

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Melanossomas e tráfego de vesículas na pigmentação da pele e cabelo

Estratégias no controlo da pigmentação

Carolina Lucas Guedes de Magalhães

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



**Melanossomas e tráfego de vesículas na
pigmentação da pele e cabelo**
Estratégias no controlo da pigmentação

Carolina Lucas Guedes de Magalhães

Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentada à
Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia

Orientador: Doutora Elsa Anes, Professora Associada com Agregação em
Microbiologia

2019

Índice

Resumo	5
Abstract	6
Abreviaturas	8
1. Introdução	11
2. Componentes intervenientes na melanogénese	13
2.1. Melanoblastos	13
2.2. Melanócitos	13
2.3. Melanossomas	14
2.4. Melanina	14
2.5. Vesículas extracelulares	15
2.6. Exossomas e Microvesículas	16
2.7. Queratinócitos	18
3. Melanogénese	20
4. Melasma	26
4.1. Fisiopatologia	26
4.2. Tratamento	27
5. Vitiligo	31
5.1. Fisiopatologia	31
5.2. Tratamento	33
6. Albinismo	34
6.1. Classificação	35
6.2. Características fenotípicas	36
6.3. Diagnóstico	37
6.4. Tratamento	37

7. Envelhecimento do cabelo	38
7.1. Fisiologia	39
7.2. A utilização do FC como Sistema de Nanodelivery	40
7.3. O futuro do cuidado capilar	41
8. Conclusão	43
9. Referências Bibliográficas	45

Resumo

Na sociedade atual, cada vez se dá mais importância à imagem e à preservação da mesma. A pele e o cabelo são, provavelmente, as duas características que mais se destacam visualmente numa pessoa. A imagem que passamos é o nosso cartão de visita, sendo a primeira impressão que passamos de nós próprios. É a partir desta primeira impressão que, inconscientemente, retiramos uma ideia pré-concebida de determinada pessoa. Assim, o cuidado com a nossa imagem é cada vez mais uma preocupação na vida de cada um. Apesar de tudo, há situações que não conseguimos controlar, quer sejam doenças de pele, ou até mesmo o envelhecimento. Com o avançar da idade, tanto a pele como o cabelo envelhecem. No cabelo, o envelhecimento é notório com a perda de cor. Por outro lado, na pele, para além da perda de elasticidade e de brilho, também há doenças para as quais ficamos mais predispostos. No entanto, algumas doenças de pigmentação da pele podem manifestar-se também em idades precoces, tendo como principal fator desencadeador a radiação solar.

Embora se fale muito sobre prevenção, a verdade é que ainda não existem tratamentos completamente eficazes para as doenças de pigmentação da pele e ainda menos se fala sobre como retardar o envelhecimento do cabelo.

A presente monografia resume o processo que leva à pigmentação da pele e do cabelo, a melanogénese, com foco nos principais alvos terapêuticos, assim como as estratégias que podem vir a ser utilizadas no controlo da pigmentação e no retardamento do cabelo grisalho. O objetivo passa por expor teorias acerca daquilo que pode vir a ser desenvolvido neste contexto, apresentando os seus prós e contras, de forma a tentar encontrar uma terapêutica eficaz para cada situação.

Esta revisão foca-se nas principais doenças de pigmentação da pele, tais como o melasma, o vitiligo e o albinismo. Tanto o vitiligo, como o albinismo não apresentam muitos estudos relativamente à terapêutica, pois a sua etiologia também ainda não está totalmente esclarecida.

Palavras-chave: Melanogénese; Melasma; Vitiligo; Albinismo; Envelhecimento do cabelo

Abstract

In today's society, we give more importance to our image and its preservation. Skin and hair are probably the two features that stand out the most in a person. Our image is our business card, being the first impression that passes from ourselves. It is from this first impression that we unconsciously draw a preconceived idea from a person in particular. Thus, caring for our image is an increasingly concern in one's life. After all, there are situations that cannot be controlled, whether they are skin diseases or even aging.

With advancing age, both skin and hair get older. In hair, aging is very noticeable through color loss. On the other hand, in the skin, besides the loss of elasticity and shine, there are also diseases for which we are more predisposed. However, some skin pigmentation diseases may also manifest at earlier ages, with the main triggering factor being solar radiation.

Although there is so much discussion about prevention, the truth is that there are still no completely effective treatments for skin pigmentation diseases and even less on how to slow down hair aging.

This work summarizes the process that leads to skin and hair pigmentation, a melanogenesis, focusing on the main therapeutic targets as well as strategies that can be used to control both pigmentation and the graying process. The objective is to present the theories about what can be developed in this context, to present their pros and cons in order to try to find an effective therapy for each situation.

This review focuses on major skin pigmentation diseases such as melasma, vitiligo and albinism. Both vitiligo and albinism do not present many studies on therapy, because their etiology is not fully understood yet.

Keywords: Melanogenesis; Melasma; Vitiligo; Albinism; Graying

Abreviaturas

α -MSH – hormona estimulante de α -melanócitos

ACTH – hormona adrenocorticotrófica

aSMase – esfingomielinase ácida

ASP – proteína sinalizadora Agouti

BH4 – tetrahydrobiopterina

BMAL-1 – cérebro e músculo ARNTL - tipo 1

cAMP – adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

CHS – síndrome de Chediak-Higashi

DKK1 – proteína 1 relacionada ao Dickkopf

DNA – ácido desoxirribonucleico

DOPA – dihidroxifenilalanina

EDNRB – gene codificador do ERB

ERB – recetor da endotelina tipo B

ERK – cinases reguladas por sinal extracelular

ESCRT – complexos endossómicos necessários para o transporte

FC – folículo capilar

GPR143 – recetor acoplado à proteína G 143

GVHD – doença do enxerto contra hospedeiro

HGF – fator de crescimento dos hepatócitos

HPS – síndrome Hermansky-Pudlak

IL1 α – interleucina 1 α

IL-6 – interleucina 6

IV – infravermelho

KGF – fator de crescimento dos queratinócitos

KITLG – ligando do KIT

L-DOPA – levodopa ou ácido(S)-2-amino-3-(3,4-diidroxifenil)propanoico

MAPK-ERK - proteínas cinases ativadas por mitógeno, originalmente chamadas ERK

MC1R – recetor da melanocortina 1

miRNA – microRNA

MITF – fator de transcrição indutor de melanócitos

mRNA – RNA mensageiro

MVs – microvesículas

MVBs – corpos multivesiculares

NSF – Fator sensível à N-etilmaleimida

OA – albinismo ocular

OCA – albinismo oculocutâneo

OCA1 – albinismo oculocutâneo tipo 1

OCA2 – albinismo oculocutâneo tipo 2

PAH – fenilalanina hidroxilase

PIH – hiperpigmentação pós-inflamação

piRNA – RNA de interação com piwi

PKC – proteína cinase C

PKU – fenilcetonúria

PMEL – proteína pré-melanossoma

POMC – pró-opiomelanocortina

PPAR γ – recetor ativado por proliferação do peroxissoma γ

PUVA – psolareno + UVA

ROS – espécies reativas de oxigénio

rRNA – RNA ribossomal

RNA – ácido ribonucleico

SCC – carcinoma epidermoide cutâneo

SCF – fator de células estaminais

siRNA – RNA de interferência pequeno/RNA silenciador

sFRP2 – proteína 2 secretada relacionada ao frizzle

SNARE - recetor solúvel de ligação ao NSF

TCTH – transplante de células-tronco hematopoiéticas

tRNA – RNA de transferência

TXA – ácido tranexâmico

Tyr – gene tirosina

TYRP-1 – proteína 1 relacionada à tirosinase

TYRP-2 – proteína 2 relacionada à tirosinase

UV – ultravioleta

UVA – ultravioleta A

UVB – ultravioleta B

UVC – ultravioleta C

VEs – vesículas extracelulares

WIF1 – inibidor do fator 1 Wnt

1. Introdução

O cabelo e a pele fazem parte dos atributos mais característicos de cada pessoa. A sua cor é determinada pela quantidade, tipo e distribuição tecidual de melanina.¹

A importância da melanina na pele passa pela sua função de fotoproteção e de termorregulação, através da absorção da radiação UV prejudicial.² Por outro lado, ainda não é clara a importância biológica da pigmentação no cabelo. No entanto, sabe-se que esta característica tem um papel importante na comunicação social/sexual, sendo também um potencial benefício à rápida excreção de metais pesados, substâncias químicas e toxinas que se ligam seletivamente à melanina.³

O envelhecimento da pele e do cabelo parece estar relacionado, entre outros fatores, à radiação ultravioleta (UV). Para além de bronzear, a radiação UV também está associada ao envelhecimento e ao desenvolvimento de lesões hiperpigmentadas, sendo o principal fator de risco para o desenvolvimento do cancro de pele, principalmente o melanoma maligno.^{4,5} A radiação UVC (200-280 nm) atua como um agente de mutação forte que pode causar doenças imunomediadas e cancro, pela sua propriedade de ionização. Os raios UVB (280-320 nm) induzem diretamente a oxidação do ADN, enquanto que a radiação UVA (320-400 nm) altera o equilíbrio redox da célula e induz o stress oxidativo, levando ao dano indireto do ADN.^{6,7}

Para além do cancro de pele, existem outras doenças que são consequência de alterações nos mecanismos de pigmentação da pele e que podem ser congénitas ou adquiridas, permanentes ou temporárias, sistémicas ou restritas à pele.⁴ Entre elas temos o melasma, o vitiligo e o albinismo.⁸ Estas doenças têm um impacto importante na qualidade de vida dos pacientes e o seu tratamento pode ser insatisfatório, pelo que as indústrias farmacêutica e cosmética têm tentado encontrar novas soluções.⁴ Também o retardamento do envelhecimento capilar é, cada vez mais, uma preocupação. À medida que envelhecemos, o cabelo tende a perder o seu pigmento, o que se traduz numa diminuição da proteção do couro cabeludo. Se conseguirmos evitar este processo, ou pelo menos, modificá-lo, conseguiremos não só retardar o surgimento dos cabelos brancos, como mudar a cor do cabelo de dentro para fora.³

Nesta revisão, descrevemos os fatores intrínsecos e extrínsecos que regulam a pigmentação da pele e do cabelo humanos, com foco nos mecanismos de melanogénese. Conhecendo os mecanismos que desencadeiam estas alterações, talvez seja possível criar estratégias que revertam ou até mesmo que impeçam estas situações.

2. Componentes intervenientes na melanogénese

A melanogénese, por definição, é a produção de melanina, sendo mais frequentemente produzida pelos melanócitos. A radiação UV induz a pigmentação da pele, que se baseia no tráfego intra e intercelular da melanina desde os melanócitos até aos queratinócitos.⁵

Este é um processo complexo que, quando perturbado, pode determinar variados defeitos de pigmentação e que são classificados como hipo ou hiperpigmentação.⁴

Diferentes mecanismos têm sido sugeridos incluindo a heterofagocitose de ramificações de melanócitos por queratinócitos, a libertação de vesículas carregadas de melanossomas, a exocitose de melanina com endocitose subsequente por queratinócitos, transferência por nanotubos ou via filopódios de melanócitos e fusão direta com a membrana de queratinócitos.^{9,10}

2.1. Melanoblastos

Os melanoblastos são as células precursoras dos melanócitos. Estas células não pigmentadas têm origem nas células da crista neural embrionária. Após o fecho do tubo neural, os melanoblastos migram para várias regiões do corpo e evoluem para melanócitos, células do sistema nervoso periférico, osso e cartilagem da cabeça e coróide do olho. Os melanoblastos que se transformam em melanócitos são encontrados predominantemente na camada basal da epiderme da pele e nos folículos capilares².

