al.*) é o próximo passo da rota e também é catalisada pela TYR, sendo que a presença de cisteína ou glutationa a partir daqui direcionará este subproduto para a formação de eumelanina (pigmento preto/marrom) ou feomelanina (pigmento vermelho/ amarelo) (Slominski *et al.*, 2004). A proporção entre as concentrações de eumelanina e feomelanina produzidas é responsável por estabelecer o fototipo dos indivíduos. A formação de DQ é o passo limitante da síntese de melanina, uma vez que as reações posteriores prosseguem espontaneamente em pH fisiológico (Halaban *et al.*, 2002) (**Fig.2**).

Na eumelanogênese, quando os aminoácidos cisteína e glutationa são depletados, a DQ sofre ciclização intramolecular espontânea formando leucodopacromo (ciclodopa). Ciclodopa e DQ sofrem troca redox originando dopacromo e *L*-DOPA, que pode entrar no ciclo de formação de DQ novamente. Dopacromo decompõe-se espontaneamente resultando em 5-6-dihidroxiindol (DHI), ou se catalisado pela enzima dopacromo tautomerase (DCT/Tyrp2), ele forma o 5-6-dihidroxiindol-2-ácido carboxílico (DHICA). Por fim, os intermediários DHI e DHICA são oxidados a eumelanina e acredita-se que a enzima relacionada à tirosinase tipo 1 (Tyrp1) seja a responsável pela oxidação deste último. A feomelanogênese começa com a conjugação da DQ à cisteína ou a glutationa gerando cisteinildopa e glutationildopa respectivamente, que darão origem a intermediários benzotiazínicos, e após polimerização resultarão em feomelanina (Slominski *et al.*, 2004; Pillaiyar *et al.*, 2017) (**Fig.2**).

A expressão baixa da enzima TYR resulta em níveis baixos de DQ, que são quimicamente reduzidos por cisteína ou glutationa, levando ao favorecimento da

feomelanogênese. Em contraste, a maior expressão de TYR, resulta em maiores quantidades de DQ que irão esgotar as reservas intracelulares de cisteína e glutationa. Após a depleção destes tióis, a dopaquinona será metabolizada via conjugação com ciclodopa, produzindo o dopacromo, que é convertido em eumelanina pelas enzimas TYRP2 e TYRP1 (**Fig.2**) (Nguyen e Fisher, 2019).

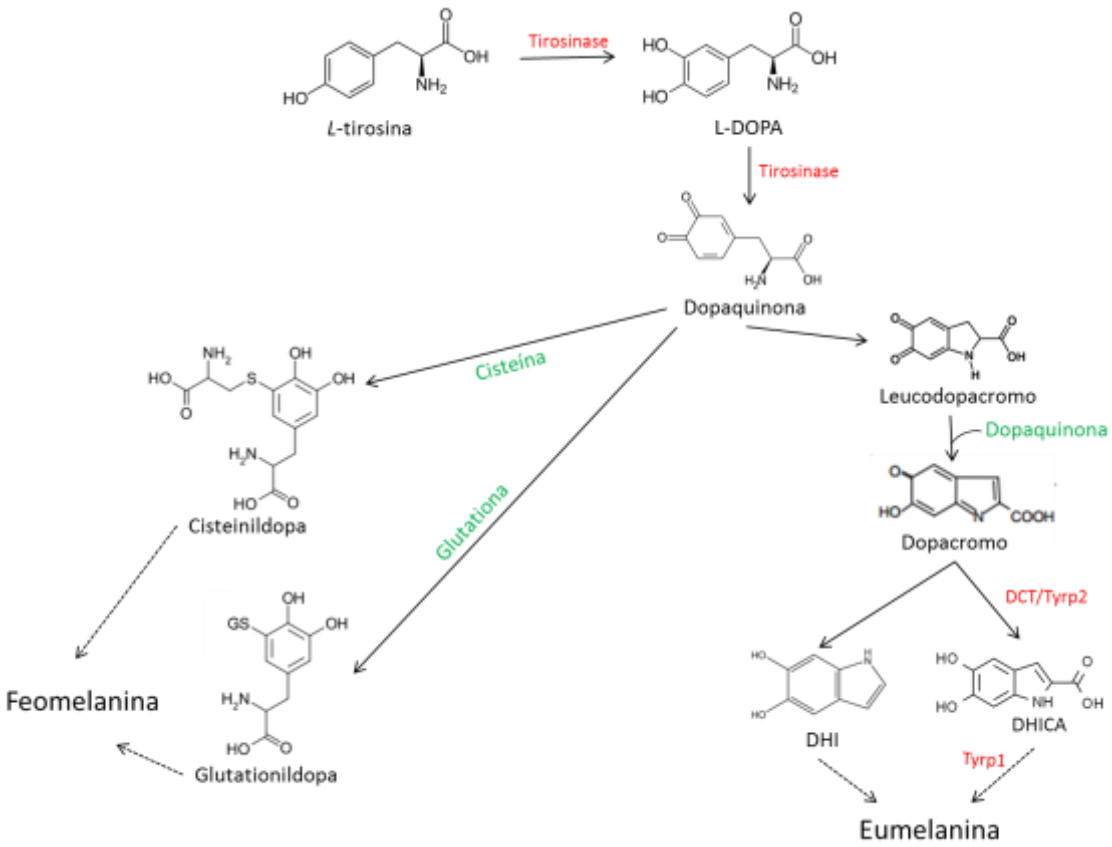


Figura 2: ***Via bioquímica de formação de melanina.*** Nesta imagem estão ilustradas (em preto) as fórmulas estruturais de alguns dos produtos intermediários de formação dos dois tipos de melanina desde seu precursor, a *L*-tirosina. Em vermelho estão algumas das enzimas envolvidas nesta formação, e em verde estão os aminoácidos conjugados à dopaquinona, e a dopaquinona conjugada ao leucodopacromo. Setas tracejadas indicam a existência de produtos intermediários nessas rotas.

Todo este maquinário bioquímico acontece em vesículas chamadas melanossomos, que são organelas do tipo lisossomos, responsáveis pela interação entre os melanócitos e os queratinócitos. Esta interação se deve à transferência da vesícula de uma célula para a outra (Muller e Scherle, 2006) e será detalhada mais

adiante. A maturação do melanossomo ocorre por meio de diversas transições morfológicas e estruturais, e também por uma sequência específica de contribuições enzimáticas (Metz *et al.*, 2007).

Os melanossomos podem ser classificados morfologicamente em quatro estágios distintos (I-IV) de acordo com seu grau de maturação. No estágio I, eles são estruturas amorfas e esféricas, e é neste estágio que se inicia a formação das fibrilas intraluminais, gerando uma malha que se consolidará no estágio II. No segundo estágio, a organela possui formato alongado, estrias internas bem definidas e ainda não há pigmento de melanina. Até esses dois primeiros estágios eles são comumente chamados de melanossomos precoces. A síntese de melanina se consolida no estágio III, a qual vai se depositando de maneira uniforme nas fibrilas internas. Nos melanossomos fortemente pigmentados, considerados em estágio IV, os detalhes estruturais da organela são encobertos devido à presença de quantidades abundantes de melanina e é durante esse estágio que acontece a transferência da organela para os queratinócitos (**Fig.3**) (Yamaguchi e Hearing, 2009) (Opitz *et al.*, 2011).

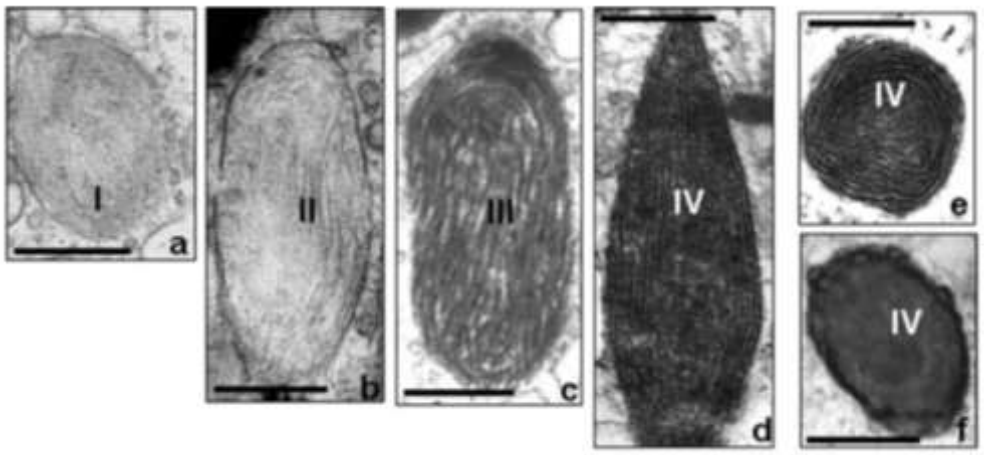


Figura 3: ***Maturação dos melanossomos.*** Microscopia eletrônica de melanossomos nos quatro estágios de maturação em melanócitos normais. *Imagem adaptada de SLOMINSKI, 2004.*

A maioria das proteínas envolvidas na pigmentação da pele está localizada no melanossomo e consistem em componentes enzimáticos e fibrilares, que são necessárias tanto para a estruturação do melanossomo quanto para ligação da melanina ao mesmo (Hearing, 2005). A proteína GP100 é a maior constituinte da organela no estágio I e sofre ação de enzimas de glicosilação e proteólise, que vão gerar a sua conformação final, formando a matriz fibrilar do melanossomo. O Melan-A/MART-1 também é um componente proteico dos melanossomos em estágios iniciais de maturação e quando associado à proteína GP100 tem sua expressão e estabilidade afetados. Por este motivo, Melan-A/MART-1 é indispensável para o enovelamento e atividade correta de GP100 na montagem do melanossomo, desempenhando um importante papel na regulação da pigmentação de mamíferos (Hoashi *et al.*, 2005). As enzimas TYR, DCT/Tyrp2 e Tyrp1, principal suporte enzimático da pigmentação, compõem a organela no estágio II, quando dão início à cascata bioquímica da melanogênese (Opitz *et al.*, 2011).

A transferência do melanossomo dos melanócitos para os queratinócitos pode acontecer por diferentes mecanismos, os quais não estão totalmente elucidados. Os

mais citados entre eles são fusão de membranas com inoculação direta de melanossomos através de filopódios nanotubulares **(Fig.4a)**, melanossomos exocitados e absorvidos via endocitose associada à fusão de membrana ou fagocitose **(Fig.4b)**, e citofagositose de dendritos **(Fig.4c)** (Mottaz e Zelickson, 1967; Yamamoto e Bhawan, 1994; Seiberg, 2001; Scott *et al.*, 2002; Van Den Bossche *et al.*, 2006).

Em 2011, ANDO e colaboradores questionaram os mecanismos clássicos de transferência dos melanossomos, uma vez que a composição e estrutura das suas membranas lipídicas possibilitam a liberação dessas vesículas no espaço extracelular e subsequente fagocitose pelos queratinócitos. Nesse modelo proposto, os melanossomos são embalados na membrana dos melanócitos, desprendendo-se dos seus dendritos, para então serem liberados no espaço extracelular e fagocitados pelos queratinócitos **(Fig.4d)**. A microscopia eletrônica desses modelos revelou melanossomos no interior de queratinócitos acondicionados em aglomerados fechados por uma membrana dupla, os quais foram chamados de melano-fagolisossomos (Ando *et al.*, 2011).

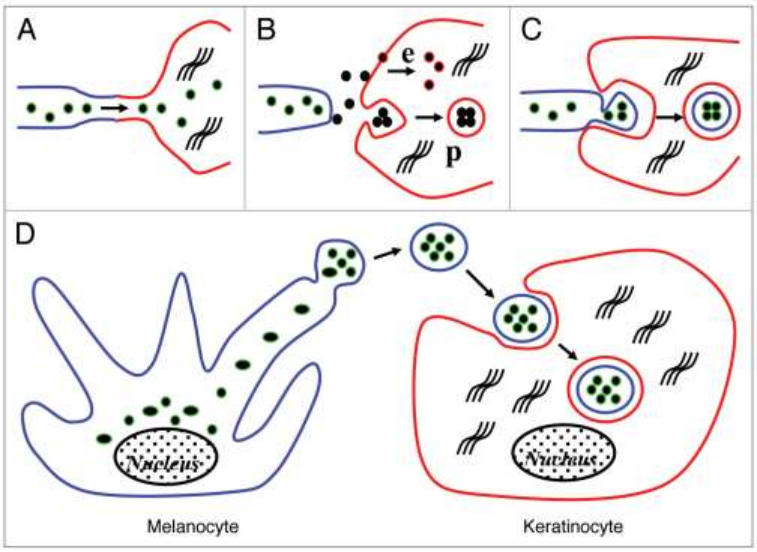


Figura 4: ***Possíveis vias de transferência de melanossomos*****. (A)** Inoculação direta de melanossomos através de filopódios nanotubulares. **(B)** Melanossomos exocitados e absorvidos via endocitose associada à fusão de membrana (e) ou fagocitose (p). **(C)** Citofagocitose de dendritos. **(D)** Formação de melano-fagolisossomos. Em azul, a membrana plasmática dos melanócitos; em vermelho, a membrana plasmática dos queratinócitos; em verde, a membrana melanossômica. *Imagem retirada de ANDO, 2011.*

O receptor ativado por protease-2 (PAR-2) é um receptor do tipo transmembrana que apesar de ser expresso nos queratinócitos, não aparece nos melanócitos. Ele está envolvido na captação do melanossomo via fagocitose, e a modulação da sua ativação pode afetar os níveis de pigmentação, uma vez que o padrão de distribuição dos melanossomos na epiderme interfere na determinação da cor da pele (Seiberg *et al.*, 2000).

Em 2003, BABIARZ-MAGEE e colaboradores mostraram que PAR-2 e tripsina, seu ativador, estão expressos em níveis mais elevados em peles escuras, quando comparadas às claras. Além disso, peles altamente pigmentadas possuem maior capacidade de clivar a protease específica de PAR-2, e a fagocitose de melanossomos induzida pelo PAR-2 em queratinócitos derivados em peles mais escuras foi mais eficiente. Com esses dados, eles demonstram que a expressão e a atividade de PAR-2 estão diretamente relacionadas com a cor da pele, implicando no

envolvimento deste receptor em fenótipos de coloração da pele (Babiarz-Magee *et al.*, 2004).

