**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

# A participação dos receptores da imunidade inata na resposta contra *Trichophyton rubrum*

FÁBIO SEITI YAMADA YOSHIKAWA

Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Orientador: Prof.Dr. Sandro Rogério de Almeida

SÃO PAULO
2016

Fábio Seiti Yamada Yoshikawa

A participação dos receptores da imunidade inata na resposta contra *Trichophyton rubrum*

Comissão Julgadora
da
Tese para Obtenção do Título de DOUTOR

Prof.Dr. Sandro Rogério de Almeida
Orientador/Presidente

_____
1o. examinador

_____
2o. examinador

_____
3o. examinador

_____
4o. examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2015.

O presente trabalho foi desenvolvido com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Processo 12/14684-6) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior [PDSE] Processo 99999.004279/2014-00).

YOSHIKAWA, F. S. Y. **A participação dos receptores da imunidade inata na resposta contra *Trichophyton rubrum*.** 2016. 202f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

## RESUMO

Dermatofitoses são infecções fúngicas de natureza crônica cujo principal agente etiológico é *Trichophyton rubrum*. Apesar de sua alta ocorrência mundial, pouco se sabe sobre os mecanismos imunológicos envolvidos nestas infecções. Neste trabalho investigamos a participação de duas classes de receptores de imunidade inata (NLRs e CLRs) na resposta a *T.rubrum* e avaliamos o perfil proteômico de macrófagos quando estimulados com o fungo. Observamos que *T.rubrum* foi capaz de induzir a produção de IL-1β dependente do inflamassomo NLRP3 e destacamos o papel da sinalização de IL-1 na modulação da resposta de IL-17. Determinamos os CLRs dectina-1 e dectina-2 como receptores essenciais na produção de citocinas inflamatórias e para o controle da infecção experimental. Curiosamente, a IL-17 e os linfócitos T e B foram dispensáveis para a eliminação do fungo. Também identificamos a proteína CLEC1A como uma novo receptor para fungos, envolvido no reconhecimento de glicolipídeos de *T.rubrum*. Por fim, a análise proteômica de macrofagos revelou a vimentina e a plastina-2 como duas proteínas potencialmente envolvidas na relação patógeno-hospedeiro.

**Palavras-chave:** *Trichophyton rubrum*, Imunidade Inata, Inflamassomo, NLRP3, Dectina-1, Dectina-2, IL-17, CLEC1A, Proteômica

YOSHIKAWA, F. S. Y. **The participation of innate immunity receptors in the response to *Trichophyton rubrum***. 2016. 202f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

## ABSTRACT

Dermatophytosis are chronic fungal infections whose main causative agent is *Trichophyton rubrum*. Despite its high incidence worldwide, the immunological mechanisms underlying these infections remain largely unknown. Here we investigated the involvement of two classes of innate immune receptors (NLRs and CLRs) in the reponse to *T.rubrum* and performed a proteomic profiling of macrophages upon *T.rubrum* stimulation. We observed that *T.rubrum* was able to drive NLRP3 inflammasome-derived IL-1β production and highlighted IL-1 signaling as an important component in the shaping of the IL-17 response. We defined the CLRs dectin-1 and dectin-2 as key receptors for the induction of inflammatory cytokines and for the infection control in the *in vivo* settings. Curiously, IL-17 cytokines and T and B lymphocytes were dispensable for fungal clearance. In addition, we uncovered CLEC1A as a new receptor in fungal sensing, involved in the recognition of *T.rubrum* glycolipids. Finally, the proteomic analysis revealed Vimentin and Plastin-2 as two proteins potentially involved in the host-pathogen interaction.

**Keywords**: *Trichophyton rubrum*, Innate Immunity, Inflammasome, NLRP3, Dectin-1, Dectin-2, IL-17, CLEC1A, Proteomics

# INTRODUÇÃO

## I - Dermatofitoses – Aspectos Gerais

As dermatofitoses (ou tineas) são infecções fúngicas que afetam tecidos queratinizados (pele, pelos e unhas) e representam o grupo mais comum e disseminado de micoses, afetando de 20 a 25% da população mundial [1].

Seus agentes etiológicos - os dermatófitos – são fungos filamentosos da classe *Euascomycetes* que se dividem em três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. As espécies podem ser classificadas em antropofílicas (mais adaptadas ao hospedeiro humano, causando infecções de caráter crônico), zoofílicas ou geofílicas (geram reações mais agudas e inflamatórias) [2].

*Trichophyton rubrum* é o principal agente antropofílico, isolado em até 80% dos casos de dermatofitose em determinadas populações [3]. Ele forma colônias cotonosas, de coloração branca e com reverso avermelhado a rosa-púrpura. À microscopia, observam-se hifas hialinas e septadas, com microconídios laterais piriformes. Os macroconídios (em quantidade variável) são longos, com parede fina e três a oito células (**Figura 1**).

A classificação das dermatofitoses pode ser feita em função do sítio anatômico afetado [4]:

- *Tinea corporis*: afeta o tronco e extremidades (com exceção da sola dos pés e palmas das mãos), causada principalmente pelo gênero *Trichophyton*. Manifesta-se como placas eritematosas circulares de tamanho variado. Uma variante da

tinea corporis é o Granuloma de Majocchi, quando há envolvimento dos folículos capilares, geralmente associado a *T.rubrum*.

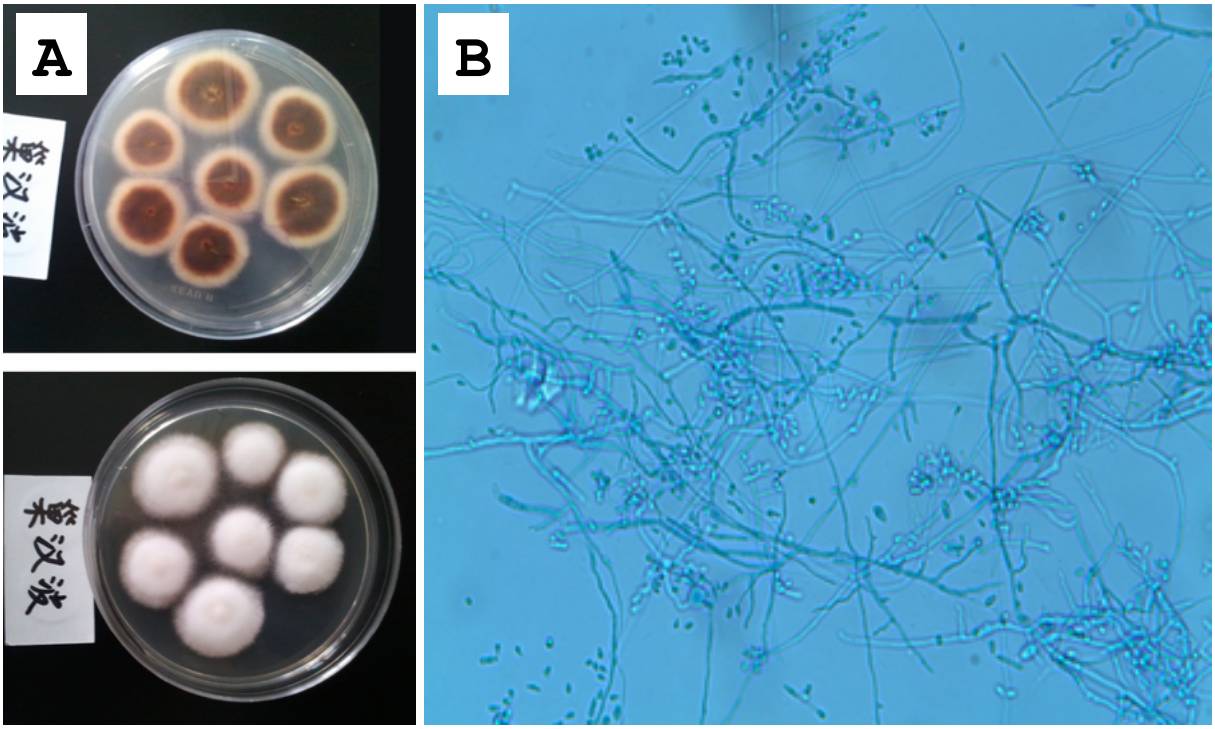


**Figura 1. Aspectos macro- e micromorfológicos de *T.rubrum*.** A, Aparência da colônia em ágar batata; B, Características micromorfológicas (aumento de 400x), hifas hialinas septadas e abundância de microconídios. Adaptado de Tan *et.al.* (2014)**[5]**.

- *Tinea pedis*: ou pé-de-atleta, como implica o nome, afeta os membros inferiores (pés). Mais comum em adolescentes, pode ter quatro tipos de manifestações clínicas: mocassina (eritema difuso e descamação da sola dos pés); interdigital (mais comum, envolve eritema e maceração no espaço entre os dedos); inflamatória (com vesículas e pústulas) e ulcerativa (quadro mais grave da interdigital, com erosões e úlceras mais

profundas). Associada principalmente a *T.rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Epidermophyton floccosum* (**Figura 2**).

- *Tinea cruris*: afeta a região da virilha gerando placas eritematosas e contorno delimitado. Associada também a *T.rubrum*, *T.mentagrophytes* e *E.floccosum*, pode afetar ambos os sexos, mas é mais comum em homens.

- *Tinea manuum*: usualmente a manifestação é unilateral, causando um eritema moderado na região palmar, podendo estar ou não acompanhado de acometimento da unha (onicomicose).

- *Tinea faciei*: afeta a região da face, apresentando manifestações similares a tinea corporis, podendo causar hipo- ou hiperpigmentação da área afetada.

- *Tinea capitis*: infecção no couro cabeludo, mais comum em crianças. Associada aos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*. O quadro clínico mais comum é a alopécia localizada, com fios de cabelo quebradiços.

- *Tinea unguium*: onicomicose causada por dermatófitos, principalmente *T.rubrum*. Mais comum em adultos, ela leva ao amarelamento e, posteriormente, quebra da unha, porém geralmente não está associada a quadros de dor ou coceira.

**Figura 2. Aspecto clínico de tinea pedis por *T.rubrum*.** Lesões descamativas e eritematosas com acometimento das unhas em um paciente com AIDS. Adaptado de da SILVA *et.al.* (2014) **[6]**.

A localização anatômica das tineas não é aleatória. As regiões mais suscetíveis são aquelas que proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo: umidade (suor), calor e pH adequado. Regiões interdigitais, dobras de pele, unhas e couro cabeludo, além de satisfazerem essas condições, também permitem um contato prolongado entre o fungo e a pele do hospedeiro, favorecendo a infecção [7].

*Patogênese*

O encontro inicial do futuro hospedeiro com o dermatófito ocorre pelo contato com materiais contaminados (solo, pelo de animais), que podem ser associados ao convívio humano (compartilhamento de pentes, sapatos, peças íntimas) [7].

ALJABRE *et.al.* (1993) demonstraram que o contato entre o patógeno e o hospedeiro requer muitas horas para estabelecer uma infecção produtiva [8]. Acredita-se que para garantir uma

adesão efetiva, os dermatófitos expressem adesinas que se ligam a carboidratos presentes na pele [7]. Por outro lado, a inoculação de conídios ou fragmentos de hifas pode driblar a fase de adesão, acelerando a colonização do hospedeiro [9].

Para que a infecção prossiga, é necessária a invasão do dermatófito no estrato córneo. O fungo propaga-se na pele através da secreção de enzimas que degradam componentes orgânicos, como queratina e outras proteínas, lipídeos e ácido desoxirribonucleico (DNA), gerando substratos que suportam seu crescimento [7,9].

Muitas das enzimas secretadas pelos dermatófitos necessárias para a colonização exibem atividade ótima em pHs ácidos, em concordância com o pH da pele humana. Além disso, dermatófitos como *T.rubrum* apresentam vias de transdução de sinal responsivas ao pH que regulam o metabolismo fúngico em função acidez ou alcalinidade do ambiente [10].

*Diagnóstico e Tratamento*

O diagnóstico das dermatofitoses é importante para diferenciá-las de outras condições clínicas, como infecções por *Candida*, psoríase e dermatites [4].

A técnica clássica para diagnóstico de dermatofitoses é a análise de pelo, raspado de pele ou de unha, tratados com solução 10% KOH, em microscopia ótica. Neste exame, que não discerne as espécies de dermatótifos, observam-se hifas hialinas, septadas e artroconidiadas [4]. Confirmada a

positividade para dermatofitose parte-se para cultura, isolamento e identificação do fungo, muito embora se inicie o tratamento sem a necessidade de se conhecer a espécie envolvida. A identificação de espécie tem mais valor epidemiológico do que clínico.

No caso da tinea capitis, uma possibilidade de diagnóstico é a exposição da região à luz fluorescente da lâmpada de Wood. Neste caso, as espécies do gênero *Microsporum* emitem uma fluorescência verde [4].

Recentemente, técnicas de diagnóstico molecular para dermatofitoses tem ganhado interesse devido a maior rapidez e acurácia em relação aos métodos microbiológicos clássicos, sendo o destaque dado à reação em cadeia de polimerase (PCR). O principal sítio gênico investigado é quitina sintase 1, que é um marcador genérico de dermatófitos. Porém, para fins de identificação de espécie, opta-se por regiões do RNA ribossomal [11,12].

O tratamento farmacológico preconizado nas dermatofitoses envolve tanto abordagens tópicas quanto orais. A terapia antifúngica tópica emprega cremes ou pomadas com compostos imidazólicos (clotrimazol, miconazol, econazol, cetoconazol) ou alilaminas (terbinafina). Como terapia oral empregam-se fármacos triazólicos (itraconazol e fluconazol), terbinafina e griseofulvina [13].

Uma vez que crianças são pacientes comuns em dermatofitoses, é importante ressaltar que há a necessidade de

ajuste de dose em função do peso, sendo que em alguns casos requer-se ainda monitoramento terapêutico, como no caso de terbinafina ou fluconzaol, que podem ser hepatotóxicos [4].