2.2. Melanócitos

Os melanócitos são células dendríticas do neuroectoderma e que podem ser encontradas na pele, folículos capilares, olhos (úvea), ouvido interno (cóclea), ossos, coração e cérebro de humanos. São células pluripotentes que se diferenciam em resposta a uma complexa rede de vias reguladoras em interação, sendo responsáveis pela produção de melanina.

Os melanócitos, na pele, são rodeados por queratinócitos, sendo que cada melanócito é rodeado por, aproximadamente, 36 queratinócitos, para os quais transferem a melanina.²

2.3. Melanossomas

Os melanossomas são organelos endocíticos dos melanócitos, mais precisamente lisossomas secretórios e que contêm a melanina. Estes compartilham algumas proteínas com os lisossomas convencionais, mas também contêm proteínas de membrana únicas, como a proteína pré-melanossoma (PMEL), a tirosinase e a proteína 1 relacionada à tirosinase (TYRP-1), que são importantes para a melanogênese.^{11,12} Além disso, as proteínas marcadoras lisossômicas, como a catepsina D e a LAMP-1, também podem estar presentes em melanossomas maduros em baixos níveis.⁵

2.4. Melanina

A melanina é um pigmento sintetizado endogenamente pelos melanócitos², mais precisamente nos melanossomas, que são posteriormente depositados em vários órgãos.¹³

Os principais tipos de polímero de melanina são a eumelanina, de cor preta a castanha (altamente polimerizada) e a feomelanina, de cor amarela a vermelha (mais clara, menos polimerizada e contendo enxofre). O cabelo preto tem a proporção mais alta de eumelanino-feomelanina, enquanto os cabelos de vermelho a amarelo têm a menor proporção; cabelos grisalhos ou brancos têm muito pouca ou nenhuma melanina¹.

A pele que possui mais feomelanina também produz espécies de oxigênio mais reativas, que podem acelerar a carcinogênese, em comparação com a pele que produz mais eumelanina. Após a exposição à radiação UV, a melanina pode atuar como um fotossensibilizador para gerar radicais superóxido que causam lesão celular letal, mas este pigmento é importante para a homeostase da pele, sendo o bronzeado indicativo de stresse.¹⁴

Oticamente, a melanina possui um dos mais altos valores de índice de refração conhecidos por qualquer material biológico (entre 1,8 a 2,0) e um amplo espectro de absorção. Isso permite fortes interações e controlo de comprimentos de onda nos espectros eletromagnéticos, desde raios γ até UV, visível e infravermelho (IV). Assim, a melanina protege contra os raios UV prejudiciais e, no fungo *Cryptococcus*, contra a radiação γ .¹³

Este pigmento também serve de quelante a catiões poderosos, podendo atuar como destruidor de radicais livres. A formação de melanina é um produto de eventos bioquímicos complexos que começam com o aminoácido tirosina e o seu metabolito, dopa (ver Figura 1).

Os tipos e quantidades de melanina produzida pelos melanócitos são determinados geneticamente e são influenciados por uma variedade de fatores extrínsecos e intrínsecos. Os fatores extrínsecos incluem a radiação UV e certos compostos químicos, enquanto fatores intrínsecos incluem alterações hormonais, inflamação, idade, gravidez e determinadas doenças, como a diabetes. Esses estímulos afetam as diferentes vias da melanogênese e permitem que o processo evolua no sentido de fornecer proteção e manutenção da homeostase.²

2.5. Vesículas extracelulares

As vesículas extracelulares (VEs) são nanopartículas esféricas envolvidas por uma bicamada fosfolipídica e com diâmetro entre 30 nm a 1 μm .¹⁵ Estas vesículas são libertadas pela membrana plasmática por diversas células, incluindo células do sistema imunitário, como células dendríticas, macrófagos, células B, células T e células NK, sob condições basais ou durante o stress celular.¹⁶ Tanto os exossomas, como as microvesículas (MVs) podem dar origem às VEs.¹⁵ As VEs são preferencialmente endocitadas por queratinócitos, local onde são recebidas após a sua saída dos melanócitos.⁵

É importante salientar que a formação de VEs é impedida pela inibição da exocitose e aumento do pH lisossomal, mas não é afetada pelos inibidores de actina e microtúbulos⁵.

A capacidade das VEs interagirem com as células recetoras pela fusão das suas membranas e/ou fornecerem os seus conteúdos (proteínas, lípidos e RNAs) ainda não está totalmente esclarecida.

Vários mecanismos para a captação de VEs foram propostos, incluindo endocitose mediada por clatrina, endocitose dependente de caveolina, fagocitose, macropinocitose e fusão com a membrana plasmática ou endossomal. Independentemente dos mecanismos, a interação entre VEs e a membrana celular recetora pode incluir: ligação ligante/recetor; fusão; internalização do seu conteúdo ou uma combinação destes.¹⁶

As VEs expressam componentes responsáveis pela promoção da angiogénese (crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes), remodelação do estroma, quimiorresistência, troca genética e ativação da via de sinalização, através da transferência de um fator de crescimento/recetor.¹⁶ Dentro destes componentes encontram-se mRNAs e RNAs não codificantes (implicados na regulação do epigenoma), como miRNAs, transcrições de RNA sobrepostas com regiões codificadoras de proteínas, sequências repetidas, RNAs estruturais, fragmentos de tRNA, RNA de cofre, RNA Y, piRNAs e siRNAs.¹⁷ As moléculas de RNA são seletivamente incorporadas nas VEs.¹⁶

O mRNA pode ser traduzido nas células recetoras através do rRNA, decorrente da ativação de vias intracelulares, enquanto miRNAs, siRNA e piRNA são conhecidos por regular mais de 80% de todos os genes codificadores de proteínas através do efeito de silenciamento de genes [cada miRNA pode silenciar centenas de genes que codificam proteínas (mRNA)].¹⁸

O RNA longo não codificante incorporado no epigenoma (isto é, implicado na regulação do epigenoma) pode induzir alterações no fenótipo celular e, conseqüentemente, alterar os produtos celulares.^{19,20} Portanto, é concebível que, sob condições fisiológicas, as VEs possam desempenhar um papel crítico nos mecanismos de sinalização para funções celulares e biológicas essenciais. A presença das VEs na circulação periférica pode servir como um substituto para biópsias de doenças, permitindo o diagnóstico em tempo real e a monitorização de doenças. Estas vesículas podem ainda vir a ter um papel importante na terapêutica de doenças como o cancro ao conseguirem detetar tumores, doenças infecciosas, distúrbios neurodegenerativos, entre outros. Além disso, as VEs não modificadas e modificadas poderão vir a ter aplicações na administração macromolecular de fármacos.

No entanto, essa capacidade natural de transferência de informação genética pode facilitar a disseminação de doenças através da entrega de material genético e/ou proteínas patogénicas. Ainda para mais, as vesículas podem passar a barreira hematoencefálica.¹⁶

2.6. Exossomas e Microvesículas

Os exossomas são vesículas de tamanho inferior a 100nm.^{15,21} O mecanismo de formação dos exossomas é mediado pela via endossomal, incluindo vesículas endocíticas, endossomas precoces e endossomas tardios, também conhecidos como corpos multivesiculares (MVBs) e lisossomas. Os MVBs podem tomar dois caminhos: podem fundir-se com lisossomas para

posterior degradação lisossomal; ou podem ser secretados como exossomas num complexo endossômico responsável por vias dependentes de transporte (ESCRT) e ESCRT não-dependentes. O ESCRT compreende quatro complexos multiproteicos montados dentro dos MVBs: ESCRT -0, -I, -II, e -III, com proteínas acessórias associadas (por exemplo Alix e VPS4). Os complexos ESCRT-0, -I e -II reconhecem e sequestram proteínas de membrana ubiquitinadas na membrana endossomal, enquanto o complexo ESCRT-III é responsável pela junção da membrana e divisão das vesículas intraluminais.

Resumindo, os exossomas derivam de MVBs que se fundem com a membrana plasmática, libertando as vesículas internas no espaço extracelular ¹⁶.

Como consequência da sua origem, os exossomas contêm proteínas associadas ao endossoma (por exemplo, Rab GTPase, SNAREs, Anexinas, Flotilina, Alix, Tsg101 e Tetraspaninas), uma família de mais de 30 proteínas que são compostas por quatro domínios transmembranares como CD63, CD81, CD82, CD53, CD9 e CD37.^{19,22,23} As VEs também são enriquecidas em proteínas que se associam a jangadas lipídicas, incluindo proteínas associadas a glicosilfosfatidilinositol e flotilina.

Em comparação com a membrana plasmática, os exossomas são altamente enriquecidos em colesterol, esfingomiélin e hexosilceramidas à custa de fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina. Os ácidos gordos em exossomas são na maioria saturados ou monoinsaturados. ¹⁶

As MVs, também chamadas de ectossomas, têm um diâmetro entre 100 a 1000 nm e são formadas mais rapidamente do que os exossomas, através da vesiculação externa direta da membrana plasmática, o que leva ao desprendimento das vesículas.^{24,25} As MVs expressam marcadores de superfície como integrina- β , ligante CD40 e seletinas, como as de plasma e recetores de proteína de superfície que caracterizam a composição da membrana das suas células de origem.²⁶

Atualmente, sabe-se que existem duas formas de transferência de informação genética entre as células: transferência vertical, dos pais para os filhos, e transferência horizontal, que pode ser induzida por bacteriófagos ou vírus, ou através de exossomas e microvesículas.¹⁶

2.7. Queratinócitos

A epiderme é constituída maioritariamente por queratinócitos de renovação contínua em várias camadas. Essa estrutura forma a barreira epidérmica que contribui para as respostas defensivas contra vários estimuladores ambientais, como calor, frio, trauma, radiação e infeção. Vários estudos indicam que a autofagia desempenha um papel importante na biologia e patologia dos queratinócitos e envolve distúrbios cutâneos relacionados aos queratinócitos, incluindo psoríase, herpes zoster e carcinoma epidermoide cutâneo (SCC).²⁷

Os queratinócitos epidérmicos têm um papel imunoestimulador na construção do sistema de defesa em cooperação com as células da imunidade epidérmica. Estes expressam uma infinidade de moléculas de adesão à superfície que cumprem as funções recetoras que transmitem sinais para dentro e fora das células.²⁸

Os queratinócitos são o principal tipo celular da pele, fazendo parte da camada basal do tecido epitelial, juntamente com as células tronco.²⁸ Com base no potencial proliferativo, os queratinócitos são classificados em três grupos, células-tronco epidérmicas; células transitamplificantes; e células pós-mitóticas.²⁹ São o alvo principal das alterações mediadas pelos diferentes tipos de stresse. Este tipo celular apresenta, como característica principal, uma constituição proteica baseada principalmente na síntese de queratina, tendo mais de 50% da massa proteica total.²⁸

Os queratinócitos migram da camada basal para o epitélio, onde formam uma rede celular muito dinâmica e fisicamente resistente, estando relacionados com a remodelação do citoesqueleto celular e formação da estrutura supracelular de filamentos interconectados, como hemidesmosomas e desmosomas.

O processo de migração dos queratinócitos é acompanhado pela diferenciação celular associada à produção crescente de queratina. No final desse processo, que culmina na diferenciação terminal dos queratinócitos seguida por morte celular, os filamentos de actina permanecem intactos, formando o centro estrutural da camada morta da pele queratinizada. Esta pele queratinizada é eficaz na proteção contra a abrasão, agressões químicas e físicas, dessecação e penetração de patogénios.