Além do PAR-2, presente nos queratinócitos, duas outras moléculas presentes nos melanócitos também estão envolvidas na transferência do melanossomo via formação de microtúbulos, o Rab27a e o Rab7. O primeiro é membro da subfamília Rab27 de GTPases, responsável por controlar o transporte e a exocitose de organelas relacionadas ao lisossomo (LRO) em tipos específicos de células (Izumi *et al.*, 2003). Em seu estado ativo, o Rab27a quando ligado ao GTP localiza-se na membrana dos melanossomos, onde atua como um receptor para a proteína motora miosina Va (Fukuda *et al.*, 2002). Perdas na expressão de Rab27a resultam em defeitos no transporte normal do melanossomo dependente da interação miosina VA com a actina, afetando assim a cor da pele (Jordens *et al.*, 2006). Outro membro da família Rab associado a GTPases é o Rab7, e assim como o Rab 27a, ele está envolvido no transporte de melanossomos via microtúbulos (Cantalupo *et al.*, 2001), estando mais especificamente relacionado ao transporte das proteínas TYR e Tyrp1 (Hirosaki *et al.*, 2002).

Jordens e colaboradores demonstraram em 2006 que as funções desses dois membros da família Rab são distintas e estão bem estabelecidas. Elas regulam duas diferentes proteínas motoras, controlando etapas complementares na biogénese do melanossomo: o Rab7 controla o transporte precoce mediado pelos microtúbulos e Rab27a o transporte subsequente de melanossomos maduros. A marcação de Rab7 foi observada em estágios iniciais da maturação do melanossomo, enquanto que o Rab27a esteve presente dos melanossomos de estágio IV mais maduros **(Fig.5)** (Jordens *et al.*, 2006).

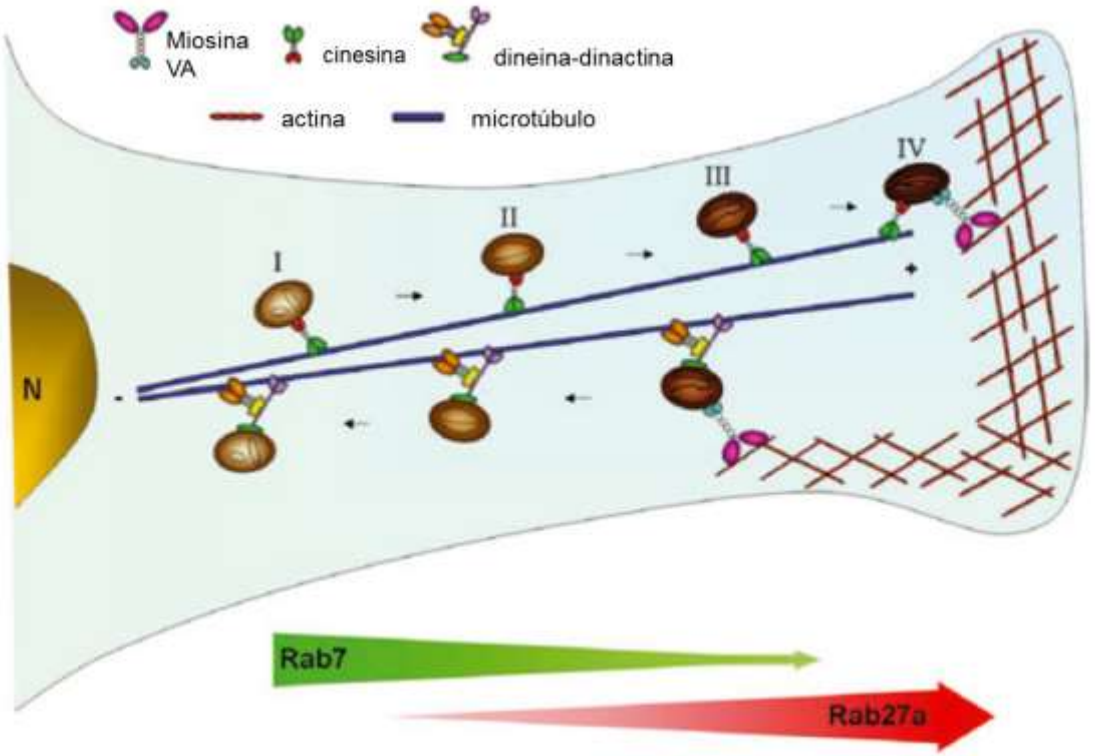


Figura 5: ***Rab7 e Rab27a e as proteínas motoras envolvidas no transporte do melanossomo.*** Esta imagem mostra o transporte bidirecional dependente de microtúbulos, controlado pelas proteínas motoras dineína e cinesina. O melanossomo interage com Rab7, controlando o recrutamento motor de dineína com melanossomos precoces. Os melanossomos mais maduros (estágio IV) são desprovidos de Rab7 e permanecem na ponta das células pela ação de Rab27a, atuando no recrutamento do motor de miosina Va juntamente com a actina. *Imagem retirada de Jordens et al, 2006*.

Embora a transferência de melanossomos para os queratinócitos seja uma resposta de proteção aos danos mediados por exposição à luz, não só a alta energia dispensada durante a síntese de melanina, mas também sua atividade fotoprotetora geram espécies reativas que podem ser danosas para a sobrevivência celular (Brody *et al.*, 2009; Pantouris e Mowat, 2014). Desse modo, faz-se necessária uma resposta localizada para restaurar o balanço na pele e prevenir efeitos secundários indesejados do aumento de síntese de melanina (Opitz *et al.*, 2011). Faz parte desta reposta preventiva o aporte de células imunológicas para o local da produção, bem como a produção de citocinas por essas células (Natarajan, V. T., Ganju, P., Ramkumar, A., *et al.*, 2014).

1.2. A regulação da melanogênese

Já foram identificados mais de 150 genes que interferem na pigmentação da pele, pelos e cor dos olhos. Dentre os estudos acerca desta identificação, podemos citar aqueles realizados com base na análise da coloração de camundongos (Bennett e Lamoreux, 2003) e também estudos de componentes melanossomicos via proteômica (Chi *et al.*, 2006). Os mecanismos de controle do processo de melanogênese são abrangentes e de difícil dedução, podendo depender de fatores hormonais, transcricionais, imunológicos, dependentes ou não de receptores e até de fatores extrínsecos, como é o caso da radiação UV.

O principal fator de transcrição da melanogênese é o MITF, responsável também pelo desenvolvimento e sobrevivência dos melanócitos. O MITF foi descoberto como uma proteína codificada em um *locus* associado à síndrome de Waardenburg, distúrbio caracterizado, dentre outros fatores, pela pigmentação anormal da pele e dos cabelos em seres humanos. Ele é responsável por induzir a transcrição de genes de enzimas como TYR, DCT e Tyrp1, sendo que, a mais complexa destas regulações acontece para a DCT. Essa maior complexidade se deve ao fato de existirem outras proteínas envolvidas, sendo que duas delas (CREB e SOX10) cooperam com MITF na ativação da expressão DCT, enquanto outra (PAX3) possui efeito antagonista. Além disso, o MITF regula a pigmentação não só por meio da transcrição dos genes relacionados às enzimas do processo, como também àqueles relacionados à estrutura, biogênese e transporte do melanossomo (Samija *et al.*, 2004).

MC1R, como já citado anteriormente, é um receptor presente na membrana plasmática dos melanócitos, e ele se apresenta em uma quantidade de aproximadamente 700-1.000 moléculas de proteína por melanócito (Donatien *et al.*,

1992). Este receptor é sítio de ligação para α-MSH, que também é regulado por MITF. α-MSH é produzido pelos queratinócitos epidérmicos, e a sua ligação ao receptor MC1R é um dos primeiros passos da melanogênese regulados de maneira hormonal. Esta ligação inicia uma cascata de sinalização que envolve a ativação via adenilato ciclase, sintetizando cAMP. Um dos efeitos do aumento do cAMP intracelular é a ativação da proteína quinase A (PKA), que por sua vez fosforila os fatores de transcrição da proteína responsiva ao elemento cAMP (CREB) que ativa transcricionalmente uma variedade de alvos, incluindo MITF. Esta ativação do MITF, caracteriza um mecanismo de feedback (Bertolotto *et al.*, 1998). O MC1R também tem como agonista o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que estimula especialmente a eumelanogênese (Slominski *et al.*, 2004).

O receptor MC1R também possui antagonistas, e o principal deles é a proteína sinalizadora *agouti* (ASIP), que se destaca por determinar não só a intensidade da melanina produzida como também a proporção entre a feomelanina e eumelanina. Isto foi observado através do tratamento de melanócitos humanos com ASIP recombinante, e consequente bloqueio dos efeitos estimuladores de α-MSH no acúmulo de cAMP, atividade de TYR e proliferação celular. Além disso, na ausência de α-MSH exógena, o ASIP inibe os níveis basais de TYR, a proliferação celular e reduz a atividade de TRP-1 (Suzuki *et al.*, 1997). Mais recentemente, foi demonstrado que a β-defensina 3, conhecida principalmente pelo seu papel na imunidade inata, também funciona como antagonista do MC1R, inibindo as atividades da adenilato ciclase e da TYR (Swope *et al.*, 2012).

Alguns fatores intrínsecos também podem regular a produção de melanina. Existem nos melanócitos, receptores do tipo α e β para estrógeno, e quando ocorre um aumento dos níveis deste hormônio na gravidez, os melanócitos são estimulados,

causando hiperpigmentação (Sun *et al.*, 2017). Outro exemplo é a ação da noreepinefrina, que age por receptores do tipo α1 adrenérgico, e leva à liberação de cálcio no meio intracelular, ativando uma proteína quinase denominada PKC- β, que por sua vez fosforila a enzima TYR, ativando-a (Abrao *et al.*, 1991).

Tirosina e L-DOPA são substratos para a síntese de melanina, apresentando desta forma um papel na regulação positiva da pigmentação. Estes compostos exercem esta função por estimularem a atividade da enzima TYR em células melanogênicas. Contudo, foi observada uma diminuição na atividade desta enzima, bem como na concentração de melanina nas células, na presença de concentrações mais elevadas destes dois compostos (Slominski *et al.*, 2004).

A β-endorfina, um neurotransmissor assim como a dopamina, tem sido relacionada com a patogênese de várias dermatoses, por exemplo, a psoríase. O papel da β-endorfina na pigmentação também tem sido sugerido, uma vez que o aumento da concentração plasmática deste neurotransmissor pode ocorrer após a exposição à UV-A, estando associado à pigmentação da pele. Além disso, β-endorfina já foi identificada em pele, melanócitos humanos normais e malignos, e o tratamento de culturas normais de melanócitos com β-endorfina resulta em aumento da melanogênese e da proliferação dessas células. Ademais, β-LPH (beta-lipotropina), um precursor imediato da β-endorfina, pode estimular a melanogênese em ovinos, além de a sua concentração sérica estar associada à hiperpigmentação generalizada em seres humanos (Slominski *et al.*, 2004).

Outro regulador da pigmentação é a histamina. Queratinócitos primários são capazes de liberar quantidades significativas dessa substância após exposição à irradiação UV-A, além de expressarem seus receptores H1 e H2. O aumento da pigmentação da pele associada à urticária e à mastocitose sistêmica parece resultar

do aumento das concentrações locais de histamina. Além disso, foi relatado também que a histamina pode aumentar a proporção entre eumelanina e feomelanina em cultura de melanócitos. Assim, esta substância pode ser um importante mediador da hiperpigmentação induzida por UV (Slominski *et al.*, 2004).

O controle da pigmentação vai além da regulação transcricional de genes relacionados a melanogênese, bem como da regulação de hormônios e outras substâncias com atividade biológica. Ele envolve a interação de melanócitos com outras células da pele, e não apenas fibroblastos e queratinócitos anteriormente citados, incluindo as células do sistema imunológico e a produção de citocinas por estas células, como IL-18 e IFN-γ (Slominski *et al.*, 2004).

O mecanismo de melanogênese e sua interação com o sistema imunológico e suas citocinas mantem a homeostase da pele. Já foi proposto anteriormente que o IFN-γ pode ser um potente inibidor da pigmentação da pele (Natarajan, Vivek T. *et al.*, 2014; Son *et al.*, 2014a; Yang, L. L. *et al.*, 2015; Zhou, Ling, *et al.*, 2016b). Natarajan e colaboradores apresentaram uma hipótese envolvendo a modulação da pigmentação por esta citocina. Eles sugeriram que a secreção basal de α-MSH e TGF-β por queratinócitos seja a responsável por manter o estado de pigmentação constitutiva na pele **(Fig.6a)**. Quando ocorre exposição à luz UV, aumenta a secreção de α-MSH e diminui a de TGF-β, ativando desta forma a síntese dos melanossomos nos melanócitos e consequente transferência para os queratinócitos **(Fig.6b)**. Como resultado desta exposição à luz UV, ocorre também o recrutamento tardio de células do sistema imune para a epiderme, que irão secretar IFN-γ e criar um ambiente inflamatório transitório **(Fig.6c)**. Esta inflamação por sua vez, sinaliza o bloqueio do processo de maturação dos melanossomos, garantindo a recuperação do estado de pigmentação basal (Natarajan, Vivek T. *et al.*, 2014).