Algumas condições especiais também precisam de maiores cuidados, principalmente em situações de co-morbidades. Por exemplo, trabalhos mostram que pacientes com doença renal crônica são mais propensos a dermatofitoses [14,15]. Nestes casos, IRIMIE *et.al.* (2014) propõem que o fármaco de escolha seja a terbinafina e a dose seja monitorada segundo o *clearance* renal [16].

## II - A Resposta Imune nas Micoses

### (i) Imunidade Inata e os Receptores Reconhecedores de Padrões (PRRs)

A imunidade inata é a primeira linha de defesa do organismo contra infecções, sendo capaz de identificar diversas classes de patógenos – vírus, bactérias, fungos e parasitas – com base na detecção de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que são moléculas conservadas através da evolução, comuns entre os membros de uma mesma classe e sem similaridade com moléculas de mamíferos [17].

MATZINGER (2002) sugeriu um modelo complementar no qual a imunidade inata também seria capaz de identificar sinais de perigo – padrões moleculares associados a perigo (DAMPs) - liberados pelas células injuriadas pelos patógenos. Assim,

além de detectar o patógeno diretamente, o sistema imune também investigaria os danos que possam ter sido causados ao hospedeiro [18].

Tanto os PAMPs quanto os DAMPs são detectados através de receptores amplamente distribuídos nas células do hospedeiro e que foram genericamente denominados Receptores Reconhecedores de Padrões (PRRs). A especificidade de cada receptor já está codificada no genoma do hospedeiro e as principais classes de PRRs identificadas até hoje são: receptores tipo-Toll (TLRs), receptores tipo RIG-I (RLRs), sensores com domínios ligadores de nucleotídeo e ricos em repetições de leucina (NLRs) e receptores de lectina tipo C (CLRs) [19].

***TLRs***

Os TLRs são glicoproteínas integrais de membrana do tipo I. Podem ser expressos tanto na superfície da célula quanto associados à membrana endossomal. Estruturalmente, são divididos em uma porção extracelular rica em repetições de leucina (LRRs), responsável pelo reconhecimento do ligante, e um domínio citoplasmático homólogo a Toll/IL-1R (TIR) responsável pela sinalização intracelular [20].

Já foram descritos 13 membros dessa classe em camundongos e 10 são conhecidos no humano. Como reflexo dessa grande variedade, os PAMPs reconhecidos pelos TLRs são de natureza diversa, como por exemplo lipoproteínas (reconhecidas por TLR 1/2 e TLR 2/6), ácido ribonucleico (RNA) (TLR3), DNA (TLR9),

lipopolissacarídeo (LPS) (TLR4), flagelina (TLR5), β-glucanas (TLR2, TLR6) e mananas (TLR2, TLR4) – estas duas últimas associadas a patógenos fúngicos [21]. Além de carboidratos, o material genético fúngico, reconhecido por TLR3, TLR7 e TLR9, também é um PAMPs relevante [22].

Apesar dessa diversidade no repertório de reconhecimento, a sinalização deflagrada pode ser essencialmente dividida em dois tipos em função das moléculas adaptadoras requisitadas:

(i) MyD88 (recrutado por todos TLRs, exceto TLR3), que culmina na ativação das vias das (MAPKs) e de NF-κB, levando à transcrição de diversas moléculas e fatores pró-inflamatórios, como citocinas e quimiocinas;

(ii) TRIF (TLR4 e TLR3) que, além de NF-κB, também promove ativação de Fatores Regulatórios de Interferon (IRFs) 3 e 7, relacionados à produção de Interferon (IFN) do tipo I [23].

Existem ainda outras duas moléculas adaptadoras, TIRAP e TRAM – a primeira facilita a interação de TLR2 e TLR4 com MyD88 enquanto a segunda funciona como uma ponte entre TLR4 e TRIF. Portanto, TLR4 é o único receptor capaz de recrutar as quatro moléculas adaptadoras [23].

Embora os TLRs sejam classicamente associados à resposta contra bactérias, seu papel na imunidade às micoses já é plenamente reconhecido. Inclusive, a história dos TLRs se iniciou justamente através do estudo de uma infecção fúngica, quando se observou a alta suscetibilidade da mosca-da-fruta

(*Drosophila*) deficientes no sistema *Toll* a fungos do gênero *Aspergillus* [24].

Vários trabalhos na literatura exploraram o papel de TLR2 nas micoses, porém os resultados são conflitantes, sugerindo tanto efeitos protetores quanto deletérios. Por exemplo, na candidíase experimental, enquanto VILLAMÓN *et.al.* (2004) relataram TLR2 como um receptor necessário ao combate a *C.albicans* [25], BELLOCCHIO *et.al.* (2014) não constataram efeito protetor nesta infecção [26]. Incongruências similares foram observadas para *Aspergillus* e *Cryptococcus neoformans* [27]. Resguardadas as diferenças nos delineamentos experimentais, é importante considerar que a capacidade de TLR2 em formar dímeros com outros TLR, como TLR1 e TLR6, pode influenciar nos desfechos observados.

No caso de TLR4, por outro lado, sua contribuição na resposta protetora as micoses é mais bem estabelecido. Não apenas pelo papel na indução de inflamação, TLR4 também é necessário na modulação da resposta adaptativa, influenciando, por exemplo, no processo de maturação das Céluals Apresentadoras de Antígenos (APCs) [27]. A constatação de que polimorfismos nos genes dos TLRs tem correlação com a suscetibilidade a infecções fúngicas em seres humanos vem por confirmar sua relevância nas linhas de defesa do hospedeiro [28].

***RLRs***

Os RLRs são uma classe de receptores citoplasmáticos devotados ao reconhecimento de RNA, sendo classicamente associados a atividades antivirais. Atualmente, a classe é composta por três membros: RIG-I (DDX58), MDA5 (IFIH1) e LGP2 (DHX58) – que compartilham como estrutura básica um domínio C-terminal CTD e um domínio de RNA helicase DExD/H-box. RIG-I e MDA ainda possuem um Domínio recrutador e ativador de caspase (CARD) N-terminal, ausente no LGP2. As porções CTD e helicase são responsáveis pelo reconhecimento de RNA viral, que distingue do material do próprio hospedeiro por ser de natureza dupla fita (dsRNA) e apresentar motivos ímpares, como uma cauda 5´trifosfato (5`ppp-) [29].

Após serem ativados, os RLRs interagem, através do domínio CARD, com a molécula adaptadora MAVS/IPS-1, que é uma parte integral das mitocôndrias, levando à formação de uma plataforma multimolecular que culmina na ativação de vias de transcrição gênica, particularmente NF-κB e IRF-3 e -7. O somatório destes eventos é a indução de uma resposta de IFN tipo I, que promove a resposta antiviral [29].

Recentemente, foi proposto que a ativação dos RLRs ocorra nos grânulos de estresse (SGs). Os SGs são definidos como agregados citoplasmáticos de nucleoproteínas que são induzidos em resposta a vários tipos de agressões celulares, tais como calor, estresse oxidativo e deprivação nutricional. Assim, apesar de não serem estruturas exclusivamente associadas a

processos infecciosos, sabe-se que vários vírus induzem a formação dos SGs por interferirem na maquinaria de síntese protéica, causando a produção de proteínas "anormais" ao hospedeiro. Apesar dos detalhes moleculares e estruturais envolvidos na formação e manutenção dos SGs em processos virais não serem claramente entendidos, há fortes indícios de que os RLRs realizem o reconhecimento de RNA viral dentro destas estruturas [30].

Apesar dos RLRs serem quase que exclusivamente associados a infecções virais, sugere-se que eles também poderiam participar na resposta a *C.albicans*. Jaeger *et.al.* (2015) observaram relações entre o receptor MDA5 e candidíase: (i) pacientes com candidíase mucocutânea exibem menor expressão do receptor do que controles saudáveis, (ii) variantes do gene *IFI1H* podem estar associados a infecções sistêmicas e (iii) esplenócitos de camundongos nocautes para MDA5 tem redução da expressão de IFN-β após estimulação com *C.albicans* [31]. Apesar de preliminares, futuros trabalhos poderão trazer novidades sobre o papel destes PRRs na imunidade a outras micoses.

***NLRs e Inflamassomos***

Os NLRs são uma família de sensores citossólicos que se caracterizam por serem estruturas tríplices, formadas por: (I) um domínio C-terminal LRR responsável pelo reconhecimento do ligante; (II) um domínio central ligador de nucleotídeos (NBD)

e (III) um domínio N-terminal variável responsável pelas funções efetoras [19]. É com base nesta estrutura singular que se estabeleceu a nomenclatura NLR: *N*ucleotide-binding domain and *L*eucine-rich *R*epeat containing familiy (família contendo domínios ligadores de nucleotídeo e ricos em repetições de leucina) [32]. Apesar disso, extra-oficialmente, NLR também é comumente conhecido como receptor tipo-Nod (um paralelismo aos TLRs), embora seu uso deva ser desestimulado.

O domínio N-terminal define a classificação do receptor [32,33]: (i) NLRAs (domínio de ativação ácido), (ii) NLRBs (domínio BIR – baculovírus inibidor de apoptose), (iii) NLRC (domínio CARD – domínio recrutador de caspase) e (iv) NLRPs (domínio pirina).

Atualmente, são conhecidos 22 membros desta família em humanos e 30 nos camundongos [34]. Embora pouco se saiba sobre o papel exato de todos os membros na homeostase do organismo, alguns NLRs estão consideravelmente caracterizados, sendo a formação do inflamassomo a via principal de sua atividade.

Os inflamassomos são definidos como um complexo molecular envolvido na ativação de caspase-1, uma protease responsável pelo processamento e ativação das citocinas pró-inflamatórias Interleucina (IL)-1β e IL-18 [35].

Cinco inflamassomos foram descritos até hoje, denominados segundo o NLR envolvido [36]: NLRP1 (associado ao reconhecimento de toxina de *Bacillus anthracis*), NLRC4 ou IPAF (reconhecimento de flagelina e proteínas do sistema de

secreção do tipo III de bactérias em concerto com receptores NAIP), NLRP6 (associado à homeostase intestinal) e NLRP3 (detalhado mais à frente). O quinto inflamassomo, AIM2, na realidade não é composto por um NLR, mas pelo receptor AIM2, associado ao reconhecimento de DNA e que também é capaz de oligomerizar-se, formando uma plataforma de ativação de caspase-1 [37].

Ao serem ativados, os NLRs se oligomerizam, formando plataformas multiprotéicas. Caso disponham de um domínio CARD (e.g. NLRC4) podem recrutar diretamente a caspase-1, que também apresenta este domínio. Do contrário, seu recrutamento requer uma proteína adaptadora, a Proteína Apoptótica similar a Partícula (ASC), que apresenta um domínio CARD e um domínio Pirina que interage com o resíduo N-terminal dos NLRPs [35]. Uma vez recrutada, a caspase-1 sofre uma clivagem autoproteolítica liberando fragmentos de 10 (p10) e 20 kDa (p20). Estes formam, então, um tetrâmero, que é forma ativa da enzima, capaz de ativar a IL-1β e a IL-18 [33].

O inflamassomo NLRP3 foi associado ao reconhecimento de uma gama imensa de PAMPs e DAMPs que não exibem semelhanças estruturais ou funcionais entre si: determinantes virais, componentes fúngicos, toxinas bacterianas formadoras de poros, trifosfato de adenosina (ATP), cristais de colesterol ou ácido úrico, partículas inertes (sílica, asbestos), alum, proteínas β-amilóide, etc [37]. Supor que exista uma ligação direta entre estes ligantes e o NLRP3 é uma hipótese pouco plausível.

De fato, nunca se demonstrou a existência de um complexo ligante-receptor nestes moldes para o NLRP3, o que reforça a noção de que os NLRs não são receptores *strictu senso*, mas, na realidade, sensores de perturbações na homeostase.

Dessa forma, admite-se que a ativação de NLRP3 é um processo indireto, no qual os ativadores do receptor deflagram vias de sinalização em comum e os produtos destas vias sejam os ativadores propriamente ditos. Assim, o modelo proposto se fundamenta em três vias (**Figura 3**) [34]:

(i) Efluxo de Potássio/$K^+$ [38]: toxinas bacterianas podem induzir a formação de poros na membrana eucariótica, causando a perda do conteúdo intracelular. O efluxo de $K^+$, em particular, foi correlacionado com a ativação do NLRP3. O ATP extracelular pode exibir um efeito similar ao ativar canais P2X7 de membrana que promovem o efluxo do cátion. COMPAN *et.al.* (2012) sugeriram que essa alteração no balanço iônico causaria uma alteração do volume celular e, assim, a conformação das proteínas, o que, então, proporcionaria a ativação do inflamassomo [39].

(ii) Instabilidade lisossomal: o extravasamento do conteúdo lisossomal foi correlacionado à ativação do NLRP3 através da ação da catepsina B. É uma via associada a materiais particulados, que, sendo fagocitados, interfeririam diretamente na integridade do (fago)lisossomo. Embora a catepsina B tenha sido considerada a única envolvida,

ORLOWSKI *et.al.* (2015) demonstraram que outras catepsinas também participam deste processo de forma redundante [40].

(iii) Espécies reativas de oxigênio (ROS): a produção de ROS é uma ferramenta de eliminação de patógenos. A principal fonte dessas espécies é o sistema NADPH oxidase, porém também se atribui à mitocôndria um papel de destaque, onde a produção de ROS é consequência da fuga de elétrons da cadeia respiratória, que estariam livres para reduzir oxigênio a ânion superóxido. Refinando ainda mais essa proposta, SHIMADA *et.al.* (2012) propuseram que as ROS mitocondriais oxidariam o DNA da organela e este material oxidado seria então o provável ativador do inflamassomo [41]. Apesar de não haver consenso pleno sobre qual aspecto da biologia das ROS é mais relevante no contexto dos inflamassomos, esta via está correlacionada a diversas condições patológicas, desde doenças metabólicas a processos infecciosos.

Além destas vias clássicas, a ativação do inflamassomo NLRP3 também é regulada por outros sistemas, denominados não-canônicos, como caspase-11, discutido abaixo.