Os queratinócitos são células robustas, capazes de responder e resistir ao stress. Simultaneamente, devem ser sensíveis o suficiente para responderem a sinais de morte e procederem à eliminação de células drasticamente danificadas e comprometidas, visando a restauração de uma barreira epidérmica funcional. Isto é possível através de uma regulação molecular que envolve inúmeras vias de sinalização e diversos sinais extracelulares, que devem ser interpretados corretamente pelos queratinócitos, a fim de realizarem a função apropriada na epiderme.²⁸

As vias de sinalização intracelulares são desencadeadas por fatores de crescimento e moléculas de adesão. Dentro dos fatores de crescimento, acredita-se que a família EGF e a família TGF- β desempenhem papéis centrais. Estas famílias regulam duplamente o crescimento de queratinócitos pelo efeito estimulador da proliferação do EGF e efeito inibidor da proliferação do TGF- β s.²⁹

Essa regulação mostra-se de grande importância, não somente para a manutenção de uma barreira epidérmica funcional, mas também na prevenção do cancro de pele e outras doenças. Assim, embora a epiderme produza queratinócitos durante toda a vida do indivíduo, de forma a manter as suas funções, também predispõe o queratinócito a ser o tipo celular com maior incidência de cancro em humanos (carcinoma de células basais e carcinoma de células escamosas), além de contribuir para o aparecimento de outras doenças dermatológicas.²⁸

3. Melanogénese

Existem dois tipos de pigmentação induzida, que dependem de fatores genéticos, sendo mais evidente em indivíduos com pele e cabelos escuros. A pigmentação imediata, que surge 5 a 10 minutos após a exposição à radiação UV e que desaparece minutos ou dias depois, deve-se em grande parte à radiação UVA e não depende do aumento da síntese de melanina, mas da oxidação da melanina pré-existente e da redistribuição dos melanossomas para a pele. Por outro lado, temos a pigmentação tardia, que ocorre 3 a 4 dias após a exposição à radiação UV e que desaparece ao final de algumas semanas. É causada principalmente pela radiação UVB e resulta de um aumento do nível de melanina epidérmica, particularmente a eumelanina, proporcionando fotoproteção.⁴

Assim, a radiação UV aumenta a proliferação e/ou recrutamento de melanócitos, o número de dendritos e a transferência de melanossomas para um local supranuclear nos queratinócitos para a fotoproteção do DNA. Além disso, a expressão de péptidos POMC, MC1R e enzimas melanogénicas aumentam em queratinócitos e melanócitos, respetivamente.⁴

A resposta celular entre a radiação UVA e UVB não é igual, apresentando diferenças. A incidência de radiação UVA causa danos na membrana plasmática, que é reparada através da exocitose lisossômica. Por outro lado, a exposição à radiação UVB não induz nenhuma libertação aumentada de enzimas lisossomais.

Embora os lisossomas sejam a unidade central de degradação da célula, a sua função inclui a regulação da morte celular, a manutenção da homeostase do colesterol e o reparo do dano da membrana plasmática por meio da exocitose.⁵ A exocitose pode ser constitutiva (não dependente de cálcio) ou regulada (dependente de cálcio). A exocitose constitutiva ocorre em todas as células e serve para secretar componentes da matriz extracelular ou incorporar proteínas recém-sintetizadas na membrana plasmática após a fusão com as vesículas transportadas.¹⁶

Após a lesão da membrana plasmática pela radiação UVA, há influxo de Ca_2^+ a partir do compartimento extracelular para a célula lesada, desencadeando uma exocitose lisossômica.³⁰ Estudos prévios mostraram que os lisossomas promovem a junção da membrana através da secreção de esfingomielinase ácida (aSMase), uma enzima que gera ceramida através da

clivagem da abundante esfingomielina lipídica da membrana.³¹ A exocitose lisossomal foi comprovada pela verificação da translocação de LAMP-1 para a superfície da célula. Assim, a translocação de LAMP-1 para a membrana plasmática é acompanhada pela libertação do conteúdo lisossomal, incluindo catepsina D e aSMase, diretamente para o meio, após a irradiação UVA.⁵

Distúrbios na regulação redox, regulação de cálcio, privação de glicose e infecção viral ou a sobreexpressão de proteínas podem levar ao stress do retículo endoplasmático, o que leva à diminuição do processo de enrolamento das proteínas. Desta forma há uma resposta proteica, que visa restaurar a função normal da célula, interrompendo a tradução da proteína, degradando proteínas mal dobradas e ativando as vias de sinalização que levam ao aumento da produção de chaperões moleculares envolvidos no enrolamento da proteína. Se estes objetivos não são alcançados dentro de um determinado tempo ou se perturbação é prolongada, a resposta da proteína desdobrada leva à ativação da apoptose (por exemplo, a via da p53). Ou seja, o stress celular, com ou sem apoptose, pode aumentar a produção de exossomas.¹⁶

Segundo alguns estudos, demonstrou-se que a transferência de melanossomas não tem relação mecânica com a exocitose lisossomal. Os melanossomas ligam-se a microtúbulos e passam por um transporte bi-direcional dependente de actina, desde a área perinuclear até às ramificações. É de relembrar que a inibição da actina e dos microtúbulos não inibe a exocitose.

Sabe-se que a exocitose lisossômica é acompanhada por perda de VEs da membrana plasmática dos melanócitos, sendo captadas pelos queratinócitos por endocitose, confirmando-se uma das teorias.⁵ Embora não esteja totalmente explicado, a transferência de melanossomas é estimulada e regulada através de fatores derivados de queratinócitos.⁵

A tirosinase é a enzima chave na melanogénese e a quantidade total de melanina é dependente da sua atividade e estabilidade. A TYRP1 catalisa a síntese de dopaquinona, um precursor chave da eumelanina e da feomelanina. Enquanto a eumelanogénese requer a intervenção direta de duas outras enzimas, TYRP1 e TYRP2, a feomelanogénese requer apenas a atividade inicial de Tyr.¹

A eumelanina é sintetizada a partir do L-dopacromo e a síntese da feomelanina depende da disponibilidade de compostos sulfidril nos melanossomas.¹⁴ O L-dopacromo aumenta a atividade da tirosinase, enquanto a L-tirosina induz a síntese de melanossomas e aumenta a

atividade da tirosinase.³² A L-tirosina serve assim como material de partida para a biossíntese de melanina (ver Figura 1). O produto imediato, DOPA, regula positivamente a síntese de melanina. A hidroxilação de L-tirosina em L-DOPA é a etapa de limitação da taxa na síntese de melanina. Portanto, propõe-se que os melanócitos possam atuar como reguladores da homeostase local e global dos sistemas melanogênicos, controlando os níveis de L-tirosina e a produção de L-DOPA.¹⁴

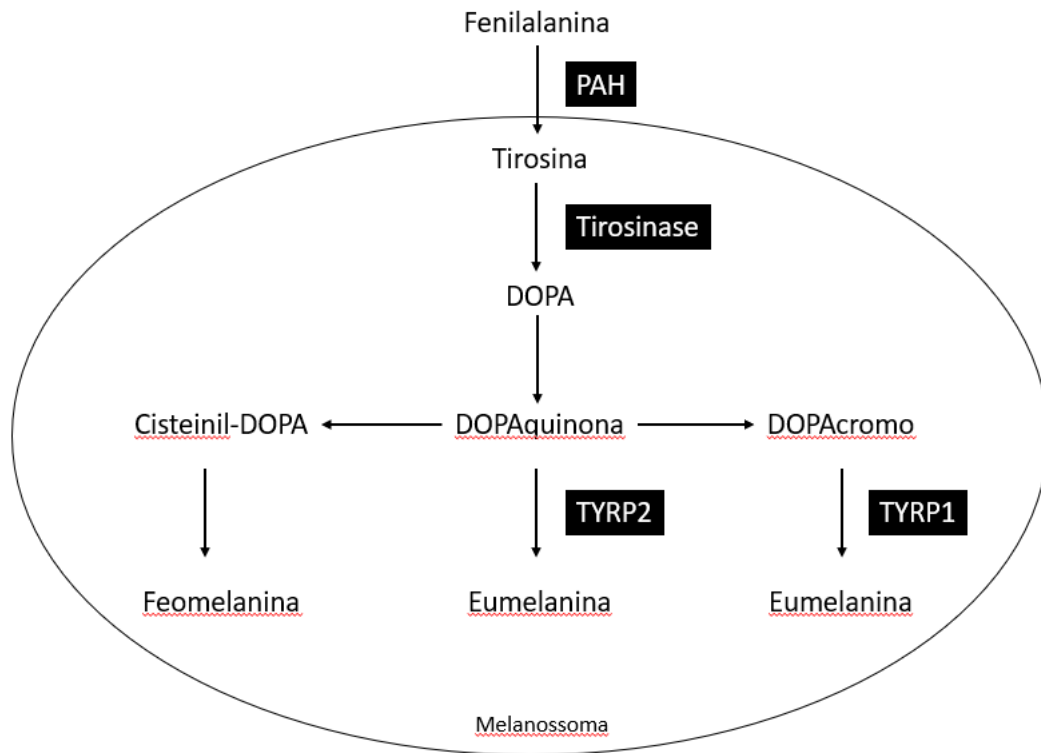


Figura 1 – Melanogênese. Processo de formação da eumelanina e da feomelanina⁴

A L-fenilalanina no citosol pode ser convertida em tirosina pela fenilalanina hidroxilase (PAH), a fim de servir como substrato da tirosinase. Além da tirosinase, TYRP1 e TYRP2 estão presentes nos melanossomas e também desempenham um papel crucial na catalisação de reações produtoras de eumelanina. O TYRP1 foi sugerido para aumentar a proporção de eumelanina:feomelanina e proteger contra o stresse oxidativo através do seu efeito peroxidase. A via bioquímica que resulta na formação de feomelanina envolve a síntese de cisteinil-dopa, que é um produto de condensação da dopaquinona e do aminoácido L-cisteína.⁴

Durante a melanogénese, a Tyr e o L-DOPA também atuam como agentes biorreguladores para outras funções celulares, como a formação de dendritos e o aprimoramento da migração celular (através da regulação negativa da PKC). O pH nos melanossomas pode determinar a taxa de produção de melanina e as taxas de eumelanina:feomelanina.¹⁴

A produção de melanina é iniciada e regulada por vários sistemas de sinalização e fatores de transcrição, incluindo o recetor KIT de tirosina cinase, o seu ligante SCF, bem como o MITF.³³ Evidências genéticas, bioquímicas e farmacológicas estabeleceram que a sinalização do MC1R é o principal fator que determina a melanogénese (ver Figura 2).