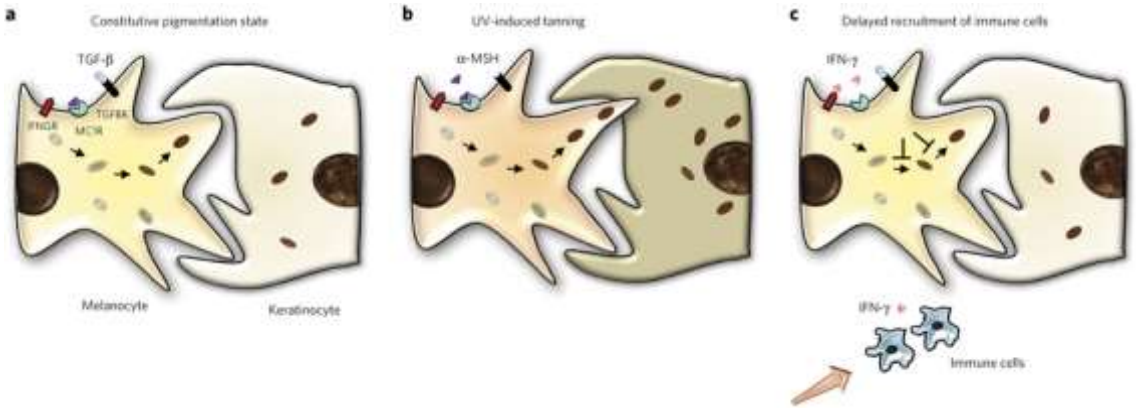


Figura 6*: Modulação da melanogênese*. Esquema de modulação da melanogênese pelas células imunológicas na presença de IFN-γ. *Imagem retirada de Natarajan, 2015.*

O IFN-γ é uma citocina pró-inflamatória com papéis importantes e bem definidos na homeostase tecidual e nas respostas imunológica e inflamatória. Além dessas funções, o seu envolvimento em fenômenos de outras naturezas também é explorado, como por exemplo na diferenciação e proliferação de células neuronais (Pereira *et al.*, 2015). Os mecanismos da ação do IFN-γ envolvem efeitos em fatores de transcrição, receptores e enzimas. Do ponto de vista bioquímico é conhecida, por exemplo, a ação de IFN-γ sobre a TYR (Natarajan, Vivek T. *et al.*, 2014; Son *et al.*, 2014b). O efeito inibitório do IFN-γ sobre a TYR leva à inibição da pigmentação. Outra ação bastante explorada do IFN-γ é a indução da enzima indoleamina-2,3-dioxigenase (IDO) que catalisa a etapa limitante do metabolismo do Trp (Keszthelyi *et al.*, 2009a). Neste trabalho, apontamos o metabolismo do Trp como um possível caminho para a regulação da melanogênese pelo IFN-γ.

1.3. O metabolismo do Trp e seus papéis na pele

O Trp é um aminoácido essencial, que quando não é utilizado para a síntese proteica é catabolizado em três vias metabólicas (Le Floc'h *et al.*, 2011). A principal via de degradação do Trp é a via das quinureninas (via QUIN), consumindo 95% do Trp ingerido na alimentação. O passo limitante desta via é a conversão de Trp em *N*-formil-quinurenina (f-QUIN) que pode ser catalisado por duas enzimas, a triptofano-

2,3-dioxigenase (TDO) e indolamina-2,3-dioxigenase (IDO), sendo o IFN-γ o principal indutor desta última. TDO é expressa de forma constitutiva, principalmente em hepatócitos e IDO em tecidos extra-hepáticos (Keszthelyi *et al.*, 2009b) (Badawy, 2017) **(Fig.7)**.

A f-QUIN sofre ação da enzima formasidase e é convertida em *L*-quinurenina (QUIN) que pode ser substrato para diferentes enzimas. A quinureninase (KYNU) gera ácido antranílico (AA), a quinurenina aminotransferase (AADAT) leva a formação de ácido quinurênico (KA) e a quinurenina mono-oxidase (KMO) converte QUIN em 3-hidroxiquinurenina (HK). HK, por sua vez, pode ser convertido a ácido xanturênico (XA) pela AADAT (Gobaille *et al.*, 2008) e em ácido 3-hidroxiantranílico (HAA) pela KYNU. HAA pode ser convertido em 2-amino-3-carboximuconato semialdeído (ACS) que é rearranjado não enzimaticamente para gerar ácido quinolínico (QA) ou ácido picolínico (PA) (Opitz *et al.*, 2007). QA é utilizado para a formação de nicotinamida e NAD^+ (Badawy, 2017), já que é metabolizado formando ácido nicotínico mononucleotídeo (NAM) que entra na rota de síntese de NAD^+ (Yang e Sauve, 2016) **(Fig.7)**.

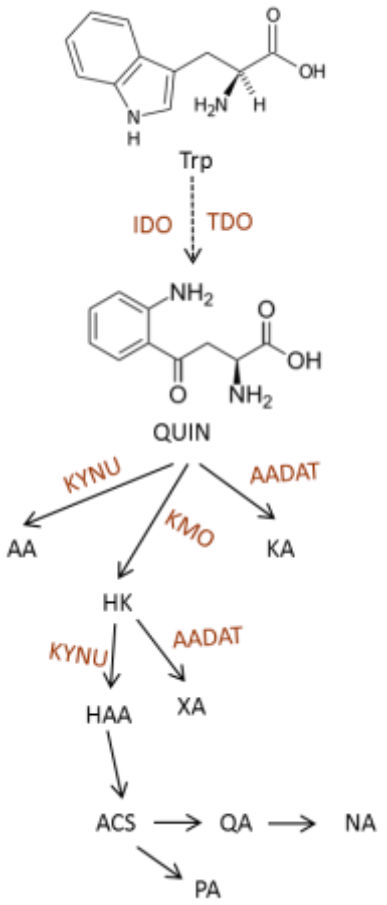


Figura 7: ***Metabolismo do Trp pela via das quinureninas (via QUIN).*** Nesta figura estão ilustrados os intermediários da via das quinureninas de catabolização do Trp. Em preto estão os metabólitos e em marrom estão as enzimas. **Trp:** Triptofano; **QUIN**: *L*-quinurenina; **AA**: ácido antranílico; **KA**: ácido quinurênico; **HK:** 3-hidroxiquinurenina; **XA:** ácido xanturênico; **HAA:** ácido 3-hidroxiantranílico; **ACS:** 2-amino-3-carboximuconato semialdeído; **QA:** ácido quinolínico; **NA:** ácido nicotínico; **PA:** ácido picolínico; **TDO**: triptofano-2,3-dioxigenase; **IDO:** indolamina-2,3-dioxigenase; **KYNU**: quinureninase; **AADAT**: quinurenina aminotransferase; **KMO**: quinurenina mono-oxidase.

Sabe-se que alguns componentes da via das QUINs são imunomoduladores, como é o caso da QUIN que possui efeitos imunossupressivos e anti-inflamatórios, mediados por células T do sistema imune adaptativo (Van Der Goot e Nollen, 2013). Isso se deve ao fato da depleção do Trp induzir a parada do ciclo celular e apoptose das células T, e o aumento de QUIN levar a supressão dessas células (Lee *et al.*, 2002). Além do efeito imunomodulador, já foi mostrado que na pele QUIN, bem como KA, possuem ação anticicatrizantes e antifibróticos na recuperação de lesões.

Isso porque elas elevam a expressão de metaloproteinases de matriz e inibem a síntese de colágeno e fribronectina por fibroblastos (Poormasjedi-Meibod *et al.*, 2014). Outro trabalho mostrou a melhoria na cicatrização de feridas em camundongos *knockout* para IDO, quando comparados aos camundongos selvagens. Eles viram que a administração tanto do inibidor clássico da IDO, 1-metil-DL-triptofano (1-MT), quanto de Trp, aumentaram a taxa de cicatrização de feridas em camundongos selvagens, e em um modelo experimental *in vitro*, respectivamente. A taxa de cicatrização nesses modelos parece depender da biodisponibilidade de Trp e não ser afetada por QUIN (Ito *et al.*, 2015).

Além de estar bem elucidado o papel da IDO no cenário imunomodulatório, outra enzima desta via vem ganhando destaque no contexto de doenças inflamatórias da pele. Um trabalho recente mostrou que a expressão de KYNU está positivamente relacionada com a gravidade de inflamações cutâneas, como a psoríase e dermatite atópica, e durante o tratamento bem-sucedido destas doenças a sua expressão se mantém reduzida. Além disso, eles viram que o tratamento de queratinócitos, células endoteliais linfócitos T com HAA e QA resultaram na maior expressão de marcadores inflamatórios, do que o tratamento com a própria QUIN (Harden *et al.*, 2016).

Existe ainda uma importante relação entre a via QUIN e a lesão cutânea causada por irradiação UV, mediada pelo receptor aril hidrocarboneto (AHR). Este receptor é expresso em grande parte das células da pele e tem a QUIN como um dos seus principais ligantes endógenos. Em situações de exposição à irradiação, o Trp existente no citoplasma das células da pele pode atuar como um cromóforo e absorver a energia UV-B gerando fotoprodutos que ativam a sinalização mediada por AhR,

como pigmentação e inflamação na pele. (Abel e Haarmann-Stemmann, 2010; Opitz *et al.*, 2011)

A segunda via de metabolização do Trp mais estuda é via serotoninérgica (via SER), que se inicia com a conversão do Trp em 5-hidroxitriptofano, que posteriormente sofre descarboxilação pela enzima dopa-descarboxilase (DDC), gerando serotonina (5-HT) (Fernstrom, 2016). A 5-HT segue sua catálise em quatro vias, sendo precursor de vários metabólitos como ácido 5-hidroxindolacético (HIAA), quinuramina (QUIM) e melatonina (MLT). A MLT é gerada a partir da acetilação da 5-HT pela enzima arilalquilamino *N*-acetiltransferase (AANAT), formando *N*-acetil-5-hidoxitriptamina (NAS), que sofre uma reação de metilação catalisada pela enzima acetilsetononina-*O*-metiltransferase (HIOMT), formando MLT (Arreola *et al.*, 2015) **(Fig.8)**.

A MLT é oxidada pela mieloperoxidase (MPO) formando *N1*-acetil-*N2*-formil-5-metoxiquinuramina (AFMK), que possui características antioxidantes AFMK pode ser deformilado, gerando *N1*-acetil-α5-metoxiquinuramina (AMK), que juntamente com o primeiro, são reconhecidos como os principais produtos de abertura de anel da MLT (Rodrigues *et al.*, 2003) **(Fig.8)**.

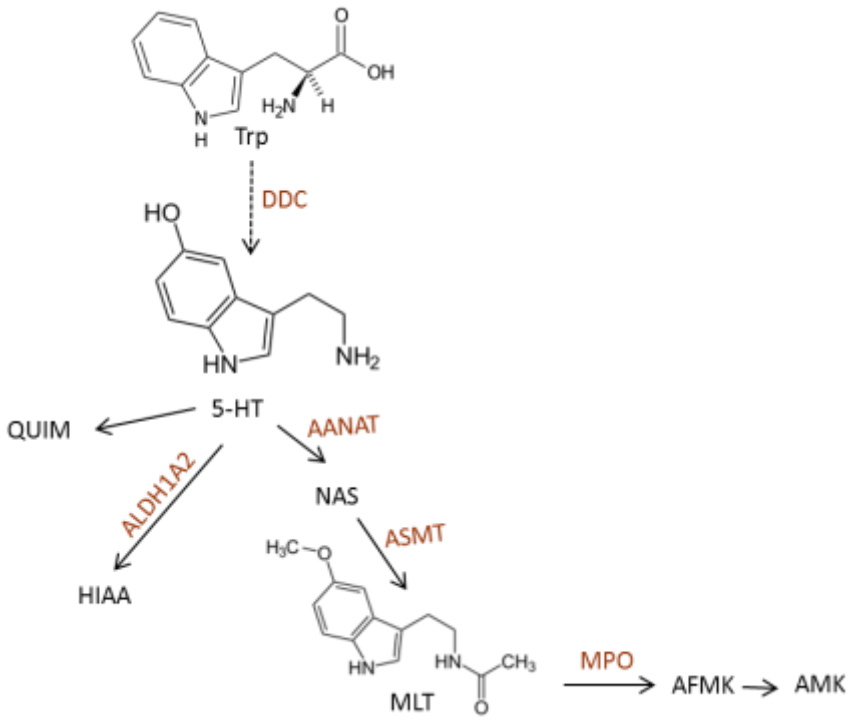


Figura 8: ***Metabolismo do Trp pela via serotoninérgica (via SER).*** Nesta figura estão ilustrados os intermediários da via SER de catabolização do Trp. Em preto estão os metabólitos e em marrom estão as enzimas. **5-HT:** serotonina; **QUIM:** quinuramina; **HIAA:** ácido 5-hidroxindolacético; **NAS:** *N*-acetil-5-hidoxitriptamina; **MLT:** melatonina; **AFMK:** *N1*-acetil-*N2*-formil-5-metoxiquinuramina; **AMK:** *N1*-acetil-α5-metoxiquinuramina; **DDC:** dopa-descarboxilase; **AANAT:** arilalquilamino *N*-acetiltransferase; **HIOMT:** acetilsetononina-*O*-metiltransferase; **MPO:** mieloperoxidase.

Já foi demonstrado anteriormente que células da epiderme e da derme expressam as enzimas responsáveis pela transformação de Trp a 5-HT e que melanócitos humanos são capazes de produzir 5-HT. Não só estas células podem produzir este metabólito, como já foi descrito também que mastócitos dérmicos de roedores apresentam esta capacidade. Além disso, células da pele expressam receptores ligados à membrana para 5-HT, bem como suas proteínas transportadoras. Assim, podemos dizer que a pele dos mamíferos é tanto um local de produção quanto um alvo de biorregulação pela 5-HT (Nordlind *et al.*, 2008).

Dentre os estudos envolvendo os metabólitos da via SER e a homeostasia da pele, um deles avalia a expressão de receptores do sistema cutâneo

serotoninérgico/melatoninérgico (Nordlind *et al.*, 2008; Sadiq, 2016; Fierro, 2017; Slominski *et al.*, 2017). Os autores mostraram que as diferentes células da pele expressam diferentes receptores para 5-HT e MLT e que a ativação desses receptores pode causar efeitos diversos de acordo com o tipo celular. Em meio privado de fatores de crescimento, a serotonina estimulou a proliferação de melanócitos, enquanto que na presença desses fatores ela inibiu o crescimento celular. Já o tratamento com melatonina inibiu a apoptose em queratinócitos cultivados em meio carenciado, enquanto na presença de soro ela causou uma inibição na proliferação dessas células. Além disso, a melatonina aumentou a viabilidade de fibroblastos em meio carenciado e o tratamento de melanócitos com altas concentrações de NAS inibiu a proliferação de melanócitos (Slominski *et al.*, 2003).

Devido a sua capacidade antioxidante, a MLT atua na pele mantendo sua homeostasia diminuindo os danos oriundos da exposição à luz UV (Slominski *et al.*, 2005). Não apenas a MLT, mas também alguns de seus produtos, como o AFMK, são capazes de induzir sistemas de reparo de DNA em melanócitos, através da ativação do gene p53 (Slominski *et al.*, 2017). Estes metabólitos protegem as células contra o estresse oxidativo pela ativação de vias dependentes de fator nuclear eritróide 2 (NRF2), e essas ações são independentes do efeito sobre os receptores clássicos da melatonina da membrana (Janjetovic *et al.*, 2017).