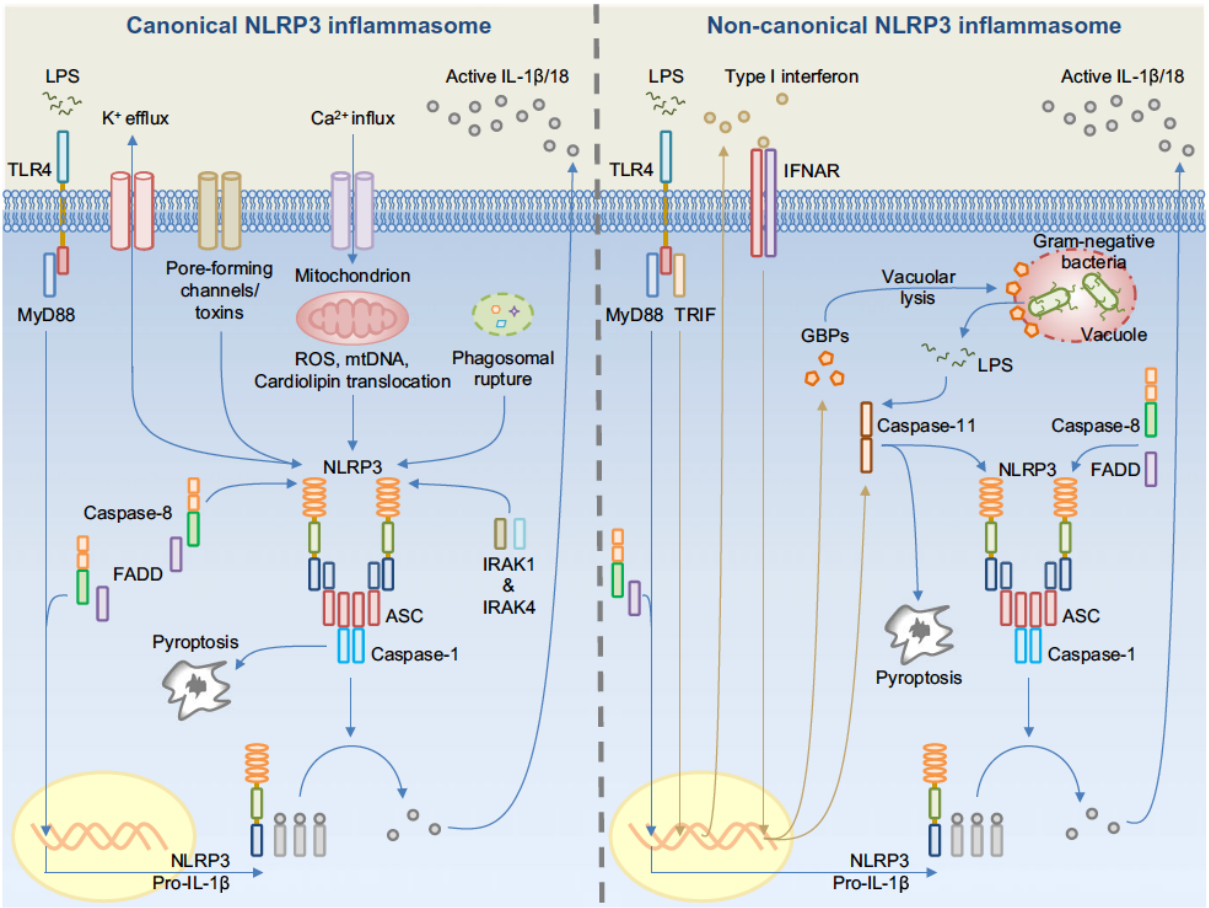


**Figura 3. Vias de ativação do inflamassomo NLRP3.** (painel a esquerda) Vias clássicas de ativação: efluxo de potássio, ruptura lisossomal ou produção de espécies reativas de oxigênio. (painel a direita) Vias não canônicas de ativação: caspase-11 e caspase-8. Adaptado de MAN & KANNEGANTI (2015) **[42]**.

*Inflamassomos não-canônicos: Caspase-11*

Em 2011, KAYAGAKI *et.al.* mostraram que o que antes se acreditava ser um camundongo exclusivamente deficiente em caspase-1 também o era em caspase-11 [43]. Acredita-se que quando foi feita a deleção do gene de caspase-1, parte do gene de caspase-11 foi perdido junto devido à proximidade gênica das enzimas. Com a divulgação desse fato, iniciou-se uma

postura "revisionista" dos trabalhos sobre caspase-1 e concluiu-se que muitos achados antes atribuídos exclusivamente à caspase-1 na verdade eram fenômenos caspase-11 dependentes.

A caspase-11, cujo homólogo em humanos é a caspase-4/-5, não existe em quantidade significativa em condições basais, havendo a necessidade de se induzir sua expressão, principalmente em resposta à ativação de TLR4 e a sinalização via TRIF [44].

Curiosamente, a ativação de caspase-11 ocorre principalmente em resposta a bactérias Gram-negativas (*Citrobacter rodentium*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Legionella pneumophila*) [44,45], que também foram associadas à ativação de inflamassomos clássicos, como NLRC4 e NLRP3.

A princípio, o mecanismo de ativação exato da caspase-11 era desconhecido. Cogitava-se que ela poderia ser deflagrada pela ação de IFN tipo I [46] ou ainda que a própria indução da expressão de caspase-11 seria suficiente e ela mesma se ativaria (auto-ativação) [47]. Posteriormente, constatou-se que a caspase-11 é capaz de se ligar diretamente ao LPS, sugerindo que, além da atividade enzimática, a caspase-11 também funcionaria como um receptor de LPS como TLR4 e NAIP5 [48].

Com relação às suas ações efetoras, sabe-se que a caspase-11 não é capaz de ativar diretamente a IL-1β/IL-18. Contudo, ela participaria da ativação de caspase-1 tanto diretamente

quanto pela ativação de NLRP3 [42,43,47]. Além disso, a caspase-11 também está envolvida na produção de IL-1α [49]. Logo, a caspase-11 é importante um elemento na regulação de citocinas pró-inflamatórias, como exemplificado na inflamação associada ao choque séptico, que é creditada como uma manifestação da ativação excessiva de caspase-11, em resposta a LPS [53]. Logo, em determinadas condições fisiopatológicas, a caspase-11 exerce papel protagonista.

*Funções efetoras do inflamassomo*

O papel de NLRP3 em processos patológicos é emblemático. As doenças autoinflamatórias, assim denominadas por dispensarem a participação da imunidade adaptativa, característica de doenças autoimunes, estão relacionadas a mutações no gene de NLRP3, levando a ativação espontânea do inflamassomo [54]: síndrome autoinflamatória fria familial, síndrome de Muckle-Wells e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal. Além disso, NLRP3 também tem papel na patogênese de doenças metabólicas/sistêmicas, como obesidade [55] e diabetes tipo 2 [56].

Em relação aos processos infecciosos, o envolvimento de diversos NLRs já está estabelecido. O inflamassomo NLRP1, por exemplo, é importante no reconhecimento da toxina de *B.anthracis* e de muramildipeptídeo bacteriano [57]; o inflamassomo AIM2 é importante em processos que envolvam DNA no citossol, como a infecção por *Francisella* [58]; e o

inflamassomo NLRC4 está relacionado a infecções bacterianas, sendo fundamental na resposta contra *Shigella* [59], *Legionella* [60] ou *Salmonella* [61].

Particularmente em relação às infecções fúngicas, a literatura também suporta um papel crucial dos inflamassomos nessas repostas. Apesar de sensores como o NLRC4 terem sido associados à imunidade contra fungos como *Candida* [62], o principal inflamassomo envolvido em micoses é o NLRP3. Sua participação já foi demonstrada em resposta a *Candida albicans* [63,64], *Aspergillus fumigatus* [65], *Paracoccidioides brasiliensis* [66,67], *Microsporum canis* [68] e *Trichophyton schoenleinii* [69]. KUMAR *et.al.* (2009) mostraram que β-glucanos podem ser um dos determinantes fúngicos envolvidos na ativação do NLRP3 [70], sugerindo que em outras micoses possa haver a participação deste sistema.

Os mecanismos efetores deflagrados pelos inflamassomos podem ser divididos em dois grandes grupos: dependentes de IL-1β/IL-18 ou dependentes de caspase-1. Apesar da ativação de IL-1β/IL-18 ser caspase-1 dependente, alguns dos efeitos biológicos dos inflamassomos se devem à ação direta da protease e não às citocinas ativadas [71].

*Mecanismos IL-1β/IL-18 dependentes*

O receptor de IL-1β/IL-1α (IL-1RI) apresenta um domínio TIR intracelular e, após a ligação à citocina, ele recruta a molécula IL-1RAcP e inicia a sinalização celular através das

moléculas adaptadoras MyD88, IRAK4 e TRAF6, levando à ativação das vias de NF-κB e MAPKs [72,73].

Contudo, dado o alto potencial inflamatório desta citocina, dois mecanismos inibitórios existem em nível de receptor: (i) receptor IL-1RII, que não deflagra nenhum tipo de sinalização, pois exibe uma cauda intracelular muito curta, competindo, pois, com o IL-1RI pela IL-1 e (ii) IL-1Ra, uma molécula similar às citocinas, capaz de se ligar ao IL-1RI, mas bloqueando a ligação da citocina ao receptor, o que impede o recrutamento de IL-1RAcP [72,73].

No caso da IL-18, o sistema é similar. O receptor IL-18Rα se liga à IL-18 e recruta a cadeia IL-18Rβ, deflagrando a sinalização intracelular. Como mecanismo de regulação, a proteína IL-18BP liga-se à IL-18, impedindo sua interação com o receptor [72].

Além desta regulação funcional, este sistema também está sujeito a um controle em nível transcricional. A transcrição de genes promovida por outros PRRs, como os TLRs, é fundamental para a atividade do inflamassomo NLPR3. Os níveis constitutivos de pró-IL-1β são normalmente baixos e, portanto, é necessária uma etapa de "primagem" para que a ativação do inflamassomo tenha resultados significativos [74]. Este controle transcricional reforça ainda mais potencial inflamatório da IL-1β: a produção da citocina é condicionada por dois estímulos – um via PAMPs (TLR), que sinaliza a presença de um micro-organismo (mas que pode não ser

necessariamente patogênico) e um via DAMPs (NLR) que indica realmente um processo de dano ao hospedeiro [75].

Recentemente, LIN *et.al.* (2013) descreveram um mecanismo de ativação rápida do inflamassomo NLRP3 que dispensa a etapa de primagem, mas que requer a quinase IRAK1. Contudo, a ativação precoce da caspase-1 estaria mais associada a eventos como a piroptose e a secreção de alarminas, como IL-1α, do que ao processamento de citocinas [76].

Os efeitos biológicos da IL-1β/IL-18 são múltiplos e abrangem vários tipos celulares. Em células dendríticas, induzem a produção de citocinas inflamatórias e a expressão de moléculas do MHC e as co-estimulatórias. Em macrófagos, também induzem a secreção de citocinas e fagocitose. Sobre neutrófilos, promovem sua sobrevivência e induzem o *burst* oxidativo e a secreção de enzimas [73].

Além disso, estas citocinas também são importantes na modulação da resposta adaptativa, atuando como co-estímulos na definição dos eixos de resposta. A IL-1β atua como um coadjuvante na indução da resposta $T_H17$ em concerto com a IL-6 e IL-23 [77]. Por outro lado, a IL-18 é correlacionada ao compromentimento com o eixo $T_H1$ [78].

Em função dos mecanismos expostos, diversos trabalhos demonstraram a importância destas citocinas no combate a patógenos em diferentes sítios anatômicos.

RAMOS *et.al.* (2012) mostraram que a IL-1β, em sinergismo com IFNs tipo I, promove o controle da infecção pelo vírus

West Nile em neurônios [79]. Já CHO *et.al.* (2012) mostraram que no combate a infecções cutâneas por *Staphyloccocus aureus* a IL-1β derivada de neutrófilos é importante para formação de abscessos e controle do patógeno [80].

Com relação à homeostase intestinal, a IL-1β pode ser um elemento importante na discriminação de comensais e patógenos [81]. Contudo, ALIPOUR *et.al.* (2013) mostraram que no combate a *C.rodentium* (análogo murino de *E.coli*), o balanço na produção de IL-1β é importante para evitar o dano exacerbado ao hospedeiro e garantir o controle da infecção [82].

Em contrapartida, a IL-1β também pode exercer papel deletério ao hospedeiro como mostrado por SHIGUEMATSU *et.al.* (2013), em que a citocina produzida em resposta a uma infecção crônica por *Helicobacter pylori* favoreceu o processo de carcinogênese gástrica [83].

*Mecanismos caspase-1 dependentes: Piroptose*

As caspases são enzimas envolvidas com morte celular, classicamente apoptose [84]. Em concordância com este paradigma, a caspase-1 também é capaz de deflagrar uma modalidade de morte celular denominada Piroptose [85].

Neste processo, a caspase-1 passa a agir sobre diversos substratos além das citocinas, levando ao comprometimento da integridade celular. Por exemplo, ela pode degradar enzimas envolvidas com a glicólise, comprometendo o suporte energético

da célula [86]. Além disso, ela também induz a formação de poros na membrana celular e a fragmentação de DNA. Como resultado, a célula perde o controle osmótico, levando à sua lise e liberação do conteúdo intracelular [85,87]. Portanto, a piroptose é um processo pró-inflamatório, em que a morte celular é acompanhada da liberação de DAMPs.

Além do fato de a inflamação promovida ser importante no recrutamento de células imunes para combater patógenos, há outro significado para a piroptose: a eliminação do nicho de replicação de patógenos intracelulares [87]. Tal importância está demonstrada para patógenos como *Shigella* [59] e *Legionella* [88].

Alternativamente a esses processos, a caspase-1 também parece ser importante em outros eventos celulares tais como a secreção não convencional de proteínas, como a IL-1α [89].

A caspase-11 também tem potencial de deflagrar a piroptose, mas de forma independente da caspase-1 e de ativadores clássicos do inflamassomo, como flagelina [43,50], exercendo papel crítico no controle de patógenos intracelulares, principalmente bactérias citossólicas, como *Burkholderia* [51].