O MC1R é um membro de um subgrupo de recetores acoplados à proteína G de classe A. A síntese de eumelanina é estimulada pelos agonistas do MC1R, α -MSH e ACTH, enquanto que a síntese de feomelanina é estimulada via ASP.¹⁴

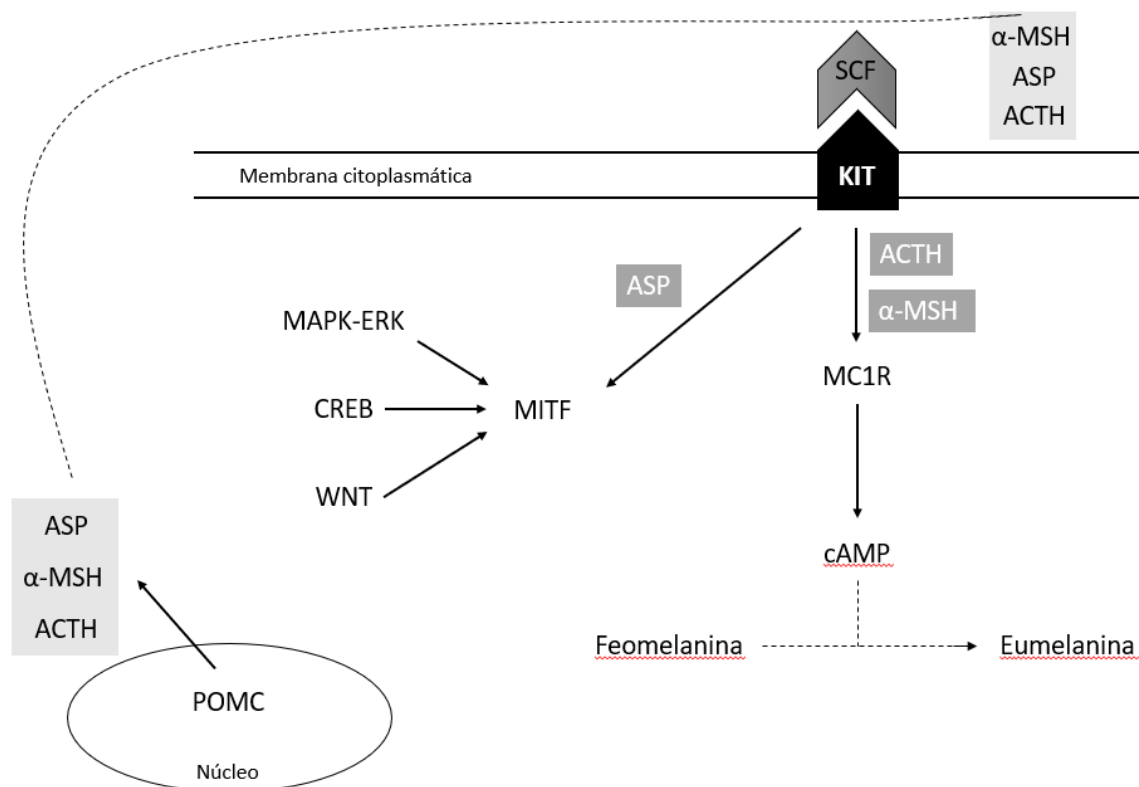


Figura 2 – Melanogénese. Genes envolvidos no processo de produção de melanina¹⁴

O principal fator extrínseco regulador da síntese de melanina é a radiação UV, enquanto que o α -MSH é o principal fator intrínseco. O α -MSH exerce o seu efeito principalmente como agonista do MC1R, cujos polimorfismos genéticos explicam parcialmente a diversidade fenotípica e as diferentes respostas à radiação UV, regulando as proporções de eumelanina:feomelanina. Na pigmentação induzida, os raios UV têm um efeito direto mediado pela proteína supressora de tumor p53 e um efeito indireto mediado pela produção de queratinócitos de fatores intrínsecos, promovendo a síntese de eumelanina.⁴ O α -MSH é clivado a partir de uma proteína precursora chamada pró-opiomelanocortina (POMC) produzida pela glândula pituitária e queratinócitos epidérmicos, permitindo a regulação parácrina local.¹⁴ A radiação UV atua como um fator estimulador na expressão do gene POMC, e sugere-se que o stresse oxidativo desencadeado por esta radiação leve à produção de peptídeos POMC.³⁴

Acredita-se que essa via de sinalização esteja criticamente envolvida nas adaptações fisiológicas da pele a fatores ambientais como a exposição aos raios UV. A ativação do MC1R por α -MSH ou ACTH aumenta a síntese de cAMP que indiretamente induz uma mudança da produção de feomelanina para síntese de eumelanina.

Juntamente com a via de sinalização α -MSH-MC1R, a via da tirosina cinase do receptor SCF-KIT está envolvida na pigmentação e desenvolvimento de melanócitos por meio da ativação do fator de transcrição MITF (do qual a isoforma M-MITF é específica para a linhagem de melanócitos). Os genes alvo do MITF regulam a pigmentação de melanócitos (por mecanismos que incluem a indução de Tyr).¹⁴

Os mecanismos transcricionais e pós-transcricionais que governam as vias moleculares melanogénicas permanecem incertos. A estimulação transcricional é alcançada principalmente através da ativação dependente de cAMP por MITF de vários genes melanogénicos. A montante, o MITF é fosforilado pela sinalização MAPK-ERK, bem como pelas cinases ribossómicas S6 a jusante da ativação do KIT ou MC1R. A sinalização a jusante do MC1R envolve a ativação do cAMP e do fator de transcrição CREB que induz a expressão do MITF. Além disso, a via WNT também pode contribuir para a expressão de MITF.³⁵

Uma sequência específica no gene Tyr é direcionada pelo MITF, resultando na regulação positiva do Tyr. Contudo, em humanos, os aumentos na abundância de Tyr nos melanócitos são modestos em resposta à estimulação de α -MSH. Foi demonstrado que os agentes de elevação do cAMP intracelular, como a forskolina, levam à regulação positiva dos níveis de proteína MITF sem uma indução concomitante de mRNA da Tyr. Esta observação sugeriu que os mecanismos reguladores pós-transcricionais para a indução de proteínas MITF

operam. Além disso, nos melanócitos de rato, os aumentos na transcrição do gene Tyr e na tradução da sua mensagem são geralmente inferiores à estimulação da atividade específica da tirosinase. Isso confirma que o α -MSH não desencadeia apenas a transcrição da tirosinase, mas também estimula aumentos pós-traducionais da atividade da tirosinase.

O α -MSH regula positivamente a expressão de TYRP2, enquanto o ASP leva à regulação negativa de TYRP2. Esses efeitos díspares sugerem um papel para o TYRP2 como um regulador positivo da eumelanogênese. Nos melanócitos de ratos portadores de mutações de perda de função no locus TYRP2, os níveis relativos de eumelaninas:feomelaninas diminuíram significativamente. A regulação do tipo de pigmento produzido nos melanócitos também pode ser modulada pelo α -MSH devido à disponibilidade de outros fatores, como os compostos tiol.

Assim, a tirosinase determina a cor da pele e do cabelo dos mamíferos. A acumulação desta enzima resulta em desordens dermatológicas, como melasma, manchas da idade e danos actínicos. A produção de melanina pode ser inibida evitando os raios UV ou inibindo o metabolismo e a proliferação de melanócitos.¹⁴

Diversas abordagens têm contribuído para identificar genes envolvidos na síntese de melanina e na biogênese, transporte e distribuição de melanossomas, bem como genes que regulam esses processos.¹

Apesar de tudo, são vários os inibidores de tirosinase de fontes naturais e sintéticas que estão disponíveis até ao momento, embora sejam necessárias mais pesquisas para disponibilizar esses inibidores para pacientes que sofrem efeitos indesejados da tirosinase.¹⁴

4. Melasma

O melasma é um distúrbio pigmentário comum, crônico e adquirido, que se caracteriza por máculas claras e escuras na face.³⁶ Tanto homens como mulheres, independentemente da etnia, podem ser afetados.³⁷ Apesar disso, os sinais de fotoenvelhecimento da pele variam consoante a genética, sendo retardados nos tipos de pele mais escura.³⁸

Atualmente, sabe-se que o fotoenvelhecimento é uma das causas do surgimento do melasma, surgindo em muitas mulheres após a menopausa. Apesar de tudo, o tratamento do melasma permanece uma incógnita.

O padrão clínico é caracterizado por hiperpigmentação clara a castanho escura assintomática, com disposição simétrica e bordas irregulares. Outra das características é o agravamento quase constante da pele.³⁹

4.1. Fisiopatologia

A fisiopatologia do melasma é mista, tendo origem epidérmica e dérmica.

O melasma não é apenas um distúrbio limitado aos melanócitos, havendo uma elastose solar, aumento da contagem de mastócitos e glândulas sebáceas, alteração da membrana basal, degradação molecular e quebra de proteínas e aumento da vascularização em lesões de melasma em comparação com a pele não lesional circundante.³⁸

Uma análise transcricional realizada em lesões de melasma, em comparação com a pele saudável circundante, revela quase 300 genes envolvidos, afetando não apenas os melanócitos, mas também a derme.⁴⁰ Os fatores secretados por fibroblastos, como WIF1 ou sFRP2, estão envolvidos na fisiopatologia do melasma. Esses dados estão de acordo com os relatos de que os fibroblastos isolados da pele fotoenvelhecida produzem uma quantidade maior de fatores de crescimento pró-melanogénicos, como KGF, HGF e SCF. Concomitantemente, foi demonstrado que as células endoteliais estimulam a pigmentação através da produção de endotelina 1.⁴¹ Assim, o aumento da vascularização nas lesões do melasma contribui para a hiperpigmentação observada clinicamente. Enquanto o rosto está amplamente exposto ao sol, apenas áreas específicas, como as maçãs do rosto, a testa e lábios,

geralmente estão envolvidas no melasma. No entanto, essas áreas são ricas em glândulas sebáceas, capazes de sintetizar vitamina D e secretar várias citocinas, incluindo IL1 α e IL6, além de fatores de crescimento, como angiopoetina e adipocina, que modulam direta ou indiretamente ainda mais a função dos melanócitos. Pensa-se que entre os fatores de crescimento e citocinas que o sebócito pode produzir, também existem alguns capazes de induzir a melanogênese.⁴² Além disso, os sebócitos também estão sob o controle de α MSH. Assim, uma sobreexpressão deste fator pode influenciar tanto os melanócitos, como os sebócitos. Também os lípidos da superfície da pele oxidados pela radiação UV, particularmente o esqualeno, são capazes de ativar a síntese de melanina em melanócitos e tecidos orgânicos cultivados, podendo estar envolvidos na patogênese da manifestação clínica do melasma.

Há evidências que mostram que tanto a radiação UVA, como a luz visível podem induzir o melasma. Tais considerações são críticas para compreender a fisiopatologia complexa do melasma, mas também para propor opções terapêuticas adaptadas visando não apenas a pigmentação, mas todos os fatores desencadeantes associados.⁴¹

4.2. Tratamento

Uma vez que a maior parte da pigmentação está na epiderme, há uma melhor resposta aos agentes despigmentantes tópicos.³⁹ A hidroquinona continua a ser a melhor solução para o tratamento do melasma. Esta terapia visa inibir a tirosinase.⁴³ No entanto, os efeitos adversos associados ao uso de hidroquinona incluem dermatite irritante, dermatite alérgica de contacto, hiperpigmentação pós-inflamatória (PIH), clareamento das unhas e ocronose exógena (uma rara, mas permanente descoloração cinza-azulada da pele), tornando as alternativas à hidroquinona muito procuradas.⁴⁴

A fórmula de Kligman (mistura de corticosteróide, ácido retinóico e hidroquinona) é o tratamento mais eficaz, especialmente na sua forma estabilizada.⁴⁵ Esta combinação tripla pode interferir na atividade da tirosinase através da hidroquinona, enquanto o ácido retinóico e o corticosteróide podem, respetivamente, exercer um efeito e atividade "antienvelhecimento" contra a inflamação leve associada ao dano na pele causado pela

radiação. Apesar de tudo, o tratamento dificilmente é eficaz em indivíduos com danos acentuados.⁴¹

Para além dos despigmentantes, também existem os peelings químicos, embora os resultados sejam inconsistentes e a PIH seja um efeito colateral frequente. Os lasers Q-switched têm sido propostos, mas levam a recaídas quase constantes e a PIH frequente.³⁶

O laser de corante pulsado em combinação com o trio de Kligman forneceu resultados significativamente melhores em comparação com o trio sozinho. Infelizmente, o tratamento com laser deve ser restrito ao tipo de pele III e inferior (ver Figura 3), pois o PIH limita fortemente o interesse dessa abordagem a laser em tipos de pele mais escura.⁴¹