Um estudo com o metabólito AMK apresentou pela primeira vez a sua produção pela epiderme humana. Testes *in vitro* usando queratinócitos HaCaT mostraram que a MLT adicionada as culturas pode ser metabolizada para AMK de forma dose/dependente. Eles mostraram também que este metabólito tem efeitos antiproliferativos nas células HaCaT e em linhagens de melanomas, além de inibir o

crescimento de melanócitos normais, porém não tem efeito na morfologia celular (Kim, Lin, Li, *et al.*, 2015).

A terceira via de metabolização do Trp é a via das triptaminas (via TRY), sendo esta iniciada a partir da descarboxilação do Trp pela enzima DDC e formação do metabólito triptamina (TRY), que posteriormente é transmetilado pela triptamina-*N*-metil-transferase (INMT) e gera dimetiltriptamina (DMT), um composto com características neuroativas (Carbonaro e Gatch, 2016). TRY também pode ser substrato para a monoaminoxidase (MAO), gerando o ácido indolacético (IAA) (Jacob e Presti, 2005) **(Fig.9)**.

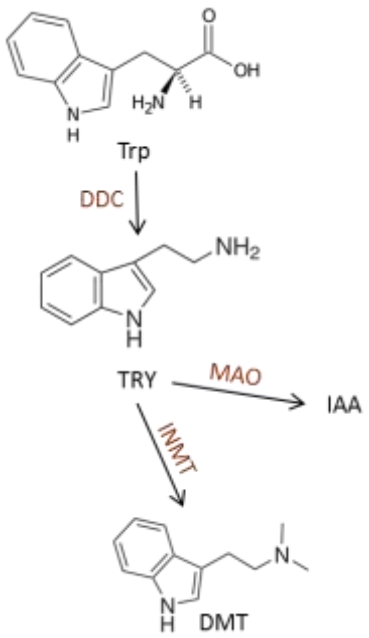


Figura 9: ***Metabolismo do Trp pela via das triptaminas (via TRY).*** Nesta figura estão ilustrados os intermediários da via SER de catabolização do Trp. Em preto estão os metabólitos e em marrom estão as enzimas. **TRY:** triptamina; **IAA:** ácido indolacético; **DMT:** dimetiltriptamina; **DDC:** dopa-descarboxilase; **MAO:** monoaminoxidase; **INMT:** triptamina-*N*-metil-transferase.

Pouco se sabe a respeito da ação fisiológica destes metabólitos, sendo que nosso grupo de pesquisa foi responsável por descrever a produção de DMT por

melanomas (Gomes *et al.*, 2014). Outro estudo demonstrou a relação do consumo de TRY com a fotomodulação do ciclo celular em melanócitos (Iyengar, 1998).

1.4. Os metabólitos do Trp e a melanogênese

O entendimento da regulação da melanogênese em seres humanos é importante para o estudo da homeostasia e de doenças da pele, como lesões cutâneas, melasma, manchas de idade e hiperpigmentação pós-inflamatória. Apesar da importância da sua compreensão, já citamos aqui que vários fatores estão envolvidos nesta modulação, e metabólitos do Trp poderiam atuar diretamente neste cenário.

O passo limitante do metabolismo do Trp, sua conversão a QUIN pela enzima IDO, é muito conhecido devido ao seu envolvimento em doenças inflamatórias e no câncer. A ativação de IDO foi, por exemplo, sugerida numa doença cutânea caracterizada por regiões de descamação e hipopigmentação (*flaky paint dermatoses*) (Maltos *et al.*, 2015). Entretanto, estes estudos não relacionaram a hipopigmentação nas áreas de lesão com o aumento na expressão de IDO. Entretanto, um trabalho de 2018, mostrou que pacientes com vitiligo são capazes de oxidar Trp presente na epiderme à alguns metabólitos, incluindo a QUIN (Piredda *et al.*, 2015). A associação destes achados com o conhecimento de que o IFN-γ (um indutor da enzima IDO) diminui a pigmentação da pele (Yang, L. L. *et al.*, 2015) nos sugere uma possível relação entre esses fatores.

Há ainda a participação de dois metabólitos da via QUIN no processo de melanogênese, o HAA e o HK. Em um sistema ausente de células, a presença de HAA resulta na formação de um pigmento marrom e aparentemente solúvel em água. Além disso, à medida que a concentração de HAA aumenta os grânulos característicos da eumelanina se tornam mais raros e a taxa de consumo de tirosina

e/ou DOPA no sistema diminui. Já na presença de HK o pigmento formado apresentou coloração avermelhada (Soddu *et al.*, 2004).

Vários estudos já abordaram a relação da melanogênese com o metabólito 5-HT (Nordlind *et al.*, 2008; Zhou, Ling, *et al.*, 2016b; Slominski *et al.*, 2017). Este composto tem ação indutora sobre a pigmentação, uma vez que o tratamento com 5-HT resultou no aumento dose dependente da atividade de TYR e da concentração de melanina em melanócitos. Esses resultados foram acompanhados de alterações dos níveis de expressão MITF, TYRP-1 e DCT (Zhou, Ling, *et al.*, 2016b). Além da 5-HT, pesquisadores utilizaram o composto BW723C86, um agonista do receptor 2B de 5-HT, para investigar o papel funcional deste receptor na melanogênese. BW723C86 reduziu a atividade da TYR e a concentração de melanina em melanócitos murinos (células melan-A) e humanos normais. A expressão de TYR, TRP-1, DCT e MITF em células melan-A também diminuiu após o tratamento com BW723C86 (Oh *et al.*, 2016).

O papel da MLT na melanogênese também é alvo de estudos e sua relação com esse processo apresenta dualidade. Existem autores que sugerem que a MLT tenha um papel precursor na produção de melanina na presença de peroxidases (Rizzi *et al.*, 2006). Por outro lado, um trabalho anterior havia demostrado a ausência de efeito da MLT sobre a pigmentação da pele, após o acompanhamento de pacientes sob administração oral de MLT por dezenove meses. Utilizando medições mensais de reflectometria em três diferentes locais da pele, eles não observaram nenhuma variação na coloração dos indivíduos tratados quando comparados aos controles (Mcelhinney *et al.*, 1994). Um terceiro estudo testou os efeitos fenotípicos da MLT em melanócitos humanos normais e mostrou que tanto ela quanto AFMK inibem a atividade da TYR e o crescimento celular (Kim, Lin, Tidwell, *et al.*, 2015).

Um trabalho de 2015, já citado anteriormente mostrou que a linhagem HaCaT é capaz de produzir AMK a partir do tratamento com MLT. Este mesmo trabalho relacionou a produção de AMK com a pigmentação e mostrou que em melanomas a produção de AMK é maior nas linhagens capazes de produzir melanina quando comparadas às não pigmentadas. Porém eles não observaram qualquer alteração na produção de melanina na presença de AMK (Kim, Lin, Li, *et al.*, 2015).

1.5. Modelos de melanogênese

A grande maioria dos trabalhos com pigmentação de pele usa como modelo experimental células imortalizadas. Além da clássica linhagem de melanoma murino, B16-F10, muito utilizada nestes ensaios (Cheng *et al.*, 2018; Nanni *et al.*, 2018; Satou *et al.*, 2019), melanomas humanos pigmentados também são exemplos desses modelos, como é o caso da SK-Mel 3 (Sarkhail *et al.*, 2017) e da SK-Mel 188 (Slominski *et al.*, 2009). Linhagens de melanócitos (NHM ou NHEM) e queratinócitos (NHK ou NHKM) adquiridos comercialmente, também são bastante usadas em modelos de melanogênese, seja isoladamente ou em co-cultura (Park *et al.*, 2016). Além dos vários tipos celulares utilizados, alguns diferentes estímulos podem ser empregados para obter-se uma produção de melanina satisfatória.

O principal composto encontrado na literatura com ação indutora da melanogênese é o 3-isobutil-1-metilxantina (IBMX), que exerce essa função por ser inibidor da enzima fosfodiesterase, aumentando o cAMP intracelular, e consequentemente induzindo MITF. O IBMX já foi descrito como indutor da melanogênese em modelos de pele reconstruída com linhagens humanas em melanócitos murinos imortalizados (célula melan-A) (Gibbs *et al.*, 2000) e também em melanomas B16-F10 (Cha *et al.*, 2012; Seo *et al.*, 2019) aparecendo como o

principal controle positivo para a descoberta de compostos com atividade inibidora da pigmentação.

Apesar de apresentar resultados satisfatórios no que diz respeito a indução da melanogênese, o IBMX é um composto que, por aumentar cAMP intracelular, pode gerar uma série de alterações celulares, sejam elas metabólicas ou morfológicas.

Outro estímulo muito utilizado é a irradiação com luz UV. A maioria dos estudos que fazem a relação dessa irradiação com a produção de melanina na pele está relacionada à processos tumorais (Brash, 2016; Lin *et al.*, 2017; Cadet e Douki, 2018), e não à processos fisiológicos de pigmentação como é o nosso caso neste estudo. Como descrito anteriormente (**Fig.1),** a radiação UV causa um dano ao DNA dos queratinócitos que a partir disso inicia uma cascata estimulatória até a ativação do MITF (Lo e Fisher, 2014). Apesar de menos frequentes, os trabalhos que usam a irradiação UV como modelo de melanogênese não apresentam grande homogeneidade em seus protocolos. Já foi descrito a indução da produção de melanina, bem como o aumento da expressão dos marcadores moleculares da melanogênese com sequências de irradiações em tempos alternados (Abdel-Malek *et al.*, 1994), mas também com irradiações isoladas (Natarajan, V. T., Ganju, P., Ramkumar, A., *et al.*, 2014; Nguyen e Fisher, 2019).

Embora fisiologicamente a pele humana tenha como maior gatilho da produção de melanina a indução por radiação solar, em modelos experimentais *in vitro* este recurso apresenta limitações. As quantidades de irradiação artificial necessárias para atingir um objetivo geralmente causam danos as células, devido tanto às altas doses de energia fornecidas durante o experimento, quanto à permanência das células em cultura por vários dias (Sturm, 1998; Jablonski e Chaplin, 2010).

A tirosina, o principal aminoácido precursor da produção de melanina, quando adicionado ao meio de cultura de células melanogênicas, é capaz de estimular a pigmentação (Bohm *et al.*, 2006; Reliene *et al.*, 2009). Substâncias capazes de neutralizar organelas ácidas intracelulares, como os melanossomos, também são adicionadas as culturas, e o cloreto de amônio (NH_4Cl) é muito utilizado com esta finalidade (Brilliant e Gardner, 2001; Ramaiah, 2002). Em 2007, foi publicado um trabalho mostrando a combinação entre tirosina + NH_4Cl em culturas de melanomas melanogênicos. Eles apresentaram uma relação direta entre a concentração dos estímulos e a produção de melanina por essas células (Kongshoj *et al.*, 2007).

Apesar das várias possibilidades de modelos de pigmentação da pele *in vitro* ainda vemos limitações neles, quer referente às células propostas, o estímulo, a falta de reprodutibilidade e especialmente a perda de viabilidade celular.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a relação entre a melanogênese e o metabolismo do triptofano.

2.2. Objetivos Específicos

- Considerando que há limitação nos modelos vigentes de melanogênese, sendo a grande maioria deles vinculados à células imortalizadas e estímulos lesivos, o nosso objetivo inicial foi padronizar um modelo de pigmentação utilizando células primárias da pele humana e estímulo brando.
- Considerando as ações do IFN-γ na melanogênese e no metabolismo do Trp, avaliamos:
    - se ao longo da melanogênese há alteração do metabolismo do Trp.
    - qual o efeito de IFN-γ sobre o metabolismo do Trp na vigência de um estímulo melanogênico.
    - qual o efeito da QUIN sobre a melanogênese.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Obtenção das células e condições de cultura celular

As células primárias da pele (queratinócitos, melanócitos e fibroblastos) foram isoladas de prepúcio de doadores voluntários. O procedimento cirúrgico foi realizado no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP) sob a responsabilidade de L. Maximiano (Comitê de Ética em Pesquisa – CEP-HU-USP número 943/09). O isolamento das células da pele a partir de prepúcio foi realizado em colaboração com o Laboratório de Biologia da Pele coordenado pela Profa. Dra. Silvya Stuchi Maria-Engler. Todos os doadores de pele assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Os prepúcios foram lavados e esterilizados, e as camadas da pele foram separadas por incubação com dispase (Roche). Os fragmentos da epiderme foram cultivados, enquanto a derme foi digerida com solução de colagenase tipo I. Por fim, as células foram cultivadas em meio de cultura específico para cada tipo celular. Os queratinócitos foram cultivados em meio *KBM Gold* e suplementados com "*KBM Gold Single Quots*" (ambos da Lonza). Os melanócitos foram cultivados em meio 254CF e suplementados com *Human Melanocyte Growth Supplement* (HMGS) (ambos da Gibco). As células foram mantidas em estufa a 37 °C contendo atmosfera de 5% (melanócito) e 7,5% (queratinócitos) de CO_2.

3.2. Geração de pele humana reconstruída

A pele humana reconstruída foi obtida mediante a mistura de fibroblastos ($15x10^4$ células/pele) ressuspensos em SFB (50µl/pele) com o colágeno tipo I (2,5mg/ml) reconstituído, ou seja, com pH corrigido pela adição de meio Ham's F12 10X concentrado (100µl/pele, Gibco Life Tecnologies, MD,USA) e um volume igual

de tampão de reconstituição (2,2% $NaHCO_3$, NaOH 0,05M, HEPES 200mM) em gelo. A solução contendo colágeno tipo I e fibroblastos foi transferida para placas de 24 poços e mantidas em estufa à 37ºC por 15 à 30 minutos para polimerização do colágeno, resultando em um gel de colágeno contendo os fibroblastos. Após este tempo, foi adicionado 1mL de meio RAFT sobre cada poço contendo os géis para normalização do pH. Estas placas foram mantidas em estufa por 2 horas para posterior adição da mistura contendo queratinócitos e melanócitos (Brohem *et al.*, 2011).