No entanto, ao invés de serem considerados eventos isolados, argumenta-se que a piroptose mediada pela caspase-11 seja complementar à dependente de caspase-1. BROZ *et.al.* (2012) mostraram que em modelo de infecção por *Salmonella*, camundongos deficientes em caspase-1 são mais suscetíveis do que o duplo nocaute [52]. Aparentemente, na ausência isolada

de caspase-1, a piroptose promovida pela caspase-11 favorece a disseminação bacteriana e o agravamento da infecção. Com a caspase-1 presente, mecanismos de *clearance*, como o recrutamento de neutrófilos, são mobilizados e as bactérias liberadas podem ser eliminadas. Logo, a resposta final acaba sendo o somatório dos eventos deflagrados pelas diferentes enzimas.

*Processamento de IL-1β independente de caspase-1*

É importante citarmos que apesar de a via clássica de ativação de IL-1β seja dependente das caspases, os inflamassomos, canônicos ou não, não são a via exclusiva de ativação desta citocina.

Outras enzimas, encontradas em outros tipos celulares, tais como proteases de neutrófilos (proteinase-3, elastase, metaloproteases) [90] podem também clivar o zimógeno da citocina.

***CLRs: Dectina-1, Dectina-2***

Os CLRs são, em definitivo, a classe de PRRs mais emblemática na imunologia das micoses e são definidos com uma família de proteínas que apresentam um ou mais Domínios de lectina tipo C (CTLDs) [91]. A principal função desse domínio é mediar a ligação a carboidratos (definida como atividade de lectina), geralmente de forma dependente de $Ca^{2+}$, o que não impede que alguns CLRs também reconheçam ligantes de natureza diferente

[92]. Atualmente, são reconhecidos mais de 1000 membros dessa família, que são divididos em 17 subgrupos (I-XVII) segundo sua estrutura e filogenia [93]. Contudo, apenas para um seleto número desses receptores há função conhecida e de relevância para a resposta imune, dos quais a dectina-1 e a dectina-2 são os mais envolvidos na imunidade às micoses.

Segundo o tipo de sinalização intracelular deflagrado pela ativação dos CLRs, podemos dividi-los em dois grupos: (I) receptores ativadores, que promovem a transdução de sinal através de motivos ativadores baseados nos imunoreceptores de tirosina (ITAM), presentes nas porções citoplasmáticas ou na molécula adaptadora FcRγ (e.g., dectina-1 e dectina-2) ou (II) receptores inibitórios, que possuem motivos inibidores baseados nos imunoreceptores de tirosina (ITIM), como DCIR. Em essência, enquanto os receptores ativadores promovem a transcrição de genes, geralmente envolvidos com a resposta inflamatória, os inibitórios promovem o recrutamento de fosfatases que regulando negativamente as vias de sinalização envolvendo quinases [94]. Existe ainda um terceiro grupo de CLRs que não apresenta porção ITAM ou ITIM bem definida e cuja função está mais associada à endocitose e captura de antígenos, mas cujas vias de sinalização são pouco conhecidas (e.g., DEC-205, DC-SIGN, Lox-1) [92]. Na **Figura 4** estão representados os principais CLRs e as vias de sinalização.

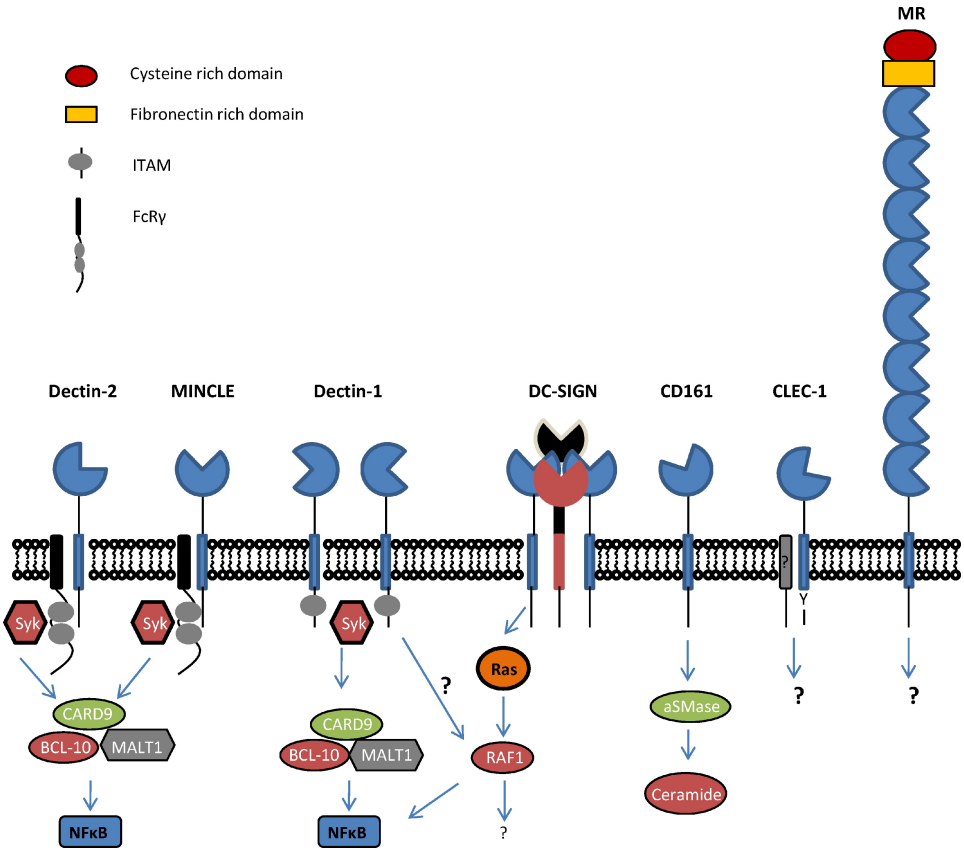


**Figura 4. Os CLRs e suas vias de sinalização.** Adaptado de VAUTIER *et.al.* (2010) [91].

*Dectina-1*

A dectina-1 (ou clec7a) é considerado o arquétipo dos CLRs e é um PRR fortemente relacionado ao reconhecimento de resíduos de β-glucanos [70]. Considerado um receptor ativador, a dectina-1 possui um motivo denominado hemITAM, pois, ao ser ativado, é preciso que haja dimerização de dois motivos para que haja a deflagração da sinalização. Após a ativação, ocorre a fosforilação dos resíduos de tirosina pela quinase SRC, o que permite o recrutamento e ativação de uma segunda quinase, a Syk [92,95].

A Syk é capaz de promover o recrutamento do sistema CARD9-BCL-10-MALT1, que atua como uma plataforma para a ativação de

NF-κB. Ela também pode, alternativamente, ativar o fator de transcrição pela via não-canônica RelB, por intermédio da quinase NIK [92,95]. Complementando a sinalização via Syk, a dectina-1 deflagra, em humanos, uma terceira via de ativação de NF-κB que depende da serina-treonina quinase Raf-1 [92].

Como produtos de transcrição gênica induzidos pela dectina-1 destacam-se as citocinas e quimiocinas IL-2, IL-10, CXCL2, Fator de Necrose Tumoral (TNF)-α, IL-1β, IL-6 e IL-23 – estes mediadores proporcionam a indução de uma resposta adaptativa $T_H17$ que, como será discutido, mais adiante, é uma das principais ferramentas efetoras contra patógenos fúngicos [91].

Além de eventos transcricionais, a via da Syk também influencia na migração de fagócitos e suas atividades microbicidas e de fagocitose, o que também contribui no combate aos patógenos [95].

Com base nestes mecanismos, o papel da dectina-1 na imunidade antifúngica é bem estabelecido contra patógenos clássicos como *A.fumigatus*, *Pneumocystis carinii* e *Coccidioides immitis* [91].

Curiosamente, SAIJO *et.al.*(2007) mostraram que apesar de a dectina-1 ser o principal receptor na ativação de fagócitos em resposta a β-glucanos, ela não é fundamental no controle da infecção intravenosa por *C.albicans* [96]. Por outro lado, quando um modelo similar de candidíase disseminada é estabelecido com outra cepa do fungo, a dectina-1 pode exercer

papel protetor. Logo, a contribuição deste CLRs na resposta às micoses não pode ser generalizado, sendo influenciado por variáveis como sítios de infecção ou mesmo cepas envolvidas [97].

Um outro mecanismo de imunidade promovido pela dectina-1 refere-se a alterações epigenéticas em monócitos. QUINTIN *et.al.* (2012) observaram que a estimulação de camundongos com *C.albicans* os tornavam mais resistentes a futuras infecções pelo fungo. Porém, como os efeitos protetores se mantinham mesmo na ausência de linfócitos T e B (ou seja, diferentemente de vacinação clássica) sugeriu-se que a imunidade inata também tinha potencial de memória, à qual se cunhou o termo imunidade treinada. Molecularmente, constatou-se que esse fenômeno se devia a alterações epigenéticas duradouras no genoma de monócitos, através da via Raf-1, o que os tornava mais "preparados" para um confronto futuro com o patógeno, potencializando a produção de citocinas inflamatórias [98].

*Dectina-2*

A dectina-2 (ou clec4n) reconhece estruturas baseadas em manose, como α-mananas, sendo essencial na indução da resposta protetora $T_H17$ contra *C.albicans* [99]. Diferentemente da dectina-1, a dectina-2 apresenta uma cauda intracelular muito curta e, portanto, não realiza transdução de sinal por si só. Logo, para que seja funcional, o receptor requer a colaboração da cadeia FcRγ, que possui um domínio ITAM. Assim, ao ser

ativado, a dectina-2 recruta a cadeia auxiliar, o que permite a ativação da cascata de sinalização Syk/CARD9, promovendo a transcrição gênica pela via de NF-κB e MAPKs [92].

Curiosamente, foi relatado que a dectina-2 é capaz de formar heterodímeros com o receptor dectina-3 e que este complexo exibe uma maior afinidade por α-mananas, o que potencializa a resposta inflamatória [100]. Uma vez que a formação de heterodímeros é mais favorecida do que a dos homodímeros, é possível que em condições *in vivo* os complexos entre diferentes CLRs possam ser mais prevalentes. Posteriormente, a dectina-3 foi associada à regulação da expressão de outro CLR, o receptor Mincle, o que reforça o alto grau de inter-relação entre os membros desta classe [101].

Além de fungos, a dectina-2 também foi implicada na resposta a outros tipos de patógenos, como o parasita *Schistosoma mansoni*, contra o qual ela regula a indução de resposta adaptativa [102], e a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* [103].

*Outros CLRs*

A função e os ligantes de diversos outros CLRs já foram descritos, assim como sua participação na resposta a patógenos fúngicos, geralmente associados a promoção do eixo $T_H17$. Em contraponto, há muitos membros desta família que não foram devidamente caracterizados. Alguns exemplos de CLRs envolvidos na resposta a fungos são:

- O receptor de manose, um receptor transmembrana tipo I caracterizado por apresentar oito domínios CTLD e uma curta cauda citoplasmática. Geralmente associado à membrana endossomal, este receptor foi associado ao reconhecimento de *Candida*, *Cryptococcus* e *Pneumocystis*, não apenas através de estruturas com terminações de manose, mas também ligadas a fucose e açúcares sulfatados [91].
- O receptor Mincle, exemplo de receptor transmembrana tipo II que também depende do adaptador FcRγ para transdução de sinal que reconhece micobactérias através do ligante trealose dimicotilato, mas um envolvimento importante na resposta protetora contra *Malassezia*, atuando em concerto com a dectina-2, foi observado [104].
- O receptor DC-SIGN é um proteína transmembrana tipo II que se diferencia por ser capaz de promover a endocitose/fagocitose e cuja via de transdução de sinal envolve a molécula adaptadora Raf-1 [91].

*CLRs e TLRs*

O fato de CLRs e TLRs compartilharem PAMPs fúngicos similares sugere um certo grau de complementaridade e sinergismo entre essas duas classes de PRRs [105]. De fato, a ativação em paralelo das vias de MyD88 (TLR) e Syk/CARD9 (CLRs) potencializa consideravelmente a resposta inflamatória [106]. Por exemplo, na resposta a *A.fumigatus*, tanto a dectina-1

quanto TLR2 contribuem na fagocitose e produção de citocinas [27,107,108].

Uma aplicação terapêutica dessa inter-relaçao é exemplificada na cromoblastomicose, causado por *Fonsecaea pedrosoi*. Apesar do fungo ser reconhecido pela dectina-1, ele evade o reconhecimento via TLR. Assim, a administração de agonistas de TLR, como LPS (TLR4) e Imiquimod (TLR7) permite a geração de uma resposta sinérgica que elimina o patógeno [109,110].

*CLRs e NLRs: Inflamassomo não-canônico de caspase-8*

À semelhança da inter-relação com os TLR, também existe um diálogo entre os CLRs a via dos NLRs. Os CLRs podem, por exemplo, influenciar diretamente na ativação do inflamassomo NLRP3 ou, ainda, participar de um inflamassomo não-canônico.

Através de suas atividades transcricionais, os CLRs podem proporcionar a expressão de componentes dos inflamassomos (a etapa de primagem anteriormente descrita). Porém, além disso, os CLRs também podem proporcionar o sinal 2, de formação do inflamassomo, através de suas ações não-transcricionais, como indução de fagocitose e geração de ROS [111]. Um exemplo deste diálogo é a discriminação entre a forma patogênica (hifa) da comensal (levedura) de *C.albicans* dependente do reconhecimento diferencial via dectina-1 e a consequente ativação do inflamassomo, que, por meio da IL-1β, foi determinante na definição de um perfil de resposta adaptativa $T_H17$ protetor [112]. Além de fungos, um sistema de reconhecimento semelhante

também já foi descrito em modelo de *Mycobacterium abscessus* [113].