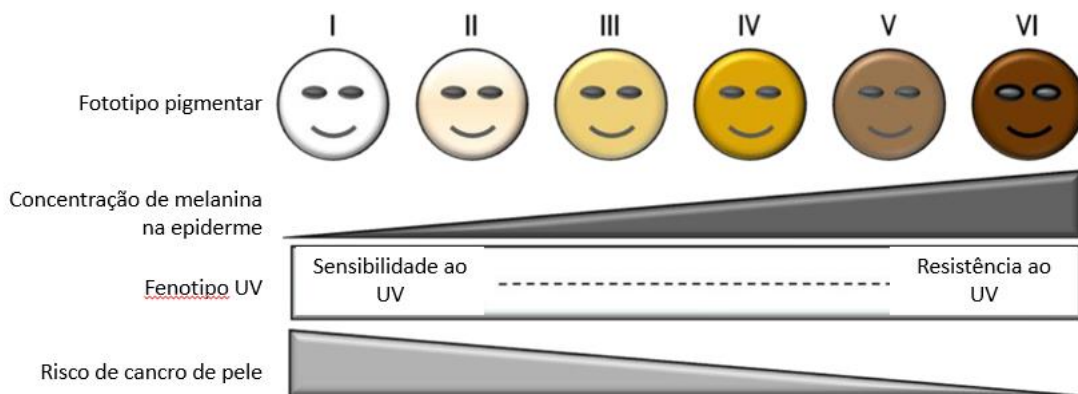


Figura 3 – Fototipos de pele. Escala de Fitzpatrick³⁹

Geralmente, qualquer que seja o tratamento, é associada a utilização de fotoproteção usando um alto índice de FPS.⁴¹

O impacto da radiação ultravioleta (UV) como fator desencadeante do melasma é conhecido há décadas. No entanto, mesmo ao usar uma proteção potente contra UVB e UVA durante o verão, a maioria dos pacientes apresenta um agravamento das lesões. Os comprimentos de onda mais curtos da luz visível (luz azul-violeta) recentemente demonstraram induzir uma hiperpigmentação através de um sensor específico em melanócitos chamado opsina 3.^{39,46}

Os protetores solares contendo óxido de ferro oferecem uma proteção contra estes comprimentos de onda, havendo uma redução significativa das recaídas de melasma durante o verão ao utilizar este tipo de protetor solar em comparação com o mesmo protetor solar anti-UVA e UVB, mas desprovido de proteção à luz visível.³⁹

Apesar de tudo, na maioria das vezes, estas abordagens falham na diminuição das lesões e não impedem recaídas. Curiosamente, todos esses tratamentos têm em vista apenas os

melanócitos e a fotoproteção preventiva concentra-se principalmente no UVB, negligenciando o UVA e a radiação da luz visível. De acordo com o que se sabe até hoje, pode considerar-se o melasma como um distúrbio de fotoenvelhecimento, e não apenas uma doença de pigmentação, devendo por isso, adotar-se um tratamento holístico.

O ácido azelaico funciona como inibidor da tirosinase e consegue interferir com o recetor ativado por proliferação do peroxissoma gama (PPAR γ), reduzindo o envelhecimento induzido por PUVA em fibroblastos. Desta forma, reduz a secreção de metaloproteinasas e de fatores de crescimento, como HGF e SCF. O PPAR γ está envolvido na resposta dos melanócitos ao α MSH que controla a pigmentação, pelo que moléculas que interferem com o PPAR γ induzem ou inibem a pigmentação. Considerando que o PPAR γ também está envolvido no processo inflamatório, a sua modulação parece ser um alvo terapêutico interessante para o tratamento do melasma.

A via WNT regula transcricionalmente o MITF, induz a dendritogénese e a proliferação de melanócitos. Os fatores dérmicos secretados desempenham um papel no melasma através da via WNT. Portanto, inibidores tópicos do WNT, como os agonistas da DKK1, podem ser de grande interesse por atuarem nos fatores secretados por fibroblastos.⁴¹

O ácido tranexâmico (TXA), um agente antifibrinolítico, também tem sido utilizado no melasma para atingir a componente vascular e já demonstrou claramente a sua eficácia no tratamento do melasma.³⁹ Este composto é um derivado sintético do aminoácido lisina, ligando-se aos resíduos de lisina do plasminogénio, de forma a impedir a sua conversão em plasmina.^{47,48} Após a radiação solar, há libertação de plasmina, que estimula a produção de mediadores inflamatórios, como o ácido araquidónico e a prostaglandina, que são estimuladores dos melanócitos.^{43,49} Ao se inibir o sistema plasminogénio/plasmina, a interação entre os melanócitos e os queratinócitos fica bloqueada e consegue inibir-se a atividade da tirosinase dos melanócitos epidérmicos.⁴⁹ Além dos seus efeitos hemostáticos, o TXA também apresenta propriedades anti-inflamatórias e anti-alérgicas.⁵⁰

O uso do TXA mostrou uma diminuição significativa da expressão da endotelina 1. Este péptido que promove a constrição dos vasos sanguíneos e aumenta a pressão arterial ativa o recetor da endotelina B (ERB) na superfície dos melanócitos. Assim, agentes tópicos direcionados aos genes codificadores dos ERB, os EDNRB, podem ter interesse para o tratamento do melasma.⁵¹

Apesar de tudo, há contra-indicações na utilização do TXA, tais como, doenças cardiovasculares, respiratórias e renais, terapia anticoagulante e histórico de doença tromboembólica (TVP, embolia pulmonar, AVC e hemorragia subaracnóideia) e malignidade.^{51,52} Este tratamento também deve ser excluído em indivíduos com um risco aumentado de tromboembolismo, como nas grávidas, mulheres a fazerem contraceção hormonal ou terapia de reposição e fumadores. Este tratamento deve ser seguido rigorosamente e monitorizado para evitar efeitos adversos.

Assim, o melasma deve ser considerado como um distúrbio muito mais complexo com as características de uma doença de pele fotoenvelhecida. Graças aos dados recolhidos nos últimos anos, surgiram novos alvos terapêuticos para prevenir ou tratar o melasma, sendo que alguns já estão disponíveis e outros ainda estão em fase de desenvolvimento. Com a descoberta da via envolvida na hiperpigmentação induzida pela luz visível, os compostos direcionados à opsina 3, ou à via de cálcio a jusante, ou atuando diretamente no complexo da tirosinase formado depois da incidência da luz visível oferecerão, num futuro próximo, tratamentos tópicos mais eficazes.⁵¹

5. Vitiligo

O vitiligo é um distúrbio adquirido, caracterizado pela despigmentação da pele devido à destruição seletiva dos melanócitos⁵³. Esta doença afeta aproximadamente 1% da população e pode surgir em qualquer idade, causando diminuição da qualidade de vida e transtorno psicológico.

A etiologia é relativamente desconhecida, embora fatores como autoimunidade genética, stress oxidativo e alteração do ambiente celular possam ter uma relação de causalidade. São feitas associações entre o vitiligo e outras doenças auto-imunes, como o Hipertireoidismo, Hipotireoidismo, Diabetes, Doença de Addison e Anemia Perniciosa, podendo estas associações fornecer mais evidências sobre a patogênese da doença⁵⁴. Também foram feitas associações entre o vitiligo e pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). Houve um artigo, que fez a revisão de toda a literatura de interesse, em Inglês, publicada até 2017 sobre a incidência do vitiligo após o TCTH, com o objetivo de entender a sua relação e possíveis conexões entre o vitiligo e a doença do enxerto contra hospedeiro (GVHD). Os estudos mostraram que a incidência do vitiligo em pacientes submetidos a TCTH é superior à da população normal. No entanto, estes estudos são bastante limitados e apresentam algumas inconsistências, sendo necessário realizar estudos mais aprofundados.

O TCTH é um procedimento terapêutico eficaz usado no tratamento de muitas condições hematológicas. As células-tronco originárias da medula óssea apresentam taxas mais altas no surgimento de vitiligo em comparação com as originárias do sangue periférico.⁵³

5.1. Fisiopatologia

A patogênese do vitiligo envolve a destruição dos melanócitos por via da imunidade mediada por células, desempenhando as células T CD8 e o IFN γ um papel fundamental neste processo.⁵⁵

A via JAK-STAT medeia os sinais intracelulares, da membrana celular ao núcleo, de mais de 60 citocinas, fatores de crescimento e hormonas. As proteínas JAK intracelulares são ativadas por intermédio de ligandos extracelulares e as proteínas STAT são fosforiladas e dimerizam,

formando a forma ativa, o fosfo-STAT (pSTAT), que vai regular diretamente a expressão genética no núcleo. É através da ligação do IFN γ ao seu recetor, que se inicia a fosforilação de STAT1, onde genes dependentes de IFN γ são transcritos. Estes genes, como CXCL9 e CXCL10, recrutam células T CD8 para a pele, onde atacam os melanócitos.

O STAT3 está envolvido na patogénese do vitiligo através da sua ativação, possivelmente em resposta à ativação das células de Langerhans, que induzem o recrutamento e diferenciação das células Th₁₇ no vitiligo e pode desregular a atividade melanogénica. A sinalização do IFN γ , que tem um papel na patogénese do vitiligo através da destruição direcionada de melanócitos pelas células T CD8, utiliza a via JAK-STAT. Desta forma, o tratamento do vitiligo pode passar pela inibição da via JAK-STAT.

Na família JAK inclui-se: JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2; e existem sete genes STAT em humanos: STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B e STAT6. Embora não existam muitos inibidores de JAK aprovados pela *Food and Drug Administration* dos EUA, há alguns JAK e possíveis inibidores STAT a serem desenvolvidos para o tratamento do vitiligo.⁵⁴

A disfunção na imunidade humoral e mediada por células tem sido implicada na patogénese da doença. Em 80% dos pacientes com vitiligo, foram encontrados altos níveis de IgG e IgM contra melanócitos. No exame imuno-histoquímico da pele do vitiligo perilesional, observou-se um aumento na proporção de CD8:CD4 naquela área, apoiando a ideia de que a destruição de melanócitos pode ser causada pela atividade de células T citotóxicas mediada por células. Os mecanismos pelos quais se pensa que o TCTH pode levar ao vitiligo são: a transferência de auto-anticorpos de um doador; como resultado de quimioterapia/irradiação; ou como resultado de um processo semelhante a GVHD destruindo melanócitos recetores.

A GVHD, embora haja variâncias nas estimativas, é uma complicação com uma incidência até 50% em pacientes após o TCTH. O seu surgimento está associado a um desequilíbrio entre linfócitos autoreactivos e autoregulatórios, sugerindo que a GVHD atua como um fator desencadeador para o aparecimento de autoanticorpos e várias complicações autoimunes. Mais especificamente, *Sanli et al.* propõem que a GVHD crónica pode iniciar uma resposta imune, resultando na destruição de melanócitos. A demonstração de anticorpos específicos para melanócitos e a associação com complicações autoimunes, como a GVHD após o TCTH, reforçam ainda mais a hipótese autoimune na explicação do desenvolvimento do vitiligo.

A maioria dos episódios de GVHD na pele após o TCTH não teve esclarecimento sobre se eram agudos ou crónicos.

Embora os estudos sobre este tema não sejam muitos, a descoberta de vitiligo após o TCTH não pode ser considerada uma anomalia. Há correlação na incidência de vitiligo em pacientes que receberam TCTH e com GVHD.⁵³

5.2. Tratamento

O tratamento do vitiligo é feito com corticosteroides tópicos, inibidores de calcineurina e fototerapia com UVB de banda estreita. No entanto, a resposta ao tratamento é geralmente insatisfatória. O direcionamento da via JAK – STAT ganhou grande atração em várias doenças imunológicas, especialmente doenças mediadas por células T.

Há relatos de repigmentação, principalmente no rosto, em pessoas que fizeram tratamento oral com Tofacitinib (inibidor de JAK1/3) e Ruxolitinib (inibidor de JAK1/2) e com Ruxolitinib tópico.⁵⁴

O tratamento do vitiligo após o TCTH e GVHD parece necessário para evitar mais despigmentações, onde métodos como transplante de queratinócitos e fototerapia com UVB parecem ter algum sucesso. A repigmentação da pele pode ter sucesso quando é feito um enxerto de pele ou um transplante de queratinócitos. Por outro lado, também se observam melhorias na repigmentação da terapia com banda estreita UVB em combinação com uma pomada de clobetasol a 0,05%.