A mistura de melanócitos ($8,3x10^4$ células/pele) e queratinócitos ($25x10^4$ células/pele) na proporção 1:3, foi utilizada para a reconstrução da epiderme pigmentada. Após a normalização do pH do gel de colágeno com fibroblastos, o meio RAFT foi removido e a mistura de melanócitos e queratinócitos foi adicionada sobre o gel. A placa de 24 poços contendo esta montagem de células e colágeno foi então mantida em estufa à 37ºC e 5% de CO_2 por 24 horas e depois disso, a estrutura transferida para uma grade de metal previamente esterilizada, onde ela foi cultivada por 10 dias em uma interface ar:líquido para completa estratificação da epiderme. Nesta interface, a porção líquida é composta por meio RAFT na presença ou não dos estímulos estudados (TYR, NH_4Cl, QUIN, IFN-γ), sendo trocada a cada dois dias(Pennacchi *et al.*, 2015).

3.2.1. Avaliação morfológica da pele

Após a confecção das peles, essas foram fixadas com formalina tamponada 10% a 4ºC durante 3 horas, desidratadas em álcool absoluto e posteriormente embebidas em parafina histológica no Setor de Técnicas Histológicas do ICB-USP. Os blocos foram cortados em secções de 5µm em micrótomo e as lâminas foram submetidas à coloração Hematoxilina & Eosina (Tiago *et al.*, 2014; Pennacchi *et al.*,

2015) para análise morfológica em microscópio óptico, e à coloração de Fontana-Masson (De Assis *et al.*, 2018) para quantificação da melanina produzida.

3.3. Expressão gênica dos modelos 2D de pigmentação via qRT-PCR.

O RNA total das células foi extraído com o Kit RNeasy Mini Kit (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante. Até 1 μg do RNA total foi reversamente transcrito usando o kit *High Capacity RNA-to-cDNA kit* (*Applied Biosystems*). Foram realizados estudos da expressão gênica por PCR em tempo real (qRT-PCR) em sistema TaqMan (*Applied Biosystems)*. Para cada reação, a expressão de GADPH (Hs00266705_g1) foi usada como gene endógeno controle. O método de comparação relativa ($2^{-\Delta\Delta CT}$) foi usado para análise dos níveis de expressão de mRNA. Foram estudadas as seguintes moléculas:

- **Enzima do metabolismo de Trp:** IDO1 (EC 1.13.11.52)
- **Marcadores da melanogênese:** MITF (Hs01117294_m1), Tirosinase - TYR (Hs01099965_m1), TYRP1 (Hs01060054_m1) e Melan-A/MART-1 (Hs00194133_m1).

3.4. Expressão proteica dos modelos 2D de pigmentação via Western Blot

As células foram lavadas e retidas da placa de cultura na presença de 100μL de tampão RIPA (*Sigma-Aldrich, St Loius, MO, USA*) na presença de inibidores de protease, fosfatase e proteosomo, com o auxílio de um *scraper cell*. Após a completa remoção celular, elas foram mantidas em gelo em contato com o tampão por 15 minutos e então foram passadas por agulha fina a fim de lisar completamente as células aumentando o rendimento proteico. Os tubos foram centrifugados à 4ºC por 30 minutos à 14000 rpm. O sobrenadante foi mantido à -80ºC até o momento dos experimentos. As proteínas totais presentes nos lisados celulares foram quantificadas

pelo *Pierce™ BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific®)* conforme orientações do fabricante, utilizando para curva padrão a Albumina Sérica Bovina. Após dosagem, 5μg de cada amostra foram preparadas em tampão de amostra e separadas em gel de agarose comercial (7*%, MiniPROTEAN® TGXTM Bio-Rad)* com 130 V por 50 minutos. A transferência das proteínas do gel para membrana foi realizada em sistema da Bio-Rad (*Bio-Rad, Richmond, CA, USA*). Fez-se então o bloqueio da membrana com 5% de leite desnatado em TBST durante 2 horas à temperatura ambiente com agitação suave seguida da incubação overnight a 4 ° C com anticorpos primários contra MITF (1:500), TYR (1:1000), Rab7 (1:5000), Rab27a (1:200), PAR-2 (1:1000) (*Abcam, Cambridge, Reino Unido*). O controle das proteínas endógenas foi realizado em posição da membrana distante das proteínas de interesse, com anticorpo anti-viculina (1:5000). Após incubação overnight a 4 ºC sob agitação, as membranas foram lavadas e incubadas com anticorpos secundários (*anti-rabbit e anti-mouse IgG, 1:3000, horseradish peroxidase-conjugated; Amersham Bioscences, Piscataway, NJ, USA*) por 1 hora à temperatura ambiente sob agitação, seguida de nova etapa de lavagem. A revelação foi feita com reagentes de quimiluminescência da *Bio-Rad*, e a quantificação das bandas geradas foi realizada pelo software *Image J.*

3.5. Quantificação de melanina

Após a incubação das células com cada um dos indutores da melanogênese testados, as células foram tripsinizadas e contadas. $1x10^6$ células foram separadas para dosagem de melanina, centrifugadas e o sobrenadante foi cuidadosamente retirado. Em seguida, as células foram ressuspensas em 250 μL de solução de NaOH 1M com 10% de DMSO e então levadas ao banho seco a 95º C por 1 hora. Após o aquecimento, 200 mL deste conteúdo foi transferido para placas de 96 poços, e

juntamente com uma curva de concentrações conhecidas de melanina sintética (*Sigma*®), a absorbância foi lida à 470 nm.

3.6. Quantificação dos metabólitos do Trp

A quantificação dos metabólitos do triptofano foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo LC-MS/MS (QqQ). O equipamento utilizado é composto por Bombas LC 1250 Bin Pump VL, auto-injetora 1260 HiP ALS acoplados ao espectrômetro de massas 6460 (todos da Agilent Technologies), a partir de uma colaboração com o Prof. Dr. Ernani Pinto, professor do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. As análises foram realizadas em software MassHunter e os dados coletados no modo MRM (Multiple Reaction Monitoring).

Para o preparo das amostras, o sobrenadante das co-culturas (500 µL) foi transferido à um microtubo de 1,5 mL contendo 1 mL de metanol : acetona (1:1) com 0,1% de ácido acético. Após adição das amostras, 10 µL de um mix de padrões internos (MLT-D4 e Trp-D5) para os analitos estudos foi adicionado ao microtubo. Posteriormente, homogeneizamos em vortex por 1 min e então armazenamos essas soluções por meia hora a -20ºC para precipitação das proteínas do meio de cultura. Após a incubação, os microtubos foram submetidos a centrifugação a 14.000 x g por 10 min a 4 ºC. O sobrenadante dos microtubos foi transferido para novos microtubos e secos em *Speedvac*. Ao final da secagem, as amostras foram reconstituídas em 100 µL de uma mistura de água:metanol (9:1) para então serem analisadas por cromatografia líquida.

3.7. Preparo das formulações cosméticas

Os ensaios envolvendo as formulações para incorporação de QUIN foram

realizados em colaboração com o laboratório da Profª. Luciana Lopes do ICB-USP. A formulação de nanoemulsão é formada por 70% de fase aquosa e 30% de uma mistura de fase oleosa (40%) e tensoativo (60%). A fase aquosa é composta exclusivamente por água, a fase oleosa possui migliol (65,73%), karite (20%), óleo de girassol (13,33%) e ceramida (0,94%), e o tensoativo utilizado é a fosfatidilcolina. Todos os compostos da fase oleosa foram pesados e misturados ao tensoativo, e sob aquecimento em banho-maria esta mistura foi fundida e homogeneizada. Posteriormente QUIN foi dissolvida em água e diluida para a concentração final na fase aquosa, que então foi adicionada sobre a fase oleosa. Para finalizar, a mistura foi homogenizada com auxílio de uma espátula.

A formulação do gel de hidroxietilcelulose foi feita a partir da dispersão do polimero no gel à 2%, seguida de agitação simples à temperatura ambiente. A solução estoque de QUIN foi adicionada à fase aquosa usada para diluir o gel. A concentração final de QUIN foi 100μM.

3.8. Ensaio *in vitro* de permeação cutânea em célula de difusão vertical em Franz

Este ensaio foi realizado com as duas formulações descritas acima, nanoemulsão e gel de hidroxietilcelulose 2%. O estudo de penetração *in vitro* foi conduzido com pele de orelha de porco. A pele foi colocada em uma célula de difusão de Franz (*Hanson Research*), com área de 1 cm^2 e volume de fase receptora de 3 mL. O estrato córneo da pele ficou voltado para o compartimento doador, ou seja, onde foram aplicadas as formulações contendo QUIN. A derme ficou voltada para a fase receptora, que é composta de PBS e que foi mantida em agitação e à uma temperatura de 37ºC durante todo o tempo de experimento. A pele recebeu aproximadamente 100 mg de cada uma das formulações por 8 ou 24 horas.

Após a exposição das peles às formulações de QUIN, elas foram submetidas

ao processo de "*tape stripping*" para a separação do estrato córneo e camadas viáveis. Os pedaços de fita adesiva utilizados para separação e análise do estrato córneo foram transferidos para um tubo com 4 mL de metanol. O restante da pele foi cortado em pequenos pedaços e colocados em 2 mL de metanol. Os tubos contendo estas amostras em metanol foram submetidos ao processo de extração em sonicador de banho por 15 min após agitação em vortex. Na sequência, estas amostras juntamente com a fase receptora foram submetidas à filtração em membrana de 45μm e quantificadas quanto ao teor de QUIN segundo o método descrito no item 3.6. desta tese.

3.9. Análise dos Resultados

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão e foram submetidos à análise estatística para testes de variância utilizando-se o teste ANOVA e o pós teste de Tukey para comparações múltiplas de médias. Para comparações entre dois grupos apenas, o *test T student* foi utilizado. Valores de p iguais ou menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. O software utilizado foi o Prism ®.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados, seguidos das discussões, estão divididos em três capítulos. No primeiro deles descrevemos a padronização do ensaio de melanogênese com células primárias humanas da pele. No capítulo 2 mostramos a modulação da melanogênese pela QUIN nos modelos padronizados, bem como o efeito da pigmentação sobre o metabolismo do Trp. O terceiro capítulo apresenta uma proposta de uso de QUIN como formulação cosmética para o controle da hiperpigmentação da pele.

5. CONCLUSÃO

A descoberta do envolvimento da QUIN na inibição da pigmentação pelo IFN-γ via modulação da enzima TYR nos permite considerar caminhos que ainda não haviam sido pensados para o mecanismo de ação desta citocina no processo de melanogênese. A indução da produção de melanina por 1-MT (um conhecido inibidor de IDO) deve ser mais aprofundado, buscando entender tanto seu mecanismo de ação quanto explorar sua toxicidade em formulações tópicas, o que poderia levar a uma proposta de seu uso para o tratamento de doenças que levam a hipocrômia da pele.

Ainda neste cenário, estamos avaliando junto à Agência USP de Inovação a existência de anteriroridade e a atividade inventiva do uso de QUIN e 1-MT no preparo de uma composição tópica para o clareamento ou pigmentação da pele, respectivamente.

Desta forma, caminhos futuros envolvem o desenvolvimento de ensaios *in vivo*, pré-clínicos e clínicos, com formulações destas duas moléculas. Para isso estamos considerando a possibilidade de futuras parcerias com indústrias farmacêuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-MALEK, Z. et al. Analysis of the UV-induced melanogenesis and growth arrest of human melanocytes. **Pigment Cell Res,** v. 7, n. 5, p. 326-32, Oct 1994. ISSN 0893-5785. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7533905 >.

ABDELMALEK, Z. et al. ANALYSIS OF THE UV-INDUCED MELANOGENESIS AND GROWTH ARREST OF HUMAN MELANOCYTES. **Pigment Cell Research,** v. 7, n. 5, p. 326-332, Oct 1994. ISSN 0893-5785. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994PW15100009 >.

ABEL, J.; HAARMANN-STEMMANN, T. An introduction to the molecular basics of aryl hydrocarbon receptor biology. **Biol Chem,** v. 391, n. 11, p. 1235-48, Nov 2010. ISSN 1437-4315. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20868221 >.

ABRAO, M. S. et al. PROTEIN-KINASE-C MEDIATES MCH SIGNAL TRANSDUCTION IN TELEOST, SYNBRANCHUS-MARMORATUS, MELANOCYTES. **Pigment Cell Research,** v. 4, n. 2, p. 66-70, Mar 1991. ISSN 0893-5785. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1991GF66900003 >.

ANDO, H. et al. Involvement of pigment globules containing multiple melanosomes in the transfer of melanosomes from melanocytes to keratinocytes. **Cell Logist,** v. 1, n. 1, p. 12-20, Jan 2011. ISSN 2159-2780. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21686100 >.

ARREOLA, R. et al. Immunomodulatory Effects Mediated by Serotonin. **Journal of Immunology Research**, 2015. ISSN 2314-8861. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000353776900001 >.

BABIARZ-MAGEE, L. et al. The expression and activation of protease-activated receptor-2 correlate with skin color. **Pigment Cell Res,** v. 17, n. 3, p. 241-51, Jun 2004. ISSN 0893-5785. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15140069 >.

BADAWY, A. A. B. Tryptophan availability for kynurenine pathway metabolism across the life span: Control mechanisms and focus on aging, exercise, diet and nutritional supplements. **Neuropharmacology,** v. 112, p. 248-263, Jan 2017. ISSN 0028-3908. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000390627800003 >.

BARBOSA, P. C. R. et al. Psychological and neuropsychological assessment of regular hoasca users. **Comprehensive Psychiatry,** v. 71, p. 95-105, Nov 2016. ISSN 0010-440X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000386642900013 >.

BENNETT, D. C.; LAMOREUX, M. L. The color loci of mice - A genetic century. **Pigment Cell Research,** v. 16, n. 4, p. 333-344, Aug 2003. ISSN 0893-5785. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000184204200002 >.

BERTOLOTTO, C. et al. Microphthalmia gene product as a signal transducer in cAMP-induced differentiation of melanocytes. **Journal of Cell Biology,** v. 142, n. 3, p. 827-835, Aug 1998. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000075415700018 >.

BOHM, M. et al. Melanocortin receptor ligands: New horizons for skin biology and clinical dermatology. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 126, n. 9, p. 1966-1975, Sep 2006. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000241359200007 >.

BRASH, D. E. UV-induced Melanin Chemiexcitation: A New Mode of Melanoma Pathogenesis. **Toxicol Pathol,** v. 44, n. 4, p. 552-4, 06 2016. ISSN 1533-1601. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26951162 >.