Recentemente, a relação entre esses receptores ganhou ainda mais destaque com a descrição do inflamassomo não-canônico de caspase-8. A caspase-8 é uma enzima classicamente associada à morte celular por apoptose induzida pelos receptores da família de TNFs [114]. Em um elegante estudo, GRINGHUIS *et.al.* (2012) mostraram que, nas células dendríticas, em condições basais, a caspase-8 permanece associada a MALT1, a mesma do sistema CARD9-BCL-10-MALT1 deflagrado pela ativação de dectina-1 [115]. Quando há a ativação de dectina-1, em resposta a *C.albicans* ou micobactérias, ela mobiliza não só a transcrição gênica pelo sistema CARD9-BCL-10-MALT1, mas também o recrutamento de caspase-8 e a ativação de IL-1β independente de caspase-1. Posteriormente, GANESAN *et.al.* (2014) constataram que a caspase-8 também pode ser recrutada pela ativação do receptor de complemento CR3 por β-glucanas, atuando em concerto com a dectina-1 e o inflammassomo NLRP3 na resposta a *C.albicans* [116].

Mesmo em bactérias, cujo papel dos inflamassomos clássicos é bem estabelecido, parece existir uma contribuição da caspase-8, como mostraram MAN *et.al.* (2013) na reposta de macrófagos a *Salmonella*, onde a ativação concomitante de caspase-1 e caspase-8 proporcionou uma resposta ótima [117].

A contribuição deste inflamassomo não se limita apenas a processos infecciosos. SHENDEROV *et.al.* (2014) mostraram que o

estresse sobre o retículo endoplasmático causado pelo acúmulo de proteínas com dobramento incorreto leva a produção de IL-1β por esse sistema, sem a participação de NLRP3 [118]. Já ANTONOPOULOS *et.al.* (2013) mostraram que esse inflamassomo também é ativado em resposta a quimioterápicos, como doxorrubicina e estaurosporina [119].

Para aumentar ainda mais o grau de complexidade desses sistemas, GURUNG *et.al.* (2014) mostraram que a deficiência de caspase-8 e FADD (uma molécula necessária à sinalização pelo receptor de TNF) interfere negativamente sobre o inflamassomo NLRP3 na resposta a *C.rodentium* [120], sugerindo um alto grau de sobreposição nas vias de sinalização e regulação destes sistemas.

**(ii) Imunidade Adaptativa nas Micoses**

A visão clássica da imunologia diz que após a ativação do sistema inato e deflagração dos mecanismos imediatos de defesa, há a promoção (ou ao menos uma tentativa) de uma imunidade duradora adaptativa. Assim, além da questão do processamento e apresentação de antígenos, o reconhecimento de patógenos através dos PAMPs promove a produção de citocinas que ajudam a determinar quais eixos de resposta T $CD4^+$ auxiliadora ($T_{Helper}$ ou $T_H$) serão preferencialmente acionados. De forma recíproca, as repostas T $CD4^+$ potencializariam as respostas efetoras num segundo momento, permitindo a eliminação efetiva do patógeno e o retorno à homeostase [121].

Os eixos de resposta T auxiliadoras são reconhecidos e definidos segundo as citocinas necessárias à sua polarização, os fatores de transcrição envolvidos e o perfil de citocinas secretadas. Assim, são reconhecidos oito eixos de resposta, segundo exposto na **Tabela 1** [122,123].

**Tabela 1. Perfis de resposta T auxiliadora.**

| Perfil | Citocinas Polarizadoras | Fator de Trascrição | Citocinas produzidas |
|---|---|---|---|
| $T_H1$ | IL-12 | T-bet | IFN-γ |
| $T_H2$ | IL-4 | GATA3/MAF | IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 |
| $T_H17$ | IL-6/TGF-β | RORγt/RORα | IL-17, IL-21, IL-22 |
| $T_H9$ | IL-4/TGF-β | PU-1/IRF4 | IL-9, IL-10, IL-21 |
| $T_H22$ | IL-6/TNF | RORγt/AHR | IL-22 |
| $T_{reg}$ | TGF-β | Foxp3 | TGF-β/IL-10 |
| Tr1 | IL-6/IL-27 | c-Maf/AHR | IL-10 |
| $T_{FH}$ | IL-6 | Bcl-6/IRF4/BATF/MAF | IL-21 |

A resposta $T_H1$ foi inicialmente considerada o eixo principal na resposta protetora às micoses, cuja ação efetora se deve principalmente à produção de citocinas IFN-γ, TNF-α e o Fator de Estimulação de Colônias de Macrófagos e Granulócitos (GM-CSF). O IFN-γ, por sua vez, promoveria a ativação clássica de macrófagos para o perfil M1, cuja atividades fungicidas, como a maior produção de espécies reativas de oxigênio/nitrogênio, eliminariam eficazmente os patógenos fúngicos. Adicionalmente, o perfil $T_H1$ também ajudaria na produção de anticorpos opsonizantes, que facilitariam a fagocitose desses agentes. Sua importância foi claramente demonstrada no combate a fungos clássicos, como

*A.fumigatus*, *C.neoformans*, *Histoplasma capsulatum* e *C.immitis*. Analogamente, pacientes com perturbações no eixo $T_H1$ (e.g. indivíduos com mutações em IL-12, a citocina envolvida no comprometimento com este eixo) são mais suscetíveis a tais infecções [111,124].

Em contraposição ao eixo $T_H1$, o perfil $T_H2$ foi tradicionalmente relacionado a uma resposta não-protetora, permeando a persistência de infecções em pacientes crônicos e também contribuindo na patogênese de processos alérgicos contra antígenos fúngicos. Os mecanismos de suscetibilidade associados ao perfil $T_H2$ estariam relacionados à ativação alternativa de macrófagos (perfil M2) e ao favorecimento de anticorpos envolvidos em repostas atópicas como IgA e IgE [111,124]. Um exemplo clássico da dicotomia $T_H1/T_H2$ é ilustrado na resposta a *P.brasiliensis*, onde o perfil $T_H1$ é associado à proteção e o $T_H2$ à suscetibilidade [125]. Ressalte-se, porém, que essa interpretação da resposta imune é demasiadamente simplista, e, recentemente, foi sendo observada uma contribuição positiva do eixo $T_H2$ ao hospedeiro, como na infecção por *Pneumocystis murina*, na qual este eixo exerce função protetora [126].

O eixo $T_H17$ é direcionado pela ação das citocinas IL-6, TGF-β e IL-1β, que promovem a expressão dos fatores de transcrição RORYt e STAT3. A IL-23 também participa do processo auxiliando na manutenção do fenótipo $T_H17$ [127]. Apesar de seu nome e principais atividades sejam devidas à

citocina IL-17, as células $T_H17$ também são fonte expressiva de IL-22, uma citocina da família da IL-10 que é reconhecida como uma componente fundamental na imunidade de mucosas [128].

A IL-17 representa uma família de seis isoformas (IL-17A-IL-17F) e cinco subunidades de receptores (IL-17RA-IL-17RE). As citocinas mais conhecidas, IL-17A e IL-17F, funcionam na forma de homo- ou heterodímeros (IL-17A-IL-17F) e o receptor de IL-17 é uma heterocomplexos formado por cadeias IL-17RA e IL-17RC. Como estas subunidades diferem quando à afinidade por uma ou outra isoforma, a proporção de cada cadeia no complexo receptor determina a preferência por determinado ligante. Em termos de sinalização intracelular, o receptor de IL-17 requer uma molécula adaptadora, ACT1, para o recrutamento de TRAF6, o que promove a ativação canônica de NF-κB, C/EBF e MAPKs [129].

A importância das células $T_H17$ na imunidade às micoses é ilustrada pela alta suscetibilidade a infecções fúngicas apresentada por pacientes com polimorfismos genéticos nesse eixo. Assim, mutações nos genes *IL17RA*, *IL17RC, ATC1* e *IL17F* estão relacionados ao desenvolvimento de candidíase mucocutânea [130]. As funções antifúngicas da IL-17 consistem na indução de citocinas inflamatórias, como IL-6, quimiocinas recrutadoras de neutrófilos, como CCL20, CXCL1, CXCL2 e CXCL5, e de peptídeos antimicrobianos, como β-defensinas, em células epiteliais. Ela também promove a secreção de GM-CSF por células NK na medula óssea, o que potencializa a atividade microbicida de neutrófilos [127].

É importante ressaltar que a IL-17 também pode ser proveniente de outros tipos celulares além dos linfócitos T. Grande atenção é dada, por exemplo, às Células Linfóides Inatas (ILCs) do tipo 3, que, além da responsividade às citocinas polarizadoras IL-1β e IL-23, são capazes de detectar PAMPs e tem uma velocidade de respostas muito superior aos linfócitos clássicos [131]. Assim, considera-se que muitos dos efeitos protetores da resposta de IL-17 sejam provenientes da contribuição destas células e não tanto das células $T_H17$.

As células $T_H9$ são um recente subtipo de células T devotadas à secreção de IL-9 (embora não sejam fonte exclusiva da citocina, que pode ser secretada por outras linhagens de células T auxiliadoras, mastócitos e células NKT). Exercem um papel importante na manutenção de epitélios e mucosas, onde regulam eventos como secreção de muco, deposição de colágeno e hiperplasia da musculatura lisa (epitélio pulmonar); reparo tecidual e proliferação celular (epitélio intestinal) e o recrutamento e ativação de mastócitos, basófilos e eosinófilos – ou seja, indicando um favorecimento de respostas do tipo 2. Por causa dessa atividade, a resposta $T_H9$ é correlacionada à proteção contra infecções por helmintos [122]. No caso das micoses, é sugerido que ela possa participar na patologia de infecções por *Candida* e *Aspergillus*, apesar de as evidências serem muito preliminares [124].

O perfil $T_H22$ é igualmente muito recente e estas células T se caracterizam por secretarem IL-22 independentemente da

secreção de IFN-γ e IL-17. A IL-22 também exerce importantes efeitos nos epitélios, especialmente promovendo a produção de proteínas antimicrobianas, como as defensinas, e regulando processos de proliferação celular. Ela também exerce algumas ações órgão-específicas, como no fígado, aumentando a produção de proteínas de fase aguda por hepatócitos, e nas articulações, favorecendo o recrutamento de monócitos e sua conversão em osteoclastos [132]. Em relação às infecções fúngicas, a resposta $T_H22$ teria um papel protetor, por potencializar os mecanismos naturais de defesa nos epitélios, atuando, assim, em conjunto com os eixos $T_H1$ e $T_H17$ – principalmente na manutenção do balanço entre o hospedeiro e o micobioma nos intestinos [133].

Os eixos $T_{reg}$ e Tr1 são importantes para contrabalancear a reposta inflamatória, evitando que sua ativação excessiva cause danos em demasia ao hospedeiro. Entretanto existe um limite tênue entre a contenção protetora da inflamação e a promoção de um estado imunossupressor permeável a persistência da infecção. Dessa forma, assim como existem trabalhos demostrando os benefícios da imunorregulação, como na infecção por *C.albicans* [134], também há evidência de efeitos negativos, como na infecção por *P.brasiliensis* [135]. Logo, o papel destas células nas infecções fúngicas é dúbio, dependendo de fatores como tipo de infeção e resposta do hospedeiro.

As células $T_{FH}$ são consideradas auxiliadoras foliculares e são um eixo singular de resposta uma vez que sua principal

atividade é promover a resposta humoral, mediando a ativação e diferenciação de células B. Não por acaso, elas se localizam nos órgãos linfoides secundários, nos folículos de células B, onde provem sinais co-estimulatórios que norteiam a maturação por afinidade dos anticorpos [123].

A resposta humoral era até então considerada um elemento secundário na imunidade aos fungos, principalmente porque pacientes cronicamente infectados desenvolviam altos níveis de anticorpos não-protetores, ainda que fossem valiosos marcadores de diagnóstico e seguimento terapêutico. Não obstante, sabe-se que os anticorpos gerados contra componentes da parede celular ou mesmo exoantígenos, principalmente IgG e IgM, podem ser eficazes na eliminação de fungos patogênicos através de mecanismos clássicos, como aumento de fagocitose por opsonização ou lise celular direta via ativação de complemento [22]. O advento da tecnologia de anticorpos monoclonais, permitido o isolamento e produção em larga escala de isotipos específicos e eficientes, tornou concreta a possibilidade do seu uso terapêutico em infecções fúngicas, como demonstrado em modelos de esporotricose [136,137].

Um outro aspecto da imunidade celular que merece menção é a contribuição dos linfócitos $CD8^+$. Assim como a resposta humoral, considera-se que as células $CD8^+$ exercem um papel coadjuvante na imunidade às micoses. Além de sua contribuição na produção de citocinas como IFN-γ e IL-17, elas também executam importante atividade citotóxica, que pode tanto atuar

sobre fagócitos infectados quanto diretamente sobre os fungos invasores. Assim, uma contribuição importante destas células foi observada na proteção proporcionada por vacinas contra fungos intracelulares como *H.capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis* [22,138]. Mais recentemente, a ativação do perfil $CD8^+$ por um mecanismo TLR3-dependente foi descoberto com um ramo importante na imunidade protetora contra *A.fumigatus* [139], sugerindo que há muito mais a ser compreendido sobre o papel destas células nas infecções fúngicas.

**(iii) Imunologia das Dermatofitoses**

A pele é a primeira linha de defesa contra os dermatófitos, atuando inicialmente como uma barreira mecânica. Porém, além de um obstáculo físico, a pele também apresenta queratinócitos, que produzem citocinas quimiotáticas como a IL-8, e as células de Langerhans, que atuam como APCs. Nesse sentido, os fagócitos profissionais também são protagonistas no combate aos dermatófitos, capazes de fagocitar e inibir o crescimento de patógenos e secretar citocinas e moléculas inflamatórias [140]. Já é sabido que neutrófilos e monócitos são capazes de eliminar dermatófitos como *T.rubrum* e *Trichophyton quinckeanum* através da produção de ROS [141,142].

Por outro lado, CAMPOS *et.al.* (2006) observaram que macrófagos derivados de camundongos A/J são eficazes na fagocitose dos conídios do fungo, mas não em sua eliminação

[143]. O fungo consegue se converter à forma de hifa, crescendo e matando o macrófago. O processo foi associado à depressão da expressão de MHC classe II e moléculas co-estimulatórias e à produção das citocinas IL-10 (anti-inflamatória) e TNF-α (pró-inflamatória).