Os estudos atuais são amplamente limitados a relatos de caso único, que apresentam certas inconsistências em relação ao perfil do paciente/doador. Estudos futuros devem ter como objetivo abordar essas questões.⁵³

6. Albinismo

O albinismo deriva do latim “albus”, que significa branco e refere-se a um grupo de distúrbios herdados nos quais a biossíntese de melanina está reduzida ou ausente.⁵⁶

De forma geral, caracteriza-se por problemas de visão e hipopigmentação variável. A ausência ou diminuição da pigmentação pode ocorrer na pele, cabelos e olhos.⁵⁷

Todas as formas atualmente conhecidas de albinismo são herdadas de forma autossômica recessiva, com exceção do albinismo ocular recessivo ligado ao cromossoma X. Todas as outras formas são causadas por mutações diretamente relacionadas ao Tyr, ou por genes de proteínas que regulam o processamento da tirosinase e a biossíntese de melanina nos melanossomas, aquando da descarga de melanossomas maduros na epiderme (ver Figura 4).⁵⁸

Esta é uma condição genética que afeta aproximadamente 1/17 000 pessoas em todo o mundo e é a segunda causa mais comum de perda congénita da acuidade visual em países industrializados após atrofia ótica.⁵⁹

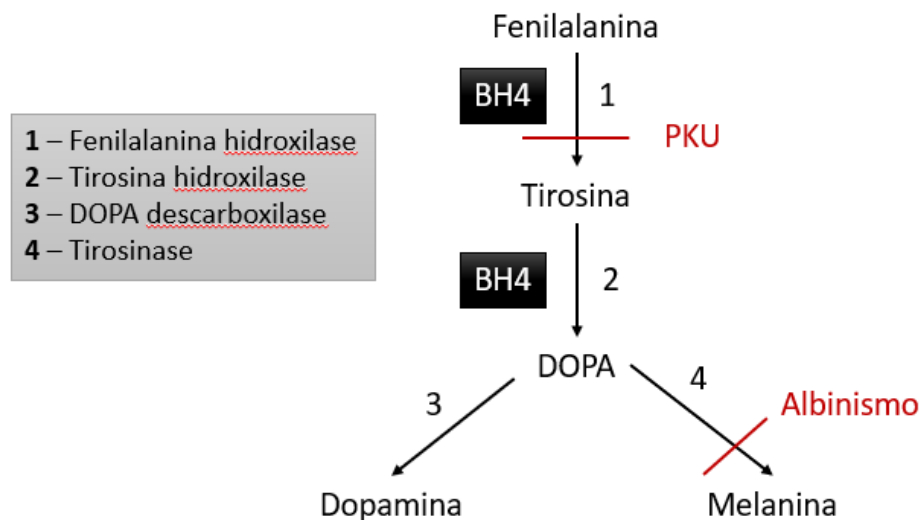


Figura 4 – Via de catabolismo da tirosina. Alterações na via que leva ao albinismo

6.1. Classificação

Clinicamente, existem três formas principais de albinismo: albinismo oculocutâneo (OCA), albinismo ocular (OA) e albinismo síndrômico, que pode ser de Hermansky-Pudlak (HPS), ou de Chediak-Higashi (CHS).⁵⁹

A classificação atual do albinismo é determinada pelo gene afetado. O Tyr no cromossoma 11q14-21 e o gene P no cromossoma 15q11.2 são os genes mais comumente afetados. As mutações nesses genes causam albinismo oculocutâneo tipo 1 (OCA1) e albinismo oculocutâneo tipo 2 (OCA2), respectivamente.⁵⁶

A definição dos diferentes tipos de albinismo tem como base a classificação molecular de acordo com as mutações identificadas em diferentes genes, existindo 19 até agora (ver Tabela 1). Dentro do OCA existem 7 subtipos descritos (OCA 1-7) e um único gene associado ao OA, o GPR143, que está associado ao cromossoma X.⁵⁹ As formas síndrômicas HPS e CHS são menos comuns e caracterizam-se por fenótipos mais graves que afetam uma variedade de tipos celulares adicionais, além das células pigmentares, estando associados a anormalidades na coagulação com tendência a contusões e sangramentos, colite granulomatosa, fibrose pulmonar, predisposição a infecções e deficiência intelectual.^{57,59} Atualmente, são conhecidos dez tipos diferentes de HPS (HPS1-10) e uma forma de CHS (CHS1) e são causados por mutações nos genes correspondentes (ver Tabela 1).⁵⁷

As correlações genótipo-fenótipo são difíceis de estabelecer, porque, por um lado, pacientes com mutações no mesmo gene podem ter fenótipos muito diferentes e, por outro lado, pacientes dos diferentes tipos de albinismo podem ter fenótipos semelhantes.⁵⁹

Tipo de albinismo	Gene	Localização do cromossoma	Nº Mutações
OCA1	TYR	11q14-q21	303
OCA2	OCA2	15q11.2-q12	154
OCA3	TYRP1	9p23	16
OCA4	SLC45A2	5p13.3	78
OCA5	ND	4q24	1
OCA6	SLC24A5	15q21.1	2
OCA7	C10ORF11	10q22.2-q22.3	1
OA1	GPR143	Xp22.3	114
LYST	CHS1	1q42.1-q42.2	53
HPS1	HPS1	10q23.1-q23-3	31
AP3B1	HPS2	5q14.1	20
HPS3	HPS3	3q24	7
HPS4	HPS4	22cen-q12.3	13
HPS5	HPS5	11p14	11
HPS6	HPS6	10q24.32	9
HPS7	DTNBP1	6p22.3	2
HPS8	BLOC1S3	19q13.32	2
HPS9	BLOC1S6	15q21.1	1

Tabela 1 – Genes envolvidos no albinismo⁶³

6.2. Características fenotípicas

Os indivíduos com OCA1 normalmente têm cabelos brancos à nascença. No entanto, alguns poderão desenvolver algum pigmento de melanina no cabelo (OCA1B), enquanto que outros não (OCA1A). Os indivíduos com OCA2 costumam nascer com o cabelo loiro, ou ruivo. Contudo, tanto os OCA1 como os OCA2 nascem com a pele pálida.⁵⁶

O OA não cutânea é herdado e está associado ao cromossoma X. Este tipo de albinismo é mais raro e caracteriza-se por uma pigmentação reduzida da retina e da íris com formação de macromelanossomas e hipoplasia macular, havendo perda significativa da visão.⁵⁸

A fóvea é a região central da retina do olho humano, onde se concentram os cones e onde se forma a imagem que será transmitida ao cérebro.⁶⁰ O fenótipo e a presença normal de uma

fóvea imatura à nascença, podem atrasar o diagnóstico, principalmente em famílias de descendência europeia, nas quais é comum o pigmento reduzido de melanina na pele, cabelos e olhos.⁵⁶

6.3. Diagnóstico

O teste genético procura alterações genéticas nos 19 genes e é a única forma de fazer um diagnóstico em que se distingam as formas síndromicas e não síndromicas.⁵⁹

O exame com o biomicroscópio da lâmpada de fenda mostra a transiluminação das íris nas pessoas com albinismo e raramente é encontrado algum pigmento ao nível do epitélio pigmentar da retina.⁵⁶

6.4. Tratamento

Ainda não existe um tratamento eficaz para o albinismo. No entanto, tem vindo a ser feita investigação no sentido de encontrar um tratamento para esta doença. O uso de levodopa (L-DOPA), assim como de nitisinona ((2-nitro-4-trifluorometilbenzoil) -1,3-ciclohexanodiona [NTBC], Orfadin) no tratamento do albinismo está a ser testado.⁵⁸ O Orfadin é um inibidor competitivo da 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase, uma enzima que precede a fumarilacetoacetato hidrolase na via catabólica da tirosina, sendo aprovado para o tratamento de tirosinemia hereditária do tipo 1 (HT-1) e alcaptonúria hereditária.^{58,61}

Estas estratégias podem ser promissoras no albinismo positivo para tirosinase ou no subtipo OCA1B com atividade de repouso em tirosinase. No entanto, os resultados de estudos pré-clínicos ainda não estão disponíveis.

Apesar disso, a utilização de um fotoprotetor UV e o rastreamento do cancro de pele é necessário. Nos pacientes com albinismo do subtipo OCA1A e com diagnóstico precoce, pode ser possível a correção de alterações oculares.⁵⁸

7. Envelhecimento do cabelo

Embora a síntese bioquímica da melanina seja comum a todos os tecidos pigmentados, a melanogénese é regulada de maneira diferente entre eles. No cabelo, a melanogénese ocorre apenas durante a fase anagenea (crescimento ativo) do ciclo de crescimento capilar em melanócitos localizados exclusivamente no bulbo capilar, enquanto que na pele, a melanina é produzida constitutivamente. ¹

A maior diferença entre a melanogénese folicular e a melanogénese contínua na epiderme, é o estreito acoplamento da melanogénese do folículo piloso ao ciclo de crescimento do cabelo. Este ciclo parece envolver períodos de proliferação dos melanócitos (durante a anagénesse precoce), maturação (durante a anagénesse tardia) e morte dos melanócitos via apoptose (durante a catagénesse). Ou seja, cada ciclo capilar está associado à reconstrução de uma unidade pigmentar de folículo piloso intacto, pelo menos nos primeiros 10 ciclos. Após isso, surgem os cabelos cinzentos e brancos, o que sugere uma exaustão geneticamente regulada relacionada à idade do potencial de pigmentação de cada folículo capilar individual.

Os cabelos grisalhos são habitualmente uma mistura de cabelos brancos e pigmentados. No entanto, há folículos capilares individuais que exibem uma diluição de pigmento ou até mesmo uma cor cinza dita verdadeira. Essa diluição acontece devido a uma redução na atividade da tirosinase nos melanócitos do bulbo capilar, interações sub-ótimas entre queratinócitos corticais e melanócitos e migração deficiente dos melanócitos desde o reservatório na bainha radicular externa superior para o microambiente favorável ao pigmento próximo da papila dérmica do bulbo capilar. ³

Embora haja muitos genes implicados na melanogénese, são poucos os que estão associados à variação natural da cor do cabelo humano. Um grupo de pesquisa criou um modelo com precisão preditiva muito boa para categorias de cores de cabelo com base em não mais de 45 SNPs relacionados a apenas 12 genes diferentes. Acredita-se que estes genes possam ser utilizados no desenvolvimento de estratégias cosméticas que modulem as atividades génicas, de forma a mudar a cor do cabelo do folículo.

No entanto, qualquer gene que atue direta ou indiretamente na melanogénese é um candidato em potencial. Os mecanismos celulares que sincronizam a síntese de melanina com a fase ativa de crescimento do folículo capilar permanecem incertos e o desacoplamento destes dois eventos resulta no cabelo grisalho.¹

7.1. Fisiologia

O envelhecimento dos melanócitos parece estar associado a danos provocados por espécies reativas de oxigénio (ROS) ao DNA nuclear e mitocondrial, com a consequente acumulação de mutações com o avançar da idade, além de desregulações nos mecanismos antioxidantes e nos fatores pró e antiapoptóticos dentro das células.

As ROS são produzidas durante o metabolismo celular normal (a produção de melanina envolve produção maciça de ROS) ou são causadas exogenamente pela exposição à radiação UV, poluição, inflamação ou até mesmo stress emocional.¹

A perda de pigmento dos FCs do couro cabeludo é uma consequência direta da desconexão da síntese de melanina. Esta desconexão pode ter várias causas atuando em diferentes níveis e locais do FC, de forma coordenada ou independente: cessação da produção de melanina; apoptose de melanócitos foliculares diferenciados; e incapacidade de manter a homeostase do nicho das células-tronco melanocíticas.