BRILLIANT, M.; GARDNER, J. Melanosomal pH, pink locus protein and their roles in melanogenesis. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 117, n. 2, p. 386-387, Aug 2001. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000170668300033 >.

BRODY, J. R. et al. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in metastatic malignant melanoma recruits regulatory T cells to avoid immune detection and affects survival. **Cell Cycle,** v. 8, n. 12, p. 1930-1934, Jun 15 2009. ISSN 1538-4101.

BROHEM, C. A. et al. Artificial skin in perspective: concepts and applications. **Pigment Cell Melanoma Res,** v. 24, n. 1, p. 35-50, Feb 2011. ISSN 1755-148X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21029393 >.

CADET, J.; DOUKI, T. Formation of UV-induced DNA damage contributing to skin cancer development. **Photochem Photobiol Sci,** v. 17, n. 12, p. 1816-1841, Dec 2018. ISSN 1474-9092. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29405222 >.

CANTALUPO, G. et al. Rab-interacting lysosomal protein (RILP): the Rab7 effector required for transport to lysosomes. **EMBO J,** v. 20, n. 4, p. 683-93, Feb 2001. ISSN 0261-4189. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11179213 >.

CARBONARO, T. M.; GATCH, M. B. Neuropharmacology of N,N-dimethyltryptamine. **Brain Research Bulletin,** v. 126, p. 74-88, Sep 2016. ISSN 0361-9230. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000387298400009 >.

CHA, J. Y. et al. Branched-chain amino acids complex inhibits melanogenesis in B16F0 melanoma cells. **Immunopharmacol Immunotoxicol,** v. 34, n. 2, p. 256-64, Apr 2012. ISSN 1532-2513. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21854182 >.

CHEN, N. et al. The role of keratinocyte growth factor in melanogenesis: a possible mechanism for the initiation of solar lentigines. **Exp Dermatol,** v. 19, n. 10, p. 865-72, Oct 2010. ISSN 1600-0625. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19780816 >.

CHENG, M. C. et al. Melanogenesis Inhibitors from the Rhizoma of Ligusticum Sinense in B16-F10 Melanoma Cells In Vitro and Zebrafish In Vivo. **Int J Mol Sci,** v. 19, n. 12, Dec 2018. ISSN 1422-0067. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30545008 >.

CHI, A. et al. Proteomic and bioinformatic characterization of the biogenesis and function of melanosomes. **Journal of Proteome Research,** v. 5, n. 11, p. 3135-3144, Nov 2006. ISSN 1535-3893. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000241755400027 >.

CLARA R.O, et al. Melanocytes are more responsive to IFN-γ and produce higher amounts of kynurenine than melanoma cells. Biol Chem 2016 Jan;397(1):85-90. doi: 10.1515/hsz-2015-0173.

CLAUSTRAT, B.; LESTON, J. Melatonin: Physiological effects in humans. **Neurochirurgie,** v. 61, n. 2-3, p. 77-84, Apr-Jun 2015. ISSN 0028-3770. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000355716800006 >.

CORREA, M. D. Solar ultraviolet radiation: properties, characteristics and amounts observed in Brazil and South America. **Anais Brasileiros De Dermatologia,** v. 90, n. 3, p. 297-310, May-Jun 2015. ISSN 0365-0596. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000357389900001 >.

COSTIN, G. E.; HEARING, V. J. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. **Faseb Journal,** v. 21, n. 4, p. 976-994, Apr 2007. ISSN 0892-6638. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245650400003 >.

DE ASSIS, L. V. M. et al. Melanopsin and rhodopsin mediate UVA-induced immediate pigment darkening: Unravelling the photosensitive system of the skin. **Eur J Cell Biol,** v. 97, n. 3, p. 150-162, Apr 2018. ISSN 1618-1298. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29395480 >.

DONATIEN, P. D. et al. The expression of functional MSH receptors on cultured human melanocytes. **Arch Dermatol Res,** v. 284, n. 7, p. 424-6, 1992. ISSN 0340-3696. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1337693 >.

ELIAS, P. M. Stratum corneum defensive functions: An integrated view. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 125, n. 2, p. 183-200, Aug 2005. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000230493200003 >.

FERNSTROM, J. D. A Perspective on the Safety of Supplemental Tryptophan Based on Its Metabolic Fates. **Journal of Nutrition,** v. 146, n. 12, p. 2601-2608, Dec 2016. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000389391600023 >.

FIERRO, L. Serotonin-gated inward currents are three times more frequent in rat hairy skin sensory afferents than in those innervating the skeletal muscle. **Molecular Pain,** v. 13, Sep 2017. ISSN 1744-8069. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000410221300001 >.

FUJIGAKI, H. et al. Linking phencyclidine intoxication to the tryptophan-kynurenine pathway: Therapeutic implications for schizophrenia. **Neurochem Int,** v. 125, p. 1-6, 05 2019. ISSN 1872-9754. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30731185 >.

FUKUDA, M.; KURODA, T. S.; MIKOSHIBA, K. Slac2-a/melanophilin, the missing link between Rab27 and myosin Va: implications of a tripartite protein complex for melanosome transport. **J Biol Chem,** v. 277, n. 14, p. 12432-6, Apr 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11856727 >.

GARBE, C. et al. ANTITUMOR ACTIVITIES OF INTERFERON-ALPHA, INTERFERON-BETA, AND INTERFERON-GAMMA AND THEIR COMBINATIONS ON HUMAN-MELANOMA CELLS-INVITRO - CHANGES OF PROLIFERATION, MELANIN SYNTHESIS, AND IMMUNOPHENOTYPE. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 95, n. 6, p. S231-S237, Dec 1990. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1990EQ16700038 >.

GIBBS, S. et al. Melanosome capping of keratinocytes in pigmented reconstructed epidermis--effect of ultraviolet radiation and 3-isobutyl-1-methyl-xanthine on melanogenesis. **Pigment Cell Res,** v. 13, n. 6, p. 458-66, Dec 2000. ISSN 0893-5785. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11153698 >.

GOBAILLE, S. et al. Xanthurenic acid distribution, transport, accumulation and release in the rat brain. **Journal of Neurochemistry,** v. 105, n. 3, p. 982-993, May 2008. ISSN 0022-3042. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000255139200037 >.

GOMES, M. M. et al. Biosynthesis of N,N-dimethyltryptamine (DMT) in a melanoma cell line and its metabolization by peroxidases. **Biochemical Pharmacology,** v. 88, n. 3, p. 393-401, Apr 2014. ISSN 0006-2952. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000334479100012 >.

HALABAN, R. et al. Abnormal acidification of melanoma cells induces tyrosinase retention in the early secretory pathway. **Journal of Biological Chemistry,** v. 277, n. 17, p. 14821-14828, Apr 26 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000175203000061 >.

HARDEN, J. L. et al. The tryptophan metabolism enzyme L-kynureninase is a novel inflammatory factor in psoriasis and other inflammatory diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology,** v. 137, n. 6, p. 1830-1840, Jun 2016. ISSN 0091-6749. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000377527200025 >.

HEARING, V. J. Biogenesis of pigment granules: a sensitive way to regulate melanocyte function. **Journal of Dermatological Science,** v. 37, n. 1, p. 3-14, Jan 2005. ISSN 0923-1811. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000226636000001 >.

HIROSAKI, K. et al. Tyrosinase and tyrosinase-related protein 1 require Rab7 for their intracellular transport. **J Invest Dermatol,** v. 119, n. 2, p. 475-80, Aug 2002. ISSN 0022-202X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12190873 >.

HOASHI, T. et al. MART-1 is required for the function of the melanosomal matrix protein PMEL17/GP100 and the maturation of melanosomes. **Journal of Biological Chemistry,** v. 280, n. 14, p. 14006-14016, Apr 2005. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000228095500103 >.

HOLMGAARD, R. B. et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. **J Exp Med,** v. 210, n. 7, p. 1389-402, Jul 2013. ISSN 1540-9538. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23752227 >.

ITO, H. et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase activity accelerates skin wound healing. **Biomaterials,** v. 53, p. 221-228, Jun 2015. ISSN 0142-9612. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000353929800021 >.

IYENGAR, B. Photomodulation of the melanocyte cell cycle by indoleamines. **Biological Signals and Receptors,** v. 7, n. 6, p. 345-350, Nov-Dec 1998. ISSN 1422-4933. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000077793500005 >.

IZUMI, T. et al. The roles of Rab27 and its effectors in the regulated secretory pathways. **Cell Struct Funct,** v. 28, n. 5, p. 465-74, Oct 2003. ISSN 0386-7196. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14745138 >.

JABLONSKI, N. G.; CHAPLIN, G. Colloquium paper: human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 107 Suppl 2, p. 8962-8, May 2010. ISSN 1091-6490. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20445093 >.

JACOB, M. S.; PRESTI, D. E. Endogenous psychoactive tryptamines reconsidered: an anxiolytic role for dimethyltryptamine. **Medical Hypotheses,** v. 64, n. 5, p. 930-937, 2005 2005. ISSN 0306-9877. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000228107500007 >.

JANJETOVIC, Z. et al. Melatonin and its metabolites protect human melanocytes against UVB-induced damage: Involvement of NRF2-mediated pathways. **Scientific Reports,** v. 7, Apr 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000400247600033 >.

JORDENS, I. et al. Rab7 and Rab27a control two motor protein activities involved in melanosomal transport. **Pigment Cell Res,** v. 19, n. 5, p. 412-23, Oct 2006. ISSN 0893-5785. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16965270 >.

KASS, D. A. Fresh evidence overturns the identification of a factor involved in blood-vessel dilation. **Nature,** v. 566, n. 7745, p. 462-464, 02 2019. ISSN 1476-4687. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30809049 >.

KESZTHELYI, D.; TROOST, F. J.; MASCLEE, A. A. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. **Neurogastroenterol Motil,** v. 21, n. 12, p. 1239-49, Dec 2009a. ISSN 1365-2982. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19650771 >.

KESZTHELYI, D.; TROOST, F. J.; MASCLEE, A. A. M. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. **Neurogastroenterology and Motility,** v. 21, n. 12, p. 1239-1249, Dec 2009b. ISSN 1350-1925. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000271644200002 >.

KIM, B. J. et al. The Detrimental Effects of Kynurenine, a Tryptophan Metabolite, on Human Bone Metabolism. **J Clin Endocrinol Metab,** v. 104, n. 6, p. 2334-2342, Jun 2019. ISSN 1945-7197. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30715395 >.

KIM, T. K. et al. N-1-Acetyl-5-Methoxykynuramine (AMK) Is Produced in the Human Epidermis and Shows Antiproliferative Effects. **Endocrinology,** v. 156, n. 5, p. 1630-1636, May 2015. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000353274500006 >.

_____. Melatonin and its metabolites accumulate in the human epidermis in vivo and inhibit proliferation and tyrosinase activity in epidermal melanocytes in vitro. **Molecular and Cellular Endocrinology,** v. 404, n. C, p. 1-8, Mar 2015. ISSN 0303-7207. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000351645700001 >.

KONGSHOJ, B. et al. Ammonium chloride and L-tyrosine enhance melanogenesis in vitro but not in vivo even in combination with ultraviolet radiation. **Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine,** v. 23, n. 5, p. 197-202, Oct 2007. ISSN 0905-4383. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000249196800007 >.

LE FLOC'H, N.; OTTEN, W.; MERLOT, E. Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications. **Amino Acids,** v. 41, n. 5, p. 1195-1205, Nov 2011. ISSN 0939-4451. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000296469100019 >.

LEE, G. K. et al. Tryptophan deprivation sensitizes activated T cells to apoptosis prior to cell division. **Immunology,** v. 107, n. 4, p. 452-460, Dec 2002. ISSN 0019-2805. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000179547900009 >.

LIN, C. B. et al. Modulation of microphthalmia-associated transcription factor gene expression alters skin pigmentation. **J Invest Dermatol,** v. 119, n. 6, p. 1330-40, Dec 2002. ISSN 0022-202X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12485436 >.

LIN, K. Y. et al. Regulation of miR-21 expression in human melanoma via UV-ray-induced melanin pigmentation. **Environ Toxicol,** v. 32, n. 8, p. 2064-2069, Aug 2017. ISSN 1522-7278. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28398611 >.

LO, J. A.; FISHER, D. E. The melanoma revolution: From UV carcinogenesis to a new era in therapeutics. **Science,** v. 346, n. 6212, p. 945-949, Nov 2014. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000345696000032 >.

MALTOS, A. L. et al. Niacin metabolism and indoleamine 2,3-dioxygenase activation in malnourished patients with flaky paint dermatosis. **Nutrition,** v. 31, n. 6, p. 890-892, Jun 2015. ISSN 0899-9007. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000354342900018 >.

MCELHINNEY, D. B. et al. EFFECT OF MELATONIN ON HUMAN SKIN COLOR. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 102, n. 2, p. 258-259, Feb 1994. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994MW28500022 >.

MENG, X. et al. Combinatorial antitumor effects of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitor NLG919 and paclitaxel in a murine B16-F10 melanoma model. **Int J Immunopathol Pharmacol,** v. 30, n. 3, p. 215-226, Sep 2017. ISSN 2058-7384. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28604143 >.

METZ, R. et al. Novel tryptophan catabolic enzyme IDO2 is the preferred biochemical target of the antitumor indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitory compound D-1-methyl-tryptophan. **Cancer Research,** v. 67, n. 15, p. 7082-7087, Aug 1 2007. ISSN 0008-5472.

MORRIS, J.; ELWOOD, M. Sun exposure modification programmes and their evaluation: A review of the literature. **Health Promotion International,** v. 11, n. 4, p. 321-332, Dec 1996. ISSN 0957-4824. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996VY18600008 >.

MOTTAZ, J. H.; ZELICKSON, A. S. Melanin transfer: a possible phagocytic process. **J Invest Dermatol,** v. 49, n. 6, p. 605-10, Dec 1967. ISSN 0022-202X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6075993 >.

MULLER, A. J.; SCHERLE, P. A. Targeting the mechanisms of tumoral immune tolerance with small-molecule inhibitors. **Nature Reviews Cancer,** v. 6, n. 8, p. 613-625, Aug 2006. ISSN 1474-175X.