A importância dos fagócitos na dermatofitose foi corroborada pelos achados de DE SOUSA *et.al.* (2015), que traçaram uma correlação entre defeitos na função dessas células com o desenvolvimento de dermatofitose crônica disseminada. Os fagócitos dos pacientes com esta forma da doença são menos competentes na fagocitose, na produção de espécies reativas e na secreção de citocinas inflamatórias quando confrontados com *T.rubrum* [144].

Em relação ao reconhecimento imune inato dos dermatófitos, os principais PRRs associados são os TLRs, os NLRs e os CLRs.

Dentre os TLRs, os receptores TLR2 e TLR4 merecem destaque. Na linhagem de queratinócitos humanos HaCaT foi observado um aumento na expressão destes receptores quando as células são estimuladas com *T.rubrum* [145,146] e, de fato, em biópsias de pacientes resultados semelhantes foram encontrados [147]. Recentemente, OLIVEIRA *et.al.* (2015) relataram que pacientes com dermatofitose disseminada apresentam redução na expressão de TLR2, sugerindo que esse fato pode estar envolvido na persistência e severidade associados a esta forma clínica da doença [148].

A contribuição dos CLRs na imunidade aos dermatófitos foi sugerida por SATO *et.al.* (2006), que relataram o potencial da dectina-1 e dectina-2 de se ligar a fungos como *T.rubrum* e *Microsporum audouinii* [149]. Trabalhos posteriores com células HaCaT reforçaram o papel destes receptores na produção de citocinas em resposta a *T.rubrum* [146,150,151]. Uma possível contribuição de dectina-1 na reação de hipersensibilidade ao antígeno tricofitina foi descrita por NAKAMURA *et.al.* (2016) [152]. Apesar desses achados, ainda não foi observada qual a possível contribuição de dectina-1 e dectina-2 na resposta de fagócitos ou mesmo em sistemas *in vivo*.

Além destes CLRs, foi observada a participação do receptor DC-SIGN no reconhecimento de dermatófitos, como *M.canis* e *Chrysosporium tropicum* [153]. Posteriormente, SANTIAGO *et.al.* (2014) demonstraram sua importância na fagocitose de *T.rubrum* por macrófagos e células dendríticas humanas [154].

Um outro CLRs que merece ser destacado na resposta aos dermatófitos é o receptor DC-HIL. Apesar de originalmente associado a sinais inibitórios em células T, impedindo a proliferação e reativação dos linfócitos [155], ele foi posteriormente reconhecido como um receptor de dermatófitos, como *T.rubrum* e *M.audouinii*, atuando na produção de citocinas e ativação de APCs [156].

Curiosamente, foi constatado que pacientes com quadros de dermatofitose profunda exibem polimorfismos no gene da proteína CARD9, a molécula sinalizadora dos CLRs [157,158],

sugerindo que estes receptores exercem um papel essencial no combate a estes patógenos.

Em relação aos NLRs, dois grupos independentes mostraram que o inflamassomo NLRP3 é ativado pelos dermatófitos *T. schoenleinii* e *M.canis* na linhagem monocítica humana THP-1 e , no trabalho com *M.canis*, também no sistema *in vivo* [68,69], indicando que o inflamassomo seja ativado em resposta a diversos dermatófitos.

Do ponto de vista da imunidade adaptativa, as dermatofitoses caracterizam-se por respostas do tipo $T_H1$, com a produção das citocinas IFN-γ e IL-2, mas cuja intensidade varia de acordo com o dermatófito envolvido [7,140]. De forma geral, espécies antropofílicas induzem respostas menos intensas [7] devido a duas razões principais: (i) a natureza dos antígenos do dermatófito (proteínas dos dermatófitos não-antropofílicos, como *M.canis*, são mais imunogênicas [159]) e o fato de (ii) dermatófitos antropofílicos secretarem moléculas imunomodulatórias, tais como mananas de *T.rubrum* [160].

A importância da imunidade celular se baseia em evidências clínicas, como pacientes soropositivos, que exibem uma maior suscetibilidade para desenvolver micoses, inclusive dermatofitoses, e, em particular, onicomicoses [161,162]. Contudo, mesmo em pacientes imunodeprimidos, infecções disseminadas por dermatófitos são incomuns ainda que existam relatos de colonização de linfonodos, ossos, baço e fígado [161].

Apesar de também haver a produção de anticorpos em pacientes com dermatofitose, a resposta humoral não é capaz de promover proteção. As principais imunoglobulinas envolvidas são IgG4 e IgE, esta última associada a reações de hipersensibilidade observada em pacientes com dermatofitose crônica [140].

# CONCLUSÕES

- *T.rubrum* é capaz de promover a ativação do inflamassomo NLRP3 pela via das catepsinas, promovendo a secreção de IL-1β. A sinalização de IL-1 é importante na promoção de uma resposta IL-17 na infecção experimental;

- Os receptores dectina-1 e dectina-2 são essenciais na produção de citocinas inflamatórias em resposta a *T.rubrum.* Eles são ainda fundamentais na resolução da infecção experimental;

- A resposta de IL-17 não é necessária no controle da infecção experimental. Igualmente dispensável é a contribuição de linfócitos T e B, sugerindo que a imunidade inata é a força motriz no combate ao dermatófito;

- CLEC1A é um novo receptor envolvida na resposta a *T.rubrum*, envolvido no reconhecimento de glicolipídeos. Embora não seja necessário no controle da carga fúngica na, ele auxilia na modulação da resposta de IL-17;

- Vimentina e Plastina-2 são duas proteínas potencialmente envolvidas na interação macrófago-hospedeiro, podendo ser importantes no contexto da infecção *in vivo*.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. Mycoses. 2008;51 Suppl 4:2–15.

2. White TC, Oliver BG, Gräser Y, Henn MR. Generating and testing molecular hypotheses in the dermatophytes. Eukaryot. Cell. 2008;7:1238–45.

3. Siqueira ER, Ferreira JC, Maffei CML, Candido RC. [Occurrence of dermatophyte, in nails, feet and hands of university students]. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2006;39:269–71.

4. Hawkins DM, Smidt AC. Superficial Fungal Infections in Children. Pediatr. Clin. North Am. 2014;61:443–55.

5. Tan Y, Lin L, Feng P, Lai W. Dermatophytosis caused by Trichophyton rubrum mimicking syphilid: a case report and review of literature. Mycoses. 2014;57:312–5.

6. Da Silva BCM, Paula CR, Auler ME, Ruiz L da S, Dos Santos JI, Yoshioka MCN, et al. Dermatophytosis and immunovirological status of HIV-infected and AIDS patients from Sao Paulo city, Brazil. Mycoses. 2014;57:371–6.

7. Mendez-Tovar LJ. Pathogenesis of dermatophytosis and tinea versicolor. Clin. Dermatol. 2010;28:185–9.

8. Aljabre SH, Richardson MD, Scott EM, Rashid A, Shankland GS. Adherence of arthroconidia and germlings of anthropophilic and

zoophilic varieties of Trichophyton mentagrophytes to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis. Clin. Exp. Dermatol. 1993;18:231–5.

9. Brasch J. Current knowledge of host response in human tinea. Mycoses. 2009;52:304–12.

10. Martinez-Rossi NM, Persinoti GF, Peres NTA, Rossi A. Role of pH in the pathogenesis of dermatophytoses: pH role in pathogenesis of dermatophytoses. Mycoses. 2012;55:381–7.

11. Jensen RH, Arendrup MC. Molecular diagnosis of dermatophyte infections: Curr. Opin. Infect. Dis. 2012;25:126–34.

12. Hay RJ, Jones RM. New molecular tools in the diagnosis of superficial fungal infections. Clin. Dermatol. 2010;28:190–6.

13. Hay R. Superficial fungal infections. Medicine (Baltimore). 2013;41:716–8.

14. Dyachenko P, Monselise A, Shustak A, Ziv M, Rozenman D. Nail disorders in patients with chronic renal failure and undergoing haemodialysis treatment: a case-control study. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. JEADV. 2007;21:340–4.

15. Kuvandik G, Cetin M, Genctoy G, Horoz M, Duru M, Akcali C, et al. The prevalance, epidemiology and risk factors for onychomycosis in hemodialysis patients. BMC Infect. Dis. 2007;7:102.

16. Irimie M, Tătaru A, Oantă A, Moga M. *In vitro* susceptibility of dermatophytes isolated from patients with end-stage renal disease: a case-control study. Mycoses. 2014;57:129–34.

17. Medzhitov R, Janeway C Jr. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. Immunol. Rev. 2000;173:89–97.

18. Matzinger P. An innate sense of danger. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2002;961:341–2.

19. Davis BK, Wen H, Ting JP-Y. The Inflammasome NLRs in Immunity, Inflammation, and Associated Diseases. Annu. Rev. Immunol. 2011;29:707–35.

20. Lee MS, Kim Y-J. Signaling Pathways Downstream of Pattern-Recognition Receptors and Their Cross Talk. Annu. Rev. Biochem. 2007;76:447–80.

21. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. Int. Rev. Immunol. 2011;30:16–34.

22. Verma A, Wüthrich M, Deepe G, Klein B. Adaptive immunity to fungi. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2015;5:a019612.

23. Kawai T, Akira S. Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. Immunity. 2011;34:637–50.

24. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette spätzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults. Cell. 1996;86:973–83.

25. Villamón E, Gozalbo D, Roig P, O'Connor JE, Fradelizi D, Gil ML. Toll-like receptor-2 is essential in murine defenses against Candida albicans infections. Microbes Infect. Inst. Pasteur. 2004;6:1–7.

26. Bellocchio S, Montagnoli C, Bozza S, Gaziano R, Rossi G, Mambula SS, et al. The contribution of the Toll-like/IL-1 receptor superfamily to innate and adaptive immunity to fungal pathogens in vivo. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2004;172:3059–69.

27. Cunha C, Romani L, Carvalho A. Cracking the Toll-like receptor code in fungal infections. Expert Rev. Anti Infect. Ther. 2010;8:1121–37.

28. Brown GD. Innate Antifungal Immunity: The Key Role of Phagocytes. Annu. Rev. Immunol. 2011;29:1–21.

29. Yoneyama M, Onomoto K, Jogi M, Akaboshi T, Fujita T. Viral RNA detection by RIG-I-like receptors. Curr. Opin. Immunol. 2015;32:48–53.

30. Onomoto K, Yoneyama M, Fung G, Kato H, Fujita T. Antiviral innate immunity and stress granule responses. Trends Immunol. 2014;35:420–8.

31. Jaeger M, van der Lee R, Cheng S-C, Johnson MD, Kumar V, Ng A, et al. The RIG-I-like helicase receptor MDA5 (IFIH1) is involved in the host defense against Candida infections. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. 2015;34:963–74.

32. Ting JP-Y, Lovering RC, Alnemri ES, Bertin J, Boss JM, Davis BK, et al. The NLR gene family: a standard nomenclature. Immunity. 2008;28:285–7.

33. Bauernfeind F, Ablasser A, Bartok E, Kim S, Schmid-Burgk J, Cavlar T, et al. Inflammasomes: current understanding and open questions. Cell. Mol. Life Sci. 2010;68:765–83.

34. Zambetti LP, Laudisi F, Licandro G, Ricciardi-Castagnoli P, Mortellaro A. The rhapsody of NLRPs: master players of inflammation … and a lot more. Immunol. Res. 2012;53:78–90.

35. Martinon F, Mayor A, Tschopp J. The Inflammasomes: Guardians of the Body. Annu. Rev. Immunol. 2009;27:229–65.

36. Lamkanfi M, Dixit VM. Inflammasomes and Their Roles in Health and Disease. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2012;28:137–61.

37. Ratsimandresy RA, Dorfleutner A, Stehlik C. An Update on PYRIN Domain-Containing Pattern Recognition Receptors: From

Immunity to Pathology. Front. Immunol. [Internet]. 2013 [cited 2014 Mar 4];4. Available from: http://www.frontiersin.org/Journal/10.3389/fimmu.2013.00440/full

38. Chu J, Thomas LM, Watkins SC, Franchi L, Nunez G, Salter RD. Cholesterol-dependent cytolysins induce rapid release of mature IL-1 from murine macrophages in a NLRP3 inflammasome and cathepsin B-dependent manner. J. Leukoc. Biol. 2009;86:1227–38.

39. Compan V, Baroja-Mazo A, López-Castejón G, Gomez AI, Martínez CM, Angosto D, et al. Cell Volume Regulation Modulates NLRP3 Inflammasome Activation. Immunity. 2012;37:487–500.

40. Orlowski GM, Colbert JD, Sharma S, Bogyo M, Robertson SA, Rock KL. Multiple Cathepsins Promote Pro-IL-1β Synthesis and NLRP3-Mediated IL-1β Activation. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2015;195:1685–97.

41. Shimada K, Crother TR, Karlin J, Dagvadorj J, Chiba N, Chen S, et al. Oxidized Mitochondrial DNA Activates the NLRP3 Inflammasome during Apoptosis. Immunity. 2012;36:401–14.

42. Man SM, Kanneganti T-D. Regulation of inflammasome activation. Immunol. Rev. 2015;265:6–21.

43. Kayagaki N, Warming S, Lamkanfi M, Walle LV, Louie S, Dong J, et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. Nature. 2011;479:117–21.

44. Broz P, Monack DM. Noncanonical inflammasomes: caspase-11 activation and effector mechanisms. PLoS Pathog. 2013;9:e1003144.

45. Viganò E, Mortellaro A. Caspase-11: The driving factor for noncanonical inflammasomes. Eur. J. Immunol. 2013;43:2240–5.

46. Broz P, Monack DM. Noncanonical inflammasomes: caspase-11 activation and effector mechanisms. PLoS Pathog. 2013;9:e1003144.

47. Rathinam VAK, Vanaja SK, Waggoner L, Sokolovska A, Becker C, Stuart LM, et al. TRIF Licenses Caspase-11-Dependent NLRP3 Inflammasome Activation by Gram-Negative Bacteria. Cell. 2012;150:606–19.

48. Shi J, Zhao Y, Wang Y, Gao W, Ding J, Li P, et al. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. Nature. 2014;514:187–92.

49. Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. Nat. Rev. Immunol. 2013;13:397–411.

50. Case CL, Kohler LJ, Lima JB, Strowig T, Zoete MR de, Flavell RA, et al. Caspase-11 stimulates rapid flagellin-

independent pyroptosis in response to Legionella pneumophila. Proc. Natl. Acad. Sci. 2013;110:1851–6.

51. Aachoui Y, Leaf IA, Hagar JA, Fontana MF, Campos CG, Zak DE, et al. Caspase-11 Protects Against Bacteria That Escape the Vacuole. Science. 2013;339:975–8.

52. Broz P, Ruby T, Belhocine K, Bouley DM, Kayagaki N, Dixit VM, et al. Caspase-11 increases susceptibility to Salmonella infection in the absence of caspase-1. Nature. 2012;490:288–91.

53. Hagar JA, Powell DA, Aachoui Y, Ernst RK, Miao EA. Cytoplasmic LPS activates caspase-11: implications in TLR4-independent endotoxic shock. Science. 2013;341:1250–3.

54. Brydges SD, Mueller JL, McGeough MD, Pena CA, Misaghi A, Gandhi C, et al. Inflammasome-Mediated Disease Animal Models Reveal Roles for Innate but Not Adaptive Immunity. Immunity. 2009;30:875–87.

55. Stienstra R, Joosten LAB, Koenen T, van Tits B, van Diepen JA, van den Berg SAA, et al. The Inflammasome-Mediated Caspase-1 Activation Controls Adipocyte Differentiation and Insulin Sensitivity. Cell Metab. 2010;12:593–605.

56. Schroder K, Zhou R, Tschopp J. The NLRP3 Inflammasome: A Sensor for Metabolic Danger? Science. 2010;327:296–300.

57. Frew BC, Joag VR, Mogridge J. Proteolytic processing of Nlrp1b is required for inflammasome activity. PLoS Pathog. 2012;8:e1002659.

58. Jones JW, Broz P, Monack DM. Innate Immune Recognition of Francisella Tularensis: Activation of Type-I Interferons and the Inflammasome. Front. Microbiol. [Internet]. 2011 [cited 2013 Nov 16];2. Available from: http://www.frontiersin.org/Cellular_and_Infection_Microbiology_-_closed_section/10.3389/fmicb.2011.00016/abstract

59. Suzuki T, Franchi L, Toma C, Ashida H, Ogawa M, Yoshikawa Y, et al. Differential Regulation of Caspase-1 Activation, Pyroptosis, and Autophagy via Ipaf and ASC in Shigella-Infected Macrophages. PLoS Pathog. 2007;3:e111.

60. Massis LM, Zamboni DS. Innate Immunity to Legionella Pneumophila. Front. Microbiol. [Internet]. 2011 [cited 2014 Mar 15];2. Available from: http://www.frontiersin.org/Journal/10.3389/fmicb.2011.00109/full

61. Puri AW, Broz P, Shen A, Monack DM, Bogyo M. Caspase-1 activity is required to bypass macrophage apoptosis upon Salmonella infection. Nat. Chem. Biol. 2012;8:745–7.

62. Tomalka J, Ganesan S, Azodi E, Patel K, Majmudar P, Hall BA, et al. A Novel Role for the NLRC4 Inflammasome in Mucosal

Defenses against the Fungal Pathogen Candida albicans. Filler SG, editor. PLoS Pathog. 2011;7:e1002379.

63. Gross O, Poeck H, Bscheider M, Dostert C, Hannesschläger N, Endres S, et al. Syk kinase signalling couples to the Nlrp3 inflammasome for anti-fungal host defence. Nature. 2009;459:433–6.

64. Hise AG, Tomalka J, Ganesan S, Patel K, Hall BA, Brown GD, et al. An Essential Role for the NLRP3 Inflammasome in Host Defense against the Human Fungal Pathogen Candida albicans. Cell Host Microbe. 2009;5:487–97.

65. Saïd-Sadier N, Padilla E, Langsley G, Ojcius DM. Aspergillus fumigatus Stimulates the NLRP3 Inflammasome through a Pathway Requiring ROS Production and the Syk Tyrosine Kinase. Unutmaz D, editor. PLoS ONE. 2010;5:e10008.

66. Feriotti C, Bazan SB, Loures FV, Araújo EF, Costa TA, Calich VLG. Expression of dectin-1 and enhanced activation of NALP3 inflammasome are associated with resistance to paracoccidioidomycosis. Front. Microbiol. 2015;6:913.

67. Tavares AH, Magalhães KG, Almeida RDN, Correa R, Burgel PH, Bocca AL. NLRP3 Inflammasome Activation by Paracoccidioides brasiliensis. Vinetz JM, editor. PLoS Negl. Trop. Dis. 2013;7:e2595.

68. Mao L, Zhang L, Li H, Chen W, Wang H, Wu S, et al. Pathogenic Fungus Microsporum canis Activates the NLRP3 Inflammasome. Infect. Immun. 2013;82:882–92.

69. Li H, Wu S, Mao L, Lei G, Zhang L, Lu A, et al. Human pathogenic fungus Trichophyton schoenleinii activates the NLRP3 inflammasome. Protein Cell. 2013;4:529–38.

70. Kumar H, Kumagai Y, Tsuchida T, Koenig PA, Satoh T, Guo Z, et al. Involvement of the NLRP3 Inflammasome in Innate and Humoral Adaptive Immune Responses to Fungal -Glucan. J. Immunol. 2009;183:8061–7.

71. Lamkanfi M. Emerging inflammasome effector mechanisms. Nat. Rev. Immunol. 2011;11:213–20.

72. Arend WP, Palmer G, Gabay C. IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. Immunol. Rev. 2008;223:20–38.

73. Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. Nat. Rev. Immunol. 2010;10:117.

74. Becker CE, O'Neill LAJ. Inflammasomes in inflammatory disorders: the role of TLRs and their interactions with NLRs. Semin. Immunopathol. 2007;29:239–48.

75. Netea MG, Simon A, van de Veerdonk F, Kullberg B-J, Van der Meer JWM, Joosten LAB. IL-1beta processing in host defense: beyond the inflammasomes. PLoS Pathog. 2010;6:e1000661.

76. Lin K-M, Hu W, Troutman TD, Jennings M, Brewer T, Li X, et al. IRAK-1 bypasses priming and directly links TLRs to rapid NLRP3 inflammasome activation. Proc. Natl. Acad. Sci. [Internet]. 2013 [cited 2014 Jan 14]; Available from: http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1320294111

77. Lee Y, Awasthi A, Yosef N, Quintana FJ, Xiao S, Peters A, et al. Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. Nat. Immunol. 2012;13:991–9.

78. O'Donnell H, Pham OH, Li L-X, Atif SM, Lee S-J, Ravesloot MM, et al. Toll-like Receptor and Inflammasome Signals Converge to Amplify the Innate Bactericidal Capacity of T Helper 1 Cells. Immunity. 2014;40:213–24.

79. Ramos HJ, Lanteri MC, Blahnik G, Negash A, Suthar MS, Brassil MM, et al. IL-1β signaling promotes CNS-intrinsic immune control of West Nile virus infection. PLoS Pathog. 2012;8:e1003039.

80. Cho JS, Guo Y, Ramos RI, Hebroni F, Plaisier SB, Xuan C, et al. Neutrophil-derived IL-1β is sufficient for abscess formation in immunity against Staphylococcus aureus in mice. PLoS Pathog. 2012;8:e1003047.

81. Franchi L, Muñoz-Planillo R, Núñez G. Sensing and reacting to microbes through the inflammasomes. Nat. Immunol. 2012;13:325–32.

82. Alipour M, Lou Y, Zimmerman D, Bording-Jorgensen MW, Sergi C, Liu JJ, et al. A Balanced IL-1β Activity Is Required for Host Response to Citrobacter rodentium Infection. PloS One. 2013;8:e80656.

83. Shigematsu Y, Niwa T, Rehnberg E, Toyoda T, Yoshida S, Mori A, et al. Interleukin-1β induced by Helicobacter pylori infection enhances mouse gastric carcinogenesis. Cancer Lett. 2013;340:141–7.

84. Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2004;5:897–907.

85. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: host cell death and inflammation. Nat. Rev. Microbiol. 2009;7:99–109.

86. Shao W, Yeretssian G, Doiron K, Hussain SN, Saleh M. The caspase-1 digestome identifies the glycolysis pathway as a target during infection and septic shock. J. Biol. Chem. 2007;282:36321–9.

87. Miao EA, Rajan JV, Aderem A. Caspase-1-induced pyroptotic cell death. Immunol. Rev. 2011;243:206–14.

88. Whitfield NN, Byrne BG, Swanson MS. Mouse Macrophages Are Permissive to Motile Legionella Species That Fail To Trigger Pyroptosis. Infect. Immun. 2009;78:423–32.

89. Keller M, Rüegg A, Werner S, Beer H-D. Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. Cell. 2008;132:818–31.

90. Dinarello CA. Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. Annu. Rev. Immunol. 2009;27:519–50.

91. Vautier S, Sousa M da G, Brown GD. C-type lectins, fungi and Th17 responses. Cytokine Growth Factor Rev. 2010;21:405–12.

92. Sancho D, Reis e Sousa C. Signaling by myeloid C-type lectin receptors in immunity and homeostasis. Annu. Rev. Immunol. 2012;30:491–529.

93. Brubaker SW, Bonham KS, Zanoni I, Kagan JC. Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective. Annu. Rev. Immunol. 2015;33:257–90.

94. Dambuza IM, Brown GD. C-type lectins in immunity: recent developments. Curr. Opin. Immunol. 2015;32:21–7.

95. Mócsai A, Ruland J, Tybulewicz VLJ. The SYK tyrosine kinase: a crucial player in diverse biological functions. Nat. Rev. Immunol. 2010;10:387–402.

96. Saijo S, Fujikado N, Furuta T, Chung S, Kotaki H, Seki K, et al. Dectin-1 is required for host defense against Pneumocystis carinii but not against Candida albicans. Nat. Immunol. 2007;8:39–46.

97. Saijo S, Iwakura Y. Dectin-1 and Dectin-2 in innate immunity against fungi. Int. Immunol. 2011;23:467–72.

98. Quintin J, Saeed S, Martens JHA, Giamarellos-Bourboulis EJ, Ifrim DC, Logie C, et al. Candida albicans Infection Affords Protection against Reinfection via Functional Reprogramming of Monocytes. Cell Host Microbe. 2012;12:223–32.

99. Saijo S, Ikeda S, Yamabe K, Kakuta S, Ishigame H, Akitsu A, et al. Dectin-2 Recognition of α-Mannans and Induction of Th17 Cell Differentiation Is Essential for Host Defense against Candida albicans. Immunity. 2010;32:681–91.

100. Zhu L-L, Zhao X-Q, Jiang C, You Y, Chen X-P, Jiang Y-Y, et al. C-Type Lectin Receptors Dectin-3 and Dectin-2 Form a Heterodimeric Pattern-Recognition Receptor for Host Defense against Fungal Infection. Immunity. 2013;39:324–34.

101. Zhao X-Q, Zhu L-L, Chang Q, Jiang C, You Y, Luo T, et al. C-type Lectin Receptor Dectin-3 Mediates Trehalose 6,6'-Dimycolate (TDM)-induced Mincle Expression through CARD9/Bcl10/MALT1-dependent Nuclear Factor (NF)- B Activation. J. Biol. Chem. 2014;289:30052–62.

102. Ritter M, Gross O, Kays S, Ruland J, Nimmerjahn F, Saijo S, et al. Schistosoma mansoni triggers Dectin-2, which activates the Nlrp3 inflammasome and alters adaptive immune responses. Proc. Natl. Acad. Sci. 2010;107:20459–64.

103. Yonekawa A, Saijo S, Hoshino Y, Miyake Y, Ishikawa E, Suzukawa M, et al. Dectin-2 Is a Direct Receptor for Mannose-Capped Lipoarabinomannan of Mycobacteria. Immunity. 2014;41:402–13.

104. Ishikawa T, Itoh F, Yoshida S, Saijo S, Matsuzawa T, Gonoi T, et al. Identification of Distinct Ligands for the C-type Lectin Receptors Mincle and Dectin-2 in the Pathogenic Fungus Malassezia. Cell Host Microbe. 2013;13:477–88.

105. Mahla RS. Sweeten PAMPs: role of sugar complexed PAMPs in innate immunity and vaccine biology. Front. Immunol. [Internet]. 2013 [cited 2013 Dec 8];4. Available from: http://www.frontiersin.org/Molecular_Innate_Immunity/10.3389/fimmu.2013.00248/abstract

106. Gantner BN, Simmons RM, Canavera SJ, Akira S, Underhill DM. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. J. Exp. Med. 2003;197:1107–17.

107. Hardison SE, Brown GD. C-type lectin receptors orchestrate antifungal immunity. Nat. Immunol. 2012;13:817–22.

108. Plato A, Hardison SE, Brown GD. Pattern recognition receptors in antifungal immunity. Semin. Immunopathol. 2015;37:97–106.

109. Da Glória Sousa M, Reid DM, Schweighoffer E, Tybulewicz V, Ruland J, Langhorne J, et al. Restoration of Pattern Recognition Receptor Costimulation to Treat Chromoblastomycosis, a Chronic Fungal Infection of the Skin. Cell Host Microbe. 2011;9:436–43.

110. De Sousa M da GT, Belda W, Spina R, Lota PR, Valente NS, Brown GD, et al. Topical application of imiquimod as a treatment for chromoblastomycosis. Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am. 2014;58:1734–7.

111. Romani L. Immunity to fungal infections. Nat. Rev. Immunol. 2011;11:275–88.

112. Cheng S-C, van de Veerdonk FL, Lenardon M, Stoffels M, Plantinga T, Smeekens S, et al. The dectin-1/inflammasome pathway is responsible for the induction of protective T-helper 17 responses that discriminate between yeasts and hyphae of Candida albicans. J. Leukoc. Biol. 2011;90:357–66.