A principal observação comum a todos esses processos é o dano oxidativo. Não está claro se esse dano é uma causa ou consequência de um elemento de ação anterior que determina o tempo de envelhecimento do cabelo, sendo possível ser de natureza genética.

A variada suscetibilidade dos melanócitos ao stress oxidativo dentro do FC e o envelhecimento independente do FC em todo o couro cabeludo e corpo indicam um alto nível de regulação fisiológica autónoma. A relação entre melanócitos - queratinócitos e entre melanócitos - células da papila dérmica em FCs do couro cabeludo deve ser importante para determinar o envelhecimento mais rápido dos FCs neste local em comparação com os de outras zonas.

7.2. A utilização do FC como Sistema de Nanodelivery

O FC é um alvo privilegiado para a distribuição tópica. Sabe-se que os componentes dos sistemas de nano/microdistribuição se acumulam preferencialmente em FCs em comparação com outros locais da pele.

O encapsulamento de fármacos apresenta vantagens sobre a sua aplicação direta na pele. Os nanofármacos direcionados ao FC são preferíveis por duas razões: aumento da orientação em direção aos FCs (redução da exposição a tecidos não alvo e irritação da pele) e aumento da retenção (significando menos aplicações e menor exposição prolongada ao fármaco). O ajuste das características físico-químicas das partículas permite o controlo da sua profundidade de penetração, protege as moléculas encapsuladas da degradação (particularmente moléculas de alto peso molecular como proteínas ou ácidos nucleicos) e melhora a estética da formulação e a estabilidade do produto.

Na prática, as rotinas de cuidados cosméticos são realizadas repetidamente (várias vezes por semana), portanto, aplicar e reter continuamente um ingrediente ativo no FC para cumprir sua finalidade é viável.

Os tipos mais comuns de nanodistribuidores para a libertação de fármacos em FCs incluem agregados poliméricos e lipossómicos. As micro/nanopartículas à base de polímeros são as mais interessantes para este caso, devido às suas características: maior fluidez, toque mais agradável, transparência e uma sensação não oleosa que é desejável para um produto de cuidados capilares.

A clarificação dos mecanismos de transferência de melanossomas para os queratinócitos e a identificação dos intervenientes moleculares envolvidos no seu reconhecimento pela membrana celular dos queratinócitos permitirá o desenvolvimento de nanossistemas direcionados especificamente aos queratinócitos para suprir a melanina eficientemente e diretamente num FC cinzento.

7.3. O futuro do cuidado capilar

A reversão do cabelo grisalho pode passar pelo direcionamento dos melanócitos indiferenciados para a matriz dos FCs e posterior ativação dos mesmos, que é o que ocorre naturalmente. Há evidências da existência de uma população de melanócitos amelanóticos localizados na bainha radicular externa dos FCs cinzentos.

Sabe-se, no entanto, que os melanócitos foliculares diferenciados não estão associados ao melanoma, sendo o envelhecimento um mecanismo protetor, pelo que se deve ter cuidado no desenvolvimento de estratégias de anti-idade.

Se se identificarem os responsáveis pela manutenção e diferenciação de melanócitos, poderá ser possível, fornecendo os estímulos apropriados ao folículo, ativar uma cascata de eventos que irão culminar no recrutamento seguro de melanócitos ativos para a matriz do FC durante a transição para um novo ciclo capilar. Obviamente, seria preferível que a reversão do envelhecimento do cabelo pudesse ocorrer imediatamente após a aplicação de uma formulação, independentemente do estágio do ciclo capilar. A migração dos melanócitos num folículo já formado não seria tão fácil, mas é possível, uma vez que essas células são capazes de se movimentar.

Acredita-se que, no futuro, será possível e seguro recrutar melanócitos indiferenciados para repovoar o bulbo capilar e produzir pigmento. Levando em conta trabalhos publicados, a indução da tirosinase, bem como a aplicação exógena de enzimas antioxidantes protetoras (por exemplo, catalase, superóxido dismutase) e antioxidantes (p.ex. curcumina) para proteger os melanócitos produtores de melanina da produção de ROS, também é uma abordagem viável.

A capacidade de regular a atividade génica através de pequenos oligonucleótidos de RNA abriu uma nova gama de oportunidades para o tratamento e cuidado capilar. A distribuição tópica de miRNAs ou siRNAs, por si só ou formulados, tornou-se viável. O recente trabalho de *Hardman et al.* descreve a estimulação melanogénica humana em FCs *ex vivo* e de melanócitos de FCs cultivados *in vitro* por silenciamento de siRNA de dois genes moleculares associados à homeostasia das ROS, BMAL1 e PER1.

Foi demonstrado *in vivo* por *Guenther et al.*, que pequenas reduções na atividade de um potenciador específico do FC são suficientes para alterar o fenótipo do rato. Espera-se que seja possível a mudança da cor do cabelo para um tom mais claro, ao se atuar na distribuição de siRNA do FC contra o gene KITLG.

Em termos de modulação natural da cor do cabelo, talvez seja importante decifrar a estrutura tridimensional da Tyr e da TYRP1. Uma abordagem neste âmbito poderia ser realizada para inibir especificamente a atividade catalítica de TYRP1 sem afetar a sua expressão ou a atividade catalítica de Tyr. Inibindo TYRP1, espera-se uma mudança para a síntese de feomelanina e, portanto, um tom mais claro de cor de cabelo.

8. Conclusão

A tirosinase é o fator chave da melanogénese, determinando a cor da pele e do cabelo. A sua disfunção resulta em alterações dermatológicas. Ao se conseguir controlar a melanogénese, será possível controlar a pigmentação.

Diversas abordagens têm contribuído para identificar genes envolvidos na síntese de melanina e na biogénese, transporte e distribuição de melanosomas, bem como genes que regulam esses processos. No entanto, não existem ainda tratamentos suficientemente eficazes disponíveis até ao momento, pelo que é necessário continuar a pesquisa, usando como base alguns dos dados que já se conhecem.

Tendo em conta os estudos feitos até agora, o tratamento das doenças apresentadas neste trabalho poderá passar por alguma destas soluções.

No melasma, sendo um distúrbio de fotoenvelhecimento, para além de uma doença de pigmentação, deve ter um tratamento holístico. O tratamento poderá, assim, passar por duas vertentes, uma vez que a hiperpigmentação também pode ser induzida pela luz visível. Neste caso, a produção de medicamentos tópicos direcionados à opsina 3, ou à via de cálcio a jusante, ou que atuem diretamente no complexo da tirosinase formado após a incidência da luz visível, pode ser eficaz. Os agentes tópicos direcionados aos EDNRB também pode ser uma hipótese.

Além destes, os inibidores do WNT, tais como os agonistas da DKK1, podem ter interesse por atuarem nos fatores secretados por fibroblastos.

A modulação do PPAR γ também parece ser um alvo terapêutico interessante, podendo para isso, utilizar-se o ácido azelaico que funciona como inibidor da tirosinase e consegue interferir com PPAR γ .

Apesar de todas estas novas hipóteses de tratamento, atualmente, o mais comum é utilizar-se a fórmula de Kligman e adicionar-se a este tratamento a aplicação diária de protetores solares contendo óxido de ferro.

O tratamento do vitiligo é hoje feito com corticosteroides tópicos, inibidores de calcineurina e fototerapia com UVB de banda estreita. No entanto, uma vez que a resposta ao tratamento é geralmente insatisfatória, há alguns estudos a serem desenvolvidos.

O direcionamento da via JAK-STAT pode ser uma solução, onde o tratamento oral com Tofacitinib (inibidor de JAK1/3), Ruxolitinib (inibidor de JAK1/2) e Ruxolitinib tópico, já mostrou poder ser eficaz.

Em indivíduos com TCTH há que evitar mais despigmentações. Aqui, a repigmentação da pele pode ter sucesso quando é feito um enxerto de pele ou um transplante de queratinócitos. Por outro lado, já se observou melhorias quando se associa uma terapia de repigmentação com banda estreita UVB a uma pomada de clobetasol a 0,05%.

No caso do albinismo, o facto de sabermos quais os genes envolventes que sofrem mutação, permite-nos abrir os nossos horizontes no ramo da investigação para a cura desta e de outras doenças pigmentares. Até agora ainda não existe nenhum tratamento eficaz, embora se pense que o Orfadin possa ser utilizado neste contexto.

Por enquanto, a utilização de um fotoprotetor UV é indispensável para evitar a propagação da doença.

Ainda neste trabalho, focou-se o papel importante da pigmentação no cabelo e o que a sua perda implica. Assim, quanto ao cabelo, os principais desafios são: como interferir na relação eumelanina-feomelanina a nível genético e como fazer a distribuição eficiente de moléculas aos FCs para modular com segurança a atividade génica. No entanto, deve ter-se cuidado no desenvolvimento de estratégias anti-idade, uma vez que o envelhecimento é um mecanismo protetor. Se conseguirmos fornecer os estímulos necessários ao FC, poderemos recrutar melanócitos ativos para a matriz do FC durante a transição para um novo ciclo capilar.

Uma vez que os melanócitos se podem movimentar, poderá ser possível a aplicação de uma formulação dirigida a estas células, independentemente do estágio do ciclo capilar, revertendo o envelhecimento do cabelo.

Evitar a produção de ROS através da aplicação exógena de enzimas antioxidantes protetoras a antioxidantes também é uma abordagem viável.

No que diz respeito à modulação da cor do cabelo, ao se atuar na distribuição de siRNA do FC contra o gene KITLG, talvez se consiga clarear o cabelo. Neste âmbito é importante decifrar a estrutura tridimensional da Tyr e da TYRP1. Inibindo TYRP1, espera-se uma mudança para a síntese de feomelanina e, portanto, um tom mais claro de cor de cabelo.

De uma forma geral, é necessário continuarmos a estudar todo o processo de melanogénese e dos genes envolvidos, assim como testar as hipóteses já colocadas.

9. Referências Bibliográficas

1. Matamá T, Gomes AC, Cavaco-Paulo A. Hair Coloration by Gene Regulation: Fact or Fiction? *Trends Biotechnol.* 2015;33(12):707-711. doi:10.1016/j.tibtech.2015.10.001
2. Mohania D, Chandel S, Kumar P, et al. Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism. *Adv Exp Med Biol.* 2017;996:71-87.
3. Tobin DJ, Paus R. Graying: Gerontobiology of the hair follicle pigmentary unit. *Exp Gerontol.* 2001;36(1):29-54. doi:10.1016/S0531-5565(00)00210-2
4. Videira IF dos S, Lima Moura DF, Vasconcelos Magina SBLM. Mecanismos reguladores da melanogênese. *An Bras Dermatol.* 2013;88(1):76-83. doi:10.1590/S0365-05962013000100009
5. Wäster P, Eriksson I, Vainikka L, Rosdahl I, Öllinger K. Extracellular vesicles are transferred from melanocytes to keratinocytes after UVA irradiation. *Sci Rep.* 2016;6(May):1-13. doi:10.1038/srep27890
6. Tyrrell RM. Ultraviolet radiation and free radical damage to skin. *Biochem Soc Symp.* 1995;61:47-53. doi:10.1042/bss0610047
7. Marrot L, Meunier JR. Skin DNA photodamage and its biological consequences. *J Am Acad Dermatol.* 2008;58(5 SUPPL. 2):139-148. doi:10.1016/j.jaad.2007.12.007
8. Ando H, Niki Y, Ito M, et al. Melanosomes are transferred from melanocytes to keratinocytes through the processes of packaging, release, uptake, and dispersion. *J Invest Dermatol.* 2012;132(4):1222-1229. doi:10.1038/jid.2011.413
9. Singh SK, Nizard C, Kurfurst R, Bonte F, Schnebert S, Tobin DJ. The silver locus product (Silv/gp100/Pmel17) as a new tool for the analysis of melanosome transfer in human melanocyte-keratinocyte co-culture. *Exp Dermatol.* 2008;17(5):418-426. doi:10.1111/j.1600-0625.2008.00702.x
10. Tarafder AK, Bolasco G, Correia MS, et al. Rab11b mediates melanin transfer between donor melanocytes and acceptor keratinocytes via coupled exo/endocytosis. *J Invest Dermatol.* 2014;134(4):1056-1066. doi:10.1038/jid.2013.432
11. Marks MS, Seabra MC. The melanosome: Membrane dynamics in black and white.

- Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001;2(10):738-748. doi:10.1038/35096009
12. Raposo G, Marks MS. Melanosomes - Dark organelles enlighten endosomal membrane transport. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(10):786-797. doi:10.1038/nrm2258
 13. D'Alba L, Shawkey MD. Melanosomes: Biogenesis, properties, and evolution of an ancient organelle. *Physiol Rev.* 2019;99(1):1-19. doi:10.1152/physrev.00059.2017
 14. D'Mello SAN, Finlay GJ, Baguley BC, Askarian-Amiri ME. Signaling pathways in melanogenesis. *Int J Mol Sci.* 2016;17(7):1-18. doi:10.3390/ijms17071144
 15. Cocucci E, Meldolesi J. Ectosomes and exosomes: Shedding the confusion between extracellular vesicles. *Trends Cell Biol.* 2015;25(6):364-372. doi:10.1016/j.tcb.2015.01.004
 16. Nassar W, Aziz M, El-Ansary M, El-Hakim E. Extracellular vesicles: fundamentals and clinical relevance. *Egypt J Intern Med.* 2015;27(1):1. doi:10.4103/1110-7782.155824
 17. Andre F, Scharz NEC, Movassagh M, et al. Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *Lancet.* 2002;360(9329):295-305. doi:10.1016/S0140-6736(02)09552-1
 18. Ivannikov M V., Sugimori M, Llinás RR. Synaptic vesicle exocytosis in hippocampal synaptosomes correlates directly with total mitochondrial volume. *J Mol Neurosci.* 2013;49(1):223-230. doi:10.1007/s12031-012-9848-8
 19. Corrado C, Raimondo S, Chiesi A, Ciccia F, De Leo G, Alessandro R. Exosomes as intercellular signaling organelles involved in health and disease: Basic science and clinical applications. *Int J Mol Sci.* 2013;14(3):5338-5366. doi:10.3390/ijms14035338
 20. Parolini I, Federici C, Raggi C, et al. Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells. *J Biol Chem.* 2009;284(49):34211-34222. doi:10.1074/jbc.M109.041152
 21. Kowal J, Tkach M, Théry C. Biogenesis and secretion of exosomes. *Curr Opin Cell Biol.* 2014;29(1):116-125. doi:10.1016/j.ceb.2014.05.004
 22. Mulcahy LA, Pink RC, Carter DRF. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *J Extracell Vesicles.* 2014;3(1). doi:10.3402/jev.v3.24641

23. Rana S, Yue S, Stadel D, Zöller M. Toward tailored exosomes: The exosomal tetraspanin web contributes to target cell selection. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(9):1574-1584. doi:10.1016/j.biocel.2012.06.018
24. Yoon YJ, Kim OY, Gho YS. Extracellular vesicles as emerging intercellular comunicasomes. *BMB Rep.* 2014;47(10):531-539. doi:10.5483/BMBRep.2014.47.10.164
25. Stein JM, Luzio JP. Ectocytosis caused by sublytic autologous complement attack on human neutrophils. The sorting of endogenous plasma-membrane proteins and lipids into shed vesicles. *Biochem J.* 1991;274(2):381-386. doi:10.1042/bj2740381
26. Ogawa Y, Miura Y, Harazono A, et al. Proteomic analysis of two types of exosomes in human whole saliva. *Biol Pharm Bull.* 2011;34(1):13-23. doi:10.1248/bpb.34.13
27. Li L, Chen X, Gu H. The signaling involving in autophagy machinery in keratinocytes and therapeutic approaches for skin diseases. *Oncotarget.* 2016;7(31):50682-50697. doi:10.18632/oncotarget.9330
28. Reviews B. Queratinócitos e seus desafios: uma revisão da literatura sobre mecanismos intracelulares. *Saúde em Rev.* 2013;13(35):3-14.
29. Hashimoto K. Regulation of keratinocyte function by growth factors. *J Dermatol Sci.* 2000;24(SUPPL. 1):46-50. doi:10.1016/S0923-1811(00)00141-9
30. Reddy A, Caler E V., Andrews NW. Plasma membrane repair is mediated by Ca²⁺-regulated exocytosis of lysosomes. *Cell.* 2001;106(2):157-169. doi:10.1016/S0092-8674(01)00421-4
31. Tam C, Idone V, Devlin C, et al. Exocytosis of acid sphingomyelinase by wounded cells promotes endocytosis and plasma membrane repair. *J Cell Biol.* 2010;189(6):1027-1038. doi:10.1083/jcb.201003053
32. Slominski A, Moellmann G, Kuklinska E, Bomirski A, Pawelek J. Positive regulation of melanin pigmentation by two key substrates of the melanogenic pathway, L-tyrosine and L-dopa. *J Cell Sci.* 1988;89(PART III):287-296.
33. Hou L, Panthier JJ, Arnheiter H. Signaling and transcriptional regulation in the neural crest-derived melanocyte lineage: Interactions between KIT and MITF. *Development.* 2000;127(24):5379-5389.

34. Slominski AT, Zmijewski MA, Zbytek B, Tobin DJ, Theoharides TC, Rivier J. Key role of CRF in the skin stress response system. *Endocr Rev.* 2013;34(6):827-884. doi:10.1210/er.2012-1092
35. Flaherty KT, Hodi FS, Fisher DE. From genes to drugs: Targeted strategies for melanoma. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(5):349-361. doi:10.1038/nrc3218
36. Rodrigues M, Pandya AG. Melasma: Clinical diagnosis and management options. *Australas J Dermatol.* 2015;56(3):151-163. doi:10.1111/ajd.12290
37. Sheth VM, Pandya AG. Melasma: A comprehensive update: Part II. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(4):699-714. doi:10.1016/j.jaad.2011.06.001
38. Chung JH, Eun HC. Angiogenesis in skin aging and photoaging. *J Dermatol.* 2007;34(9):593-600. doi:10.1111/j.1346-8138.2007.00341.x
39. Duteil L, Cardot-Leccia N, Queille-Roussel C, et al. Differences in visible light-induced pigmentation according to wavelengths: A clinical and histological study in comparison with UVB exposure. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2014;27(5):822-826. doi:10.1111/pcmr.12273
40. Kang WH, Yoon KH, Lee ES, et al. Melasma: Histopathological characteristics in 56 Korean patients. *Br J Dermatol.* 2002;146(2):228-237. doi:10.1046/j.0007-0963.2001.04556.x
41. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, et al. Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the DULCIS study. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(1):42-49. doi:10.1111/ijlh.12426
42. Abdel-Naser MB, Seltmann H, Zouboulis CC. SZ95 sebocytes induce epidermal melanocyte dendricity and proliferation in vitro. *Exp Dermatol.* 2012;21(5):393-395. doi:10.1111/j.1600-0625.2012.01468.x
43. Kim MS, Ban SH, Kim JH, Shin HJ, Choi JH, Chang SE. Tranexamic acid diminishes laser-induced melanogenesis. *Ann Dermatol.* 2015;27(3):250-256. doi:10.5021/ad.2015.27.3.250
44. Sheth VM, Pandya AG. Melasma: A comprehensive update: Part i. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(4):689-697. doi:10.1016/j.jaad.2010.12.046

45. Chan R, Park KC, Lee MH, et al. A randomized controlled trial of the efficacy and safety of a fixed triple combination (fluocinolone acetonide 0.01%, hydroquinone 4%, tretinoin 0.05%) compared with hydroquinone 4% cream in Asian patients with moderate to severe melasma. *Br J Dermatol.* 2008;159(3):697-703. doi:10.1111/j.1365-2133.2008.08717.x
46. Regazzetti C, De Donatis GM, Ghorbel HH, et al. Endothelial cells promote pigmentation through endothelin Receptor B activation. *J Invest Dermatol.* 2015;135(12):3096-3104. doi:10.1038/jid.2015.332
47. Bagherani N. The efficacy of tranexamic acid in the treatment of melasma. *Dermatol Ther.* 2015;28(4):265. doi:10.1111/dth.12200
48. Wu S, Shi H, Wu H, et al. Treatment of melasma with oral administration of tranexamic acid. *Aesthetic Plast Surg.* 2012;36(4):964-970. doi:10.1007/s00266-012-9899-9
49. Maeda K, Tomita Y. Mechanism of the inhibitory effect of tranexamic acid on melanogenesis in cultured human melanocytes in the presence of keratinocyte-conditioned medium. *J Heal Sci.* 2007;53(4):389-396. doi:10.1248/jhs.53.389
50. Hiramoto K, Yamate Y, Sugiyama D, Takahashi Y, Mafune E. The gender differences in the inhibitory action of UVB-induced melanocyte activation by the administration of tranexamic acid. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2016;32(3):136-145. doi:10.1111/phpp.12231
51. Lee HC, Thng TGS, Goh CL. Oral tranexamic acid (TA) in the treatment of melasma: A retrospective analysis. *J Am Acad Dermatol.* 2016;75(2):385-392. doi:10.1016/j.jaad.2016.03.001
52. Anderson FA. Anderson, F. A. (2003). Risk Factors for Venous Thromboembolism. *Circulation*, 107(90231), 9I--16. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000078469.07362.E6> Risk Factors for Venous Thromboembolism. *Circulation.* 2003;107(90231):9I--16. doi:10.1161/01.CIR.0000078469.07362.E6
53. Totani A, Amin H, Bacchi S, Lewis I. Vitiligo following stem-cell transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2019. doi:10.1038/s41409-019-0626-x
54. Basha MA, Menesy D. Role of Janus kinase 1 and signal transducer and activator of

transcription 3 in vitiligo. 2019.

55. Guerra L, Dellambra E, Brescia S, Raskovic D. Vitiligo: Pathogenetic Hypotheses and Targets for Current Therapies. *Curr Drug Metab.* 2010;11(5):451-467. doi:10.2174/138920010791526105
56. Summers CG. Albinism : Classification , Clinical Characteristics ,. 2009;86(6):659-662.
57. Montoliu L, Grønskov K, Wei AH, et al. Increasing the complexity: New genes and new types of albinism. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2014;27(1):11-18. doi:10.1111/pcmr.12167
58. Kubasch AS, Meurer M. Okulokutaner und okulärer Albinismus. *Hautarzt.* 2017;68(11):867-875. doi:10.1007/s00105-017-4061-x
59. Arveiler B, Lasseaux E, Morice-Picard F. Clinique et génétique de l'albinisme. *Press Medicale.* 2017;46(7-8P1):648-654. doi:10.1016/j.lpm.2017.05.020
60. Bringmann A, Syrbe S, Görner K, et al. The primate fovea: Structure, function and development. *Prog Retin Eye Res.* 2018;66:49-84. doi:10.1016/j.preteyeres.2018.03.006
61. EMA (European Medicines Agency). Anexo I - Resumo das Características do Medicamento - Canagliflozina. 2010. doi:10.1111/j.2047-2927.2014.00188.x
62. Rohan A. Study explains one reason hair can turn gray. May 03,2018. <https://www.uab.edu/news/research/item/9390-study-explains-one-reason-hair-can-turn-gray>.
63. Kamaraj B, Purohit R. Mutational analysis of oculocutaneous albinism: A compact review. *Biomed Res Int.* 2014;2014. doi:10.1155/2014/905472