NANNI, V. et al. Hydroalcoholic extract of Spartium junceum L. flowers inhibits growth and melanogenesis in B16-F10 cells by inducing senescence. **Phytomedicine,** v. 46, p. 1-10, Jul 2018. ISSN 1618-095X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30097108 >.

NATARAJAN, V. T. et al. Multifaceted pathways protect human skin from UV radiation. **Nature Chemical Biology,** v. 10, n. 7, p. 542-551, Jul 2014. ISSN 1552-4450. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000337871200011 >.

_____. IFN-gamma signaling maintains skin pigmentation homeostasis through regulation of melanosome maturation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,** v. 111, n. 6, p. 2301-2306, Feb 11 2014. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000330999600057 >.

_____. IFN-γ signaling maintains skin pigmentation homeostasis through regulation of melanosome maturation. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 111, n. 6, p. 2301-6, Feb 2014. ISSN 1091-6490. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24474804 >.

NGUYEN, N. T.; FISHER, D. E. MITF and UV responses in skin: From pigmentation to addiction. **Pigment Cell Melanoma Res,** v. 32, n. 2, p. 224-236, 03 2019. ISSN 1755-148X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30019545 >.

NIKI, Y. et al. 1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(2,4-dimethoxy-3-methylpheny)propane inhibits melanin synthesis by dual mechanisms. **J Dermatol Sci,** v. 63, n. 2, p. 115-21, Aug 2011. ISSN 1873-569X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21680155 >.

NORDLIND, K.; AZMITIA, E. C.; SLOMINSKI, A. The skin as a mirror of the soul: exploring the possible roles of serotonin. **Experimental Dermatology,** v. 17, n. 4, p. 301-311, Apr 2008. ISSN 0906-6705. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000253611800001 >.

OH, E. J. et al. A Novel Role of Serotonin Receptor 2B Agonist as an Anti-Melanogenesis Agent. **International Journal of Molecular Sciences,** v. 17, n. 4, Apr 2016. ISSN 1422-0067. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000374585300125 >.

OPITZ, C. A. et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. **Nature,** v. 478, n. 7368, p. 197-203, Oct 13 2011. ISSN 0028-0836.

_____. Tryptophan degradation in autoimmune diseases. **Cellular and Molecular Life Sciences,** v. 64, n. 19-20, p. 2542-2563, Oct 2007. ISSN 1420-682X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000250538200011 >.

PANICH, U. et al. Protective effect of AVS073, a polyherbal formula, against UVA-induced melanogenesis through a redox mechanism involving glutathione-related antioxidant defense. **BMC Complement Altern Med,** v. 13, p. 159, Jul 2013. ISSN 1472-6882. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23826868 >.

PANTOURIS, G.; MOWAT, C. G. Antitumour agents as inhibitors of tryptophan 2,3-dioxygenase. **Biochemical and Biophysical Research Communications,** v. 443, n. 1, p. 28-31, Jan 3 2014. ISSN 0006-291X; 1090-2104.

PARK, J. I. et al. Inhibitory effect of 2-methyl-naphtho[1,2,3-de]quinolin-8-one on melanosome transport and skin pigmentation. **Sci Rep,** v. 6, p. 29189, 07 2016. ISSN 2045-2322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27381646 >.

PEI, S. et al. UVB-inhibited H19 activates melanogenesis by paracrine effects. **Exp Dermatol,** v. 27, n. 10, p. 1120-1125, 10 2018. ISSN 1600-0625. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30044001 >.

PENNACCHI, P. C. et al. Glycated Reconstructed Human Skin as a Platform to Study the Pathogenesis of Skin Aging. **Tissue Eng Part A,** v. 21, n. 17-18, p. 2417-25, Sep 2015. ISSN 1937-335X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26132636 >.

PEREIRA, L. et al. IFN gamma regulates proliferation and neuronal differentiation by STAT1 in adult SVZ niche. **Front Cell Neurosci,** v. 9, p. 270, 2015. ISSN 1662-5102. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26217191 >.

PILLAIYAR, T.; MANICKAM, M.; NAMASIVAYAM, V. Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry,** v. 32, n. 1, p. 403-425, 2017. ISSN 1475-6366. Disponível em: < <Go to ISI>://CCC:000392591100031 >.Disponível em: < http://www.tandfonline.com >.

PILLAIYAR, T. et al. Inhibitors of Melanogenesis: An Updated Review. **J Med Chem,** v. 61, n. 17, p. 7395-7418, Sep 2018. ISSN 1520-4804. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29763564 >.

PIREDDA, P. et al. Subcellular Raman Microspectroscopy Imaging of Nucleic Acids and Tryptophan for Distinction of Normal Human Skin Cells and Tumorigenic Keratinocytes. **Anal Chem,** v. 87, n. 13, p. 6778-85, Jul 2015. ISSN 1520-6882. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25984831 >.

POORMASJEDI-MEIBOD, M.-S. et al. Anti-Scarring Properties of Different Tryptophan Derivatives. **Plos One,** v. 9, n. 3, Mar 17 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000333254100089 >.

RAMAIAH, A. Melanosomal pH and the regulation of pigmentation. **Pigment Cell Research,** v. 15, n. 3, p. 239-240, Jun 2002. ISSN 0893-5785. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000176006500010 >.

RANDHAWA, M. et al. Visible Light Induces Melanogenesis in Human Skin through a Photoadaptive Response. **Plos One,** v. 10, n. 6, Jun 2015. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000358150400067 >.

RELIENE, R. et al. N-acetyl Cysteine Protects against Ionizing Radiation-induced DNA Damage but Not against Cell Killing in Yeast and Mammals. **Environmental and Molecular Mutagenesis,** v. 50, n. 7, p. 569-569, Aug 2009. ISSN 0893-6692. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000269046400137 >.

RIZZI, A. et al. An investigation on the possible role of melatonin in melanogenesis. **Journal of Mass Spectrometry,** v. 41, n. 4, p. 517-526, Apr 2006. ISSN 1076-5174. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237364700010 >.

RODRIGUES, M. R. et al. Interferon-gamma independent oxidation of melatonin by macrophages. **J Pineal Res,** v. 34, n. 1, p. 69-74, Jan 2003. ISSN 0742-3098. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12485374 >.

SADIQ, A. ROLE OF SEROTONIN THROUGH 5HT1A AND 2A RECEPTORS DURING SKIN HEALING IN POST-THERMAL INJURY. **Wound Repair and Regeneration,** v. 24, n. 2, p. A22-A22, Mar-Apr 2016. ISSN 1067-1927. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000375157700095 >.

SAMIJA, I. et al. Microphthalmia-associated transcription factor and tyrosinase as markers of melanoma cells in blood of patients with melanoma. **Croatian Medical Journal,** v. 45, n. 2, p. 142-148, Apr 2004. ISSN 0353-9504. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000221157800004 >.

SARKHAIL, P. et al. Anti-Melanogenic Activity and Cytotoxicity of Pistacia vera Hull on Human Melanoma SKMEL-3 Cells. **Acta Med Iran,** v. 55, n. 7, p. 422-428, Jul 2017. ISSN 1735-9694. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28918611 >.

SATOU, G. et al. UV-B-activated B16 melanoma cells or HaCaT keratinocytes accelerate signaling pathways associated with melanogenesis via ANGPTL 2 induction, an activity antagonized by Chrysanthemum extract. **Exp Dermatol,** v. 28, n. 2, p. 152-160, Feb 2019. ISSN 1600-0625. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30554436 >.

SCOTT, G. et al. Filopodia are conduits for melanosome transfer to keratinocytes. **J Cell Sci,** v. 115, n. Pt 7, p. 1441-51, Apr 2002. ISSN 0021-9533. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11896192 >.

SEIBERG, M. Keratinocyte-melanocyte interactions during melanosome transfer. **Pigment Cell Res,** v. 14, n. 4, p. 236-42, Aug 2001. ISSN 0893-5785. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11549105 >.

SEIBERG, M. et al. The protease-activated receptor 2 regulates pigmentation via keratinocyte-melanocyte interactions. **Exp Cell Res,** v. 254, n. 1, p. 25-32, Jan 2000. ISSN 0014-4827. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10623462 >.

SEO, G. Y. et al. Extract Inhibits α-MSH-Induced Melanogenesis in B16F10 Cells via Down-Regulation of CREB Signaling Pathway. **Int J Mol Sci,** v. 20, n. 3, Jan 2019. ISSN 1422-0067. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30695994 >.

SIVAMANI, R. K.; CRANE, L. A.; DELLAVALLE, R. P. The Benefits and Risks of Ultraviolet Tanning and Its Alternatives: The Role of Prudent Sun Exposure. **Dermatologic Clinics,** v. 27, n. 2, p. 149-+, Apr 2009. ISSN 0733-8635. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000264933300010 >.

SLOMINSKI, A.; COSTANTINO, R. L-tyrosine induces tyrosinase expression via a posttranscriptional mechanism. **Experientia,** v. 47, n. 7, p. 721-4, Jul 1991. ISSN 0014-4754. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1906010 >.

SLOMINSKI, A. et al. Production of Serotonin and N-acetylserotonin in the human skin in vivo. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 137, n. 5, p. S79-S79, May 2017. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000406862400451 >.

_____. Functional activity of serotoninergic and melatoninergic systems expressed in the skin. **Journal of Cellular Physiology,** v. 196, n. 1, p. 144-153, Jul 2003. ISSN 0021-9541. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000183361700016 >.

_____. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. **Physiological Reviews,** v. 84, n. 4, p. 1155-1228, Oct 2004. ISSN 0031-9333. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000224094500003 >.

SLOMINSKI, A.; WORTSMAN, J.; TOBIN, D. J. The cutaneous serotoninergic/melatoninergic system: securing a place under the sun. **Faseb Journal,** v. 19, n. 2, p. 176-194, Feb 2005. ISSN 0892-6638. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227591900022 >.

SLOMINSKI, A.; ZBYTEK, B.; SLOMINSKI, R. Inhibitors of melanogenesis increase toxicity of cyclophosphamide and lymphocytes against melanoma cells. **Int J Cancer,** v. 124, n. 6, p. 1470-7, Mar 2009. ISSN 1097-0215. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19085934 >.

SODDU, G. et al. Interference of some tryptophan metabolites in the formation of melanin in vitro. **Pigment Cell Research,** v. 17, n. 2, p. 135-141, Apr 2004. ISSN 0893-5785. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000220175000005 >.

SON, J. et al. IFN-gamma inhibits basal and alpha-MSH-induced melanogenesis. **Pigment Cell & Melanoma Research,** v. 27, n. 2, Mar 2014a. ISSN 1755-1471. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000331454700010 >.

_____. IFN-γ inhibits basal and α-MSH-induced melanogenesis. **Pigment Cell Melanoma Res,** v. 27, n. 2, p. 201-8, Mar 2014b. ISSN 1755-148X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24267286 >.

SPELLBERG, B. The cutaneous citadel - A holistic view of skill and immunity. **Life Sciences,** v. 67, n. 5, p. 477-502, Jun 2000. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000087861000001 >.

STURM, R. A. Human pigmentation genes and their response to solar UV radiation. **Mutat Res,** v. 422, n. 1, p. 69-76, Nov 1998. ISSN 0027-5107. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9920429 >.

SUN, M. et al. G protein-coupled estrogen receptor enhances melanogenesis via cAMP-protein kinase (PKA) by upregulating microphthalmia-related transcription factor-tyrosinase in melanoma. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology,** v. 165, p. 236-246, Jan 2017. ISSN 0960-0760. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000390075800009 >.

SUZUKI, I. et al. Agouti signaling protein inhibits melanogenesis and the response of human melanocytes to alpha-melanotropin. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 108, n. 6, p. 838-842, Jun 1997. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XB83600001 >.

SWOPE, V. B. et al. Defining MC1R Regulation in Human Melanocytes by Its Agonist alpha-Melanocortin and Antagonists Agouti Signaling Protein and beta-Defensin 3. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 132, n. 9, p. 2255-2262, Sep 2012. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000307803800020 >.

TIAGO, M. et al. Fibroblasts protect melanoma cells from the cytotoxic effects of doxorubicin. **Tissue Eng Part A,** v. 20, n. 17-18, p. 2412-21, Sep 2014. ISSN 1937-335X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24548268 >.

VAN DEN BOSSCHE, K.; NAEYAERT, J. M.; LAMBERT, J. The quest for the mechanism of melanin transfer. **Traffic,** v. 7, n. 7, p. 769-78, Jul 2006. ISSN 1398-9219. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16787393 >.

VAN DER GOOT, A. T.; NOLLEN, E. A. A. Tryptophan metabolism: entering the field of aging and age-related pathologies. **Trends in Molecular Medicine,** v. 19, n. 6, p. 336-344, Jun 2013. ISSN 1471-4914. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000321150100002 >.

VONDROUŠOVÁ, J. et al. Monitoring of kynurenine pathway metabolites, neurotransmitters and their metabolites in blood plasma and brain tissue of individuals with latent toxoplasmosis. **J Pharm Biomed Anal,** v. 170, p. 139-152, Jun 2019. ISSN 1873-264X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30925271 >.

YAMAGUCHI, Y.; HEARING, V. J. Physiological factors that regulate skin pigmentation. **Biofactors,** v. 35, n. 2, p. 193-199, Mar-Apr 2009. ISSN 0951-6433. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266632900012 >.

YAMAMOTO, O.; BHAWAN, J. Three modes of melanosome transfers in Caucasian facial skin: hypothesis based on an ultrastructural study. **Pigment Cell Res,** v. 7, n. 3, p. 158-69, Jun 1994. ISSN 0893-5785. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7971749 >.

YANG, L. L. et al. Interferon-gamma Inhibits Melanogenesis and Induces Apoptosis in Melanocytes: A Pivotal Role of CD8(+) Cytotoxic T Lymphocytes in Vitiligo. **Acta Dermato-Venereologica,** v. 95, n. 6, p. 664-670, 2015. ISSN 0001-5555. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000359093800004 >.

YANG, Y.; SAUVE, A. A. NAD(+) metabolism: Bioenergetics, signaling and manipulation for therapy. **Biochimica Et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics,** v. 1864, n. 12, p. 1787-1800, Dec 2016. ISSN 1570-9639. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000386861100017 >.

ZHOU, J.; LING, J.; PING, F. Interferon-γ Attenuates 5-Hydroxytryptamine-Induced Melanogenesis in Primary Melanocyte. **Biol Pharm Bull,** v. 39, n. 7, p. 1091-9, 2016a. ISSN 1347-5215. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27374284 >.

ZHOU, J. et al. Cross-talk between interferon-gamma and interleukin-18 in melanogenesis. **J Photochem Photobiol B,** v. 163, p. 133-43, Oct 2016. ISSN 1873-2682. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27567084 >.

Universidade de São Paulo
Brasil

Login

Aluno(a)
Maryana Stephany Ferreira Branquinho
NUSP : 8442874
Sair

Apresentação

- Apresentação
- Vídeos tutoriais

+ Acesso público

+ Senha

+ Pessoa

+ Informações pessoais

- Aluno regular

- Ficha do aluno
- Bolsas
- Emissão de documentos
- Programa USP iFriends
- Validação de dados

+ PAE

+ Matrícula

+ Cartões USP

- Avisos
- Mapa do *site*
- E-mails automáticos
- Quem São

- Portal Alumni

NUSP: 8442874	Nome: Maryana Stephany Ferreira Branquinho

Ficha do Aluno

	Curso	Área	Nº Sequencial	Situação	Visualizar
	Mestrado	Análises Clínicas (9136)	1	Titulado	
	Doutorado	Análises Clínicas (9136)	2	Transferido de Área	
➔	Doutorado	Fisiopatologia (9142)	1	Matrícula Regular	

Preparar para imprimir

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9142 - 8442874/1 - Maryana Stephany Ferreira Branquinho

Email:	maryanabranquinho@usp.br
Data de Nascimento:	08/12/1988
Cédula de Identidade:	RG - MG-15.448.034 - MG
Local de Nascimento:	Estado de Minas Gerais
Nacionalidade:	Brasileira
Graduação:	Farmacêutica - Universidade Federal de Alfenas - Minas Gerais - Brasil - 2012
Mestrado:	Mestra em Ciências - Área: Análises Clínicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2015

Curso:	Doutorado
Programa:	Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)
Área:	Fisiopatologia
Data de Matrícula:	13/10/2015
Início da Contagem de Prazo:	13/10/2015
Data Limite para o Depósito:	14/10/2019
Orientador:	Prof(a). Dr(a). Ana Campa - 09/01/2017 até o presente. Email: anacampa@usp.br
Proficiência em Línguas:	Inglês, Aprovado em 13/10/2015
Data de Aprovação no Exame de Qualificação:	Aprovado em 14/11/2017
Data do Depósito do Trabalho:	
Título do Trabalho:	
Data Máxima para Aprovação da Banca:	
Data de Aprovação da Banca:	
Data Máxima para Defesa:	
Data da Defesa:	
Resultado da Defesa:	
Histórico de Ocorrências:	Primeira Matrícula em 13/10/2015

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).
Última ocorrência: Matrícula Regular em 31/01/2019
Impresso em: 11/07/2019 14:22:23

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9142 - 8442874/1 - Maryana Stephany Ferreira Branquinho

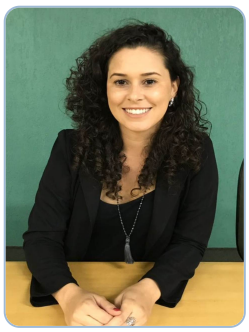
Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5792-3/3	Tópicos em Análises Clínicas III	08/03/2016	20/06/2016	15	1	100	A	N	Concluída
QBQ5888-2/2	Tópicos em Metabolismo (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	26/04/2016	20/06/2016	120	8	100	A	N	Concluída
FBC5766-4/3	Tópicos em Análises Clínicas IV	02/08/2016	14/11/2016	15	1	100	A	N	Concluída
QBQ5715-11/1	Planejamento de Aulas Práticas de Bioquímica e Biologia Molecular (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	17/08/2016	08/11/2016	120	8	100	A	N	Concluída
FBC5813-6/1	Aplicações de Cromatografia e Espectrometria de Massas em Análises Toxicológicas	06/03/2017	27/03/2017	60	0	-	-	N	Turma cancelada
FBT5776-5/5	Tópicos Especiais de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica II	07/07/2017	20/07/2017	30	2	100	A	N	Concluída
FBC5885-1/1	Aplicações de Cromatografia e Espectrometria de Massas em Toxicologia	07/05/2018	17/06/2018	90	6	90	A	N	Concluída
FBC5956-1/1	Atualização e Revisão de Modelos de Pele	04/02/2019	10/02/2019	30	2	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	0	20	28
Estágios:			
Total:	0	20	28

Créditos Atribuídos à Tese: 167

Conceito a partir de 02/01/1997:
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula Regular em 31/01/2019
Impresso em: 11/07/2019 14:22:23



Maryana Stephany Ferreira Branquinho

Bolsista de Doutorado do CNPq

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/2468990281614444
ID Lattes: **2468990281614444**
Última atualização do currículo em 15/03/2019

Farmacêutica pela Universidade Federal de Alfenas (2012) e Mestre em Farmácia (Área Análises Clínicas) pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (2015). Atualmente é doutoranda em Farmácia (Área Fisiopatologia) pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Atuou como docente na Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Departamento de Engenharia, onde ministrou aulas de Química e Bioquímica para o curso de Engenharia Biomédica. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Maryana Stephany Ferreira Branquinho
Nome em citações bibliográficas	BRANQUINHO, M. S. F.

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2015
Doutorado em andamento em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia) (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Papel do metabolismo de triptofano e do interferon gama na indução da melanogênese.,
Orientador: Ana Campa.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

2013 - 2015
Mestrado em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia) (Conceito CAPES 7).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Efeitos dos inibidores de IDO e TDO na proliferação, migração e invasão de melanomas humanos e na atividade tumoricida de células mononucleares.,Ano de Obtenção: 2015.
Orientador: Ana Campa.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

2007 - 2012
Graduação em Farmácia.
Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Brasil.
Título: Avaliação do efeito do extrato de partes aéreas de Baccharis Dracunculifolia sobre a função renal em ratos diabéticos.
Orientador: Fernanda Borges de Araújo Paula.

Formação Complementar

2018 - 2018
Desenvolvimento de Métodos Indicativos de Estabilidade. (Carga horária: 17h).
United States Pharmacopeia - Brazil, USP, Brasil.

2018 - 2018
Cromatografia Líquida: importância e aplicações. (Carga horária: 2h).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2018 - 2018
HPLC - Teoria Básica e Prática. (Carga horária: 40h).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Atuação Profissional

Universidade Paulista, UNIP, Brasil.

Vínculo institucional

2018 - 2018 Vínculo: Professor Visitante, Enquadramento Funcional: Professor, Carga horária: 4

Outras informações Professor no Curso de Pós- Graduação em Análises Clínicas, atuando nas disciplinas de "Urinálise e Fluidos Biológicos" e "Citologia Oncológica e Imunohistoquímica".

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, PUC/SP, Brasil.

Vínculo institucional

2015 - 2015 Vínculo: Professor Visitante, Enquadramento Funcional: Professor visitante, Carga horária: 6

CJL Drogarias LTDA, CJL, Brasil.

Vínculo institucional

2012 - 2013 Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Farmacêutica Responsável

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Vínculo institucional

2013 - 2015 Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Mestrando, Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva.

Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL/MG, Brasil.

Vínculo institucional

2008 - 2008 Vínculo: , Enquadramento Funcional:

Laboratório Central de Análises Clínicas, LACEN, Brasil.

Vínculo institucional

2012 - 2012 Vínculo: Voluntário, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 40

Laboratório Municipal Dr. Alfredo Barbalho Cavalcante, L.M.A.B.C, Brasil.

Vínculo institucional

2008 - 2008 Vínculo: Voluntário, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 20

Município de Alfenas, ALFENAS, Brasil.

Vínculo institucional

2010 - 2010 Vínculo: Voluntário, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 4

Pharmacêutica Manipulação, PHARMACÊTICA, Brasil.

Vínculo institucional

2011 - 2011 Vínculo: Voluntário, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 40

Drogaria Rabelo e Peloso LTDA, DROG. RP, Brasil.

Vínculo institucional

2010 - 2010 Vínculo: Voluntário, Enquadramento Funcional: Estagiária, Carga horária: 30

Projetos de extensão

2008 - 2008 Ler: uma eterna aventura
Descrição: Vinculado ao Programa "Atenção à Saúde da Criança e Adolescente", onde incentivávamos a leitura de crianças de creches e orfanatos da cidade de Alfenas-MG..
Situação: Concluído; Natureza: Extensão.
Alunos envolvidos: Graduação: (25) .

Integrantes: Maryana Stephany Ferreira Branquinho - Integrante / Dênis da Silva Moreira - Coordenador.

Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia.

Idiomas

Inglês Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.
Espanhol Compreende Razoavelmente, Fala Pouco, Lê Razoavelmente, Escreve Pouco.

Prêmios e títulos

2014 Melhor pôster de mestrado apresentado na XIX Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêutica da USP, Faculdade de Ciências Farmacêutica da USP.

Produções

Produção bibliográfica

Apresentações de Trabalho

1. **BRANQUINHO, M. S. F.**; COIMBRA, J. ; BELLE, L. ; CLARA, R. O. ; MORENO, A. C. ; BRAGA, M. ; CAMPA A . There is much more to know about the use of 1-MT in anticancer immune therapy. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Outras produções bibliográficas

1. **BRANQUINHO, M. S. F.**; BRAGA, M. ; CLARA, R. O. ; Julio, AR ; MARIA-ENGLER, S. S. ; Junior, E P ; CAMPA A . 1-Methyl-tryptophan enantiomers differently affect the cross- talking between mononuclear and tumor cells and interferon-γ production.. bioRxiv, 2019 (PREPRINT).

Demais tipos de produção técnica

1. **BRANQUINHO, M. S. F.**. III CURSO DE INVERNO EM FISIOPATOLOGIA E ANÁLISES CLÍNICAS. 2016. (Curso de curta duração ministrado/Outra).

Bancas

Participação em bancas de comissões julgadoras

Outras participações

1. **BRANQUINHO, M. S. F.**. III International Symposium on Pathophysiology and Toxicology and VIII Simpósio de Pós-Graduação em Análises Clínicas. 2018. Universidade de São Paulo.
2. **BRANQUINHO, M. S. F.**. III International Symposium on Pathophysiology and Toxicology and VIII Simpósio de Pós-Graduação em Análises Clínicas. 2018. Universidade de São Paulo.
3. **BRANQUINHO, M. S. F.**. II International Symposium on Pathophysiology and Toxicology and VII Simpósio de Pós-Graduação em Análises Clínicas. 2016. Universidade de São Paulo.
4. **BRANQUINHO, M. S. F.**. 23º Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da USP- SIICUSP. 2015. Universidade de São Paulo.
5. **BRANQUINHO, M. S. F.**. 22º Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da USP - SIICUSP. 2014. Universidade de São Paulo.

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. IV ABCF Congress. 2018. (Congresso).
2.

31º RENIÃO ANUAL DA FESBE. THERE IS MUCH MORE ABOUT THE USE OF 1-MT IN ANTICANCER IMMUNE THERAPY. 2016. (Congresso).

3. XXI Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia.There is much more to know about the use of 1-MT in anticancer immune therapy. 2016. (Outra).
4. XIX Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia.Efeitos dos inibidores de IDO e TDO na proliferação, migração e invasão de melanomas humanos e na atividade tumoricida de células mononucleares. 2014. (Seminário).
5. Curso: Análise Forense.Análise Forense. 2011. (Outra).
6. Hematologia: principais causas de erro do hemograma e automação..Hematologia: principais causas de erro do hemograma e automação.. 2011. (Outra).
7. 44ª Semana Farmacêutica da UNIFAL-MG.44ª Semana Farmacêutica da UNIFAL-MG. 2010. (Encontro).
8. Campanha pelo uso racional de medicamentos.Campanha pelo uso racional de medicamentos. 2010. (Oficina).
9. "Pró-saúde: Reformulando a Saúde Pública"."Ao povo o que é do povo... Pró-saúde: Reformulando a Saúde Pública". 2008. (Seminário).
10. Biossegurança: a importância da imunização para o trabalhador de saúde..Biossegurança: a importância da imunização para o trabalhador de saúde.. 2008. (Outra).
11. Programa de Treinamento de Estagiários.Programa de Treinamento de Estagiários. 2008. (Outra).
12. Programa de Treinamento de Estagiários.Programa de Treinamento de Estagiários. 2008. (Outra).
13. 42ª Semana Farmacêutica da UNIFAL-MG.42ª Semana Farmacêutica da UNIFAL-MG. 2007. (Encontro).
14. Minicurso: Descarte de resíduos de serviço de saúde.Descarte de resíduos de serviço de saúde. 2007. (Outra).

Organização de eventos, congressos, exposições e feiras

1. **BRANQUINHO, M. S. F.**. III International Symposium on Pathophysiology and Toxicology and VIII Simpósio de Pós-Graduação em Análises Clínicas. 2018. (Congresso).
2. **BRANQUINHO, M. S. F.**. II International Symposium on Pathophysiology and Toxicology e VII Simpósio de Pós-Graduação em Análises Clínicas. 2016. (Congresso).
3. **BRANQUINHO, M. S. F.**. 44ª Semana Farmacêutica da UNIFAL-MG. 2010. (Outro).

Educação e Popularização de C & T

Cursos de curta duração ministrados

1. **BRANQUINHO, M. S. F.**. III CURSO DE INVERNO EM FISIOPATOLOGIA E ANÁLISES CLÍNICAS. 2016. (Curso de curta duração ministrado/Outra).

Outras informações relevantes

MEMBRO TITULAR NA COMISSÃO COORDENADORA DO PROGRAMA DE FARMÁCIA- REPRESENTANTE DOS ALUNOS DE PÓS-GRADUAÇÃO DO DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS. Monitoria no Programa de Aperfeiçoamento Estudantil (PAE) na Universidade de São Paulo (USP) na disciplina de Fisiopatologia. Monitorias durante a graduação: Bioquímica Clínica, no curso de Farmácia, Departamento de Análises Clínicas - UNIFAL MG; Controle Microbiológico de Alimentos, Cosméticos e Medicamentos no curso de Farmácia, Departamento de Alimentos e Medicamentos - UNIFAL MG. Farmácia Hospitalar no curso de Farmácia.

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 11/07/2019 às 14:20:06

Imprimir currículo