113. Lee H-M, Yuk J-M, Kim K-H, Jang J, Kang G, Park JB, et al. Mycobacterium abscessus activates the NLRP3 inflammasome via Dectin-1–Syk and p62/SQSTM1. Immunol. Cell Biol. 2011;90:601–10.

114. Wallach D, Kang T-B, Kovalenko A. Concepts of tissue injury and cell death in inflammation: a historical perspective. Nat. Rev. Immunol. 2014;14:51–9.

115. Gringhuis SI, Kaptein TM, Wevers BA, Theelen B, van der Vlist M, Boekhout T, et al. Dectin-1 is an extracellular pathogen sensor for the induction and processing of IL-1β via a noncanonical caspase-8 inflammasome. Nat. Immunol. 2012;13:246–54.

116. Ganesan S, Rathinam VAK, Bossaller L, Army K, Kaiser WJ, Mocarski ES, et al. Caspase-8 Modulates Dectin-1 and Complement Receptor 3-Driven IL-1 Production in Response to -Glucans and the Fungal Pathogen, Candida albicans. J. Immunol. 2014;193:2519–30.

117. Man SM, Tourlomousis P, Hopkins L, Monie TP, Fitzgerald KA, Bryant CE. Salmonella Infection Induces Recruitment of Caspase-8 to the Inflammasome To Modulate IL-1β Production. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2013;191:5239–46.

118. Shenderov K, Riteau N, Yip R, Mayer-Barber KD, Oland S, Hieny S, et al. Cutting Edge: Endoplasmic Reticulum Stress Licenses Macrophages To Produce Mature IL-1β in Response to TLR4 Stimulation through a Caspase-8- and TRIF-Dependent Pathway. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2014;192:2029–33.

119. Antonopoulos C, El Sanadi C, Kaiser WJ, Mocarski ES, Dubyak GR. Proapoptotic Chemotherapeutic Drugs Induce Noncanonical Processing and Release of IL-1β via Caspase-8 in Dendritic Cells. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2013;191:4789–803.

120. Gurung P, Anand PK, Malireddi RKS, Vande Walle L, Van Opdenbosch N, Dillon CP, et al. FADD and Caspase-8 Mediate Priming and Activation of the Canonical and Noncanonical Nlrp3 Inflammasomes. J. Immunol. 2014;192:1835–46.

121. Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. Nat. Immunol. 2015;16:343–53.

122. Kaplan MH, Hufford MM, Olson MR. The development and in vivo function of T helper 9 cells. Nat. Rev. Immunol. 2015;15:295–307.

123. Tangye SG, Ma CS, Brink R, Deenick EK. The good, the bad and the ugly — TFH cells in human health and disease. Nat. Rev. Immunol. 2013;13:412–26.

124. Borghi M, Renga G, Puccetti M, Oikonomou V, Palmieri M, Galosi C, et al. Antifungal Th Immunity: Growing up in Family. Front. Immunol. 2014;5:506.

125. Calich VLG, da Costa TA, Felonato M, Arruda C, Bernardino S, Loures FV, et al. Innate immunity to Paracoccidioides brasiliensis infection. Mycopathologia. 2008;165:223–36.

126. Nelson MP, Christmann BS, Werner JL, Metz AE, Trevor JL, Lowell CA, et al. IL-33 and M2a alveolar macrophages promote lung defense against the atypical fungal pathogen Pneumocystis murina. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2011;186:2372–81.

127. Conti HR, Gaffen SL. IL-17-Mediated Immunity to the Opportunistic Fungal Pathogen Candida albicans. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2015;195:780–8.

128. O'Connor W, Zenewicz LA, Flavell RA. The dual nature of T(H)17 cells: shifting the focus to function. Nat. Immunol. 2010;11:471–6.

129. Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. Nat. Rev. Immunol. 2009;9:556–67.

130. Puel A, Cypowyj S, Bustamante J, Wright JF, Liu L, Lim HK, et al. Chronic mucocutaneous candidiasis in humans with inborn errors of interleukin-17 immunity. Science. 2011;332:65–8.

131. Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. Nat. Rev. Immunol. 2010;10:479–89.

132. Sabat R, Ouyang W, Wolk K. Therapeutic opportunities of the IL-22-IL-22R1 system. Nat. Rev. Drug Discov. 2014;13:21–38.

133. Zelante T, Iannitti R, De Luca A, Romani L. IL-22 in antifungal immunity. Eur. J. Immunol. 2011;41:270–5.

134. Pandiyan P, Conti HR, Zheng L, Peterson AC, Mathern DR, Hernández-Santos N, et al. CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells promote Th17 cells in vitro and enhance host resistance in mouse Candida albicans Th17 cell infection model. Immunity. 2011;34:422–34.

135. Felonato M, Pina A, de Araujo EF, Loures FV, Bazan SB, Feriotti C, et al. Anti-CD25 treatment depletes Treg cells and decreases disease severity in susceptible and resistant mice infected with Paracoccidioides brasiliensis. PloS One. 2012;7:e51071.

136. De Almeida JRF, Kaihami GH, Jannuzzi GP, de Almeida SR. Therapeutic vaccine using a monoclonal antibody against a 70-kDa glycoprotein in mice infected with highly virulent Sporothrix schenckii and Sporothrix brasiliensis. Med. Mycol. 2015;53:42–50.

137. Almeida SR. Therapeutic monoclonal antibody for sporotrichosis. Front. Microbiol. 2012;3:409.

138. Rivera A. Protective immune responses to fungal infections. Parasite Immunol. 2014;36:453–62.

139. Carvalho A, De Luca A, Bozza S, Cunha C, D'Angelo C, Moretti S, et al. TLR3 essentially promotes protective class I-restricted memory $CD8^+$ T-cell responses to Aspergillus fumigatus in hematopoietic transplanted patients. Blood. 2012;119:967–77.

140. Almeida SR. Immunology of dermatophytosis. Mycopathologia. 2008;166:277–83.

141. Dahl MV, Carpenter R. Polymorphonuclear leukocytes, complement, and Trichophyton rubrum. J. Invest. Dermatol. 1986;86:138–41.

142. Calderon RA, Hay RJ. Fungicidal activity of human neutrophils and monocytes on dermatophyte fungi, Trichophyton quinckeanum and Trichophyton rubrum. Immunology. 1987;61:289–95.

143. Campos MRM, Russo M, Gomes E, Almeida SR. Stimulation, inhibition and death of macrophages infected with Trichophyton rubrum. Microbes Infect. Inst. Pasteur. 2006;8:372–9.

144. De Sousa M da GT, Santana GB, Criado PR, Benard G. Chronic widespread dermatophytosis due to Trichophyton rubrum: a syndrome associated with a Trichophyton-specific functional defect of phagocytes. Front. Microbiol. 2015;6:801.

145. Huang X, Yi J, Yin S, Li M, Ye C, Lai W, et al. Trichophyton rubrum conidia modulate the expression and transport of Toll-like receptor 2 in HaCaT cell. Microb. Pathog. 2015;83-84:1–5.

146. Li Y, Chen J, Wan M-J, Lai W, Zheng Y, Li M-R, et al. [The immune response of human keratinocytes to Trichophyton rubrum conidia is partially mediated by toll-like receptor-2, 4, dectin-1 and cytokines]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2011;31:678–81.

147. Brasch J, Mörig A, Neumann B, Proksch E. Expression of antimicrobial peptides and toll-like receptors is increased in tinea and pityriasis versicolor. Mycoses. 2014;57:147–52.

148. Oliveira CB de, Vasconcellos C, Sakai-Valente NY, Sotto MN, Luiz FG, Belda Júnior W, et al. Toll-like receptors (TLR) 2 and 4 expression of keratinocytes from patients with localized and disseminated dermatophytosis. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 2015;57:57–61.

149. Sato K, Yang X -l., Yudate T, Chung J-S, Wu J, Luby-Phelps K, et al. Dectin-2 Is a Pattern Recognition Receptor for Fungi That Couples with the Fc Receptor Chain to Induce Innate Immune Responses. J. Biol. Chem. 2006;281:38854–66.

150. Huang X-Q, Yi J-L, Yin S-C, Chen R-Z, Li M-R, Gong Z-J, et al. Exposure to heat-inactivated Trichophyton rubrum resulting in a limited immune response of human keratinocytes. Chin. Med. J. (Engl.). 2013;126:215–9.

151. Huang X-Z, Liang P-P, Ma H, Yi J-L, Yin S-C, Chen Z-R, et al. Effect of Culture Supernatant Derived from Trichophyton Rubrum Grown in the Nail Medium on the Innate Immunity-related Molecules of HaCaT. Chin. Med. J. (Engl.). 2015;128:3094–100.

152. Nakamura T, Nishibu A, Yoshida N, Yasoshima M, Anzawa K, Watanabe Y, et al. Glycyrrhetinic acid inhibits contact hypersensitivity induced by trichophytin via dectin-1. Exp. Dermatol. 2016;

153. Serrano-Gómez D, Leal JA, Corbí AL. DC-SIGN mediates the binding of Aspergillus fumigatus and keratinophylic fungi by human dendritic cells. Immunobiology. 2005;210:175–83.

154. Santiago K, Bomfim GF, Criado PR, Almeida SR. Monocyte-Derived Dendritic Cells from Patients with Dermatophytosis Restrict the Growth of Trichophyton rubrum and Induce CD4-T Cell Activation. Neyrolles O, editor. PLoS ONE. 2014;9:e110879.

155. Chung J-S, Sato K, Dougherty II, Cruz PD, Ariizumi K. DC-HIL is a negative regulator of T lymphocyte activation. Blood. 2007;109:4320–7.

156. Chung J-S, Yudate T, Tomihari M, Akiyoshi H, Cruz PD, Ariizumi K. Binding of DC-HIL to dermatophytic fungi induces tyrosine phosphorylation and potentiates antigen presenting cell function. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2009;183:5190–8.

157. Grumach AS, de Queiroz-Telles F, Migaud M, Lanternier F, Filho NR, Palma SMU, et al. A homozygous CARD9 mutation in a Brazilian patient with deep dermatophytosis. J. Clin. Immunol. 2015;35:486–90.

158. Lanternier F, Pathan S, Vincent QB, Liu L, Cypowyj S, Prando C, et al. Deep Dermatophytosis and Inherited CARD9 Deficiency. N. Engl. J. Med. 2013;369:1704–14.

159. Brouta F, Descamps F, Vermout S, Monod M, Losson B, Mignon B. Humoral and cellular immune response to a

Microsporum canis recombinant keratinolytic metalloprotease (r-MEP3) in experimentally infected guinea pigs. Med. Mycol. 2003;41:495–501.

160. Blake JS, Dahl MV, Herron MJ, Nelson RD. An immunoinhibitory cell wall glycoprotein (mannan) from Trichophyton rubrum. J. Invest. Dermatol. 1991;96:657–61.

161. Ramos-e-Silva M, Lima CMO, Schechtman RC, Trope BM, Carneiro S. Superficial mycoses in immunodepressed patients (AIDS). Clin. Dermatol. 2010;28:217–25.

162. Venkatesan P, Perfect JR, Myers SA. Evaluation and management of fungal infections in immunocompromised patients. Dermatol. Ther. 2005;18:44–57.

163. Marim FM, Silveira TN, Lima DS, Zamboni DS. A Method for Generation of Bone Marrow-Derived Macrophages from Cryopreserved Mouse Bone Marrow Cells. Bozza PT, editor. PLoS ONE. 2010;5:e15263.

164. Nascimento RC, Espíndola NM, Castro RA, Teixeira PAC, Loureiro y Penha CV, Lopes-Bezerra LM, et al. Passive immunization with monoclonal antibody against a 70-kDa putative adhesin of Sporothrix schenckii induces protection in murine sporotrichosis. Eur. J. Immunol. 2008;38:3080–9.

165. De Lima Franco D, Nascimento RC, Ferreira KS, Almeida SR. Antibodies against Sporothrix schenckii enhance TNF-α

production and killing by macrophages. Scand. J. Immunol. 2011;

166. Wessel D, Flügge UI. A method for the quantitative recovery of protein in dilute solution in the presence of detergents and lipids. Anal. Biochem. 1984;138:141–3.

167. Lutz MB, Kukutsch N, Ogilvie ALJ, Rößner S, Koch F, Romani N, et al. An advanced culture method for generating large quantities of highly pure dendritic cells from mouse bone marrow. J. Immunol. Methods. 1999;223:77–92.

168. Pietrella D, Pandey N, Gabrielli E, Pericolini E, Perito S, Kasper L, et al. Secreted aspartic proteases of *Candida albicans* activate the NLRP3 inflammasome: Immunity to infection. Eur. J. Immunol. 2013;43:679–92.

169. Gross O, Thomas CJ, Guarda G, Tschopp J. The inflammasome: an integrated view. Immunol. Rev. 2011;243:136–51.

170. Ippagunta SK, Malireddi RKS, Shaw PJ, Neale GA, Walle LV, Green DR, et al. The inflammasome adaptor ASC regulates the function of adaptive immune cells by controlling Dock2-mediated Rac activation and actin polymerization. Nat. Immunol. 2011;12:1010–6.

171. Wynn TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. Nat. Rev. Immunol. 2015;15:271–82.

172. Brown GD. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. Nat. Rev. Immunol. 2005;6:33–43.

173. Santiago K, Bomfim GF, Criado PR, Almeida SR. Monocyte-Derived Dendritic Cells from Patients with Dermatophytosis Restrict the Growth of Trichophyton rubrum and Induce CD4-T Cell Activation. Neyrolles O, editor. PLoS ONE. 2014;9:e110879.

174. Gazendam RP, Hamme JL van, Tool ATJ, Houdt M van, Verkuijlen PJJH, Herbst M, et al. Two independent killing mechanisms of Candida albicans by human neutrophils: evidence from innate immunity defects. Blood. 2014;124:590–7.

175. Kolaczkowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. Nat. Rev. Immunol. 2013;13:159–75.

176. Wüthrich M, Deepe GS, Klein B. Adaptive Immunity to Fungi. Annu. Rev. Immunol. 2012;30:115–48.

177. Eberl G, Colonna M, Di Santo JP, McKenzie ANJ. Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. Science. 2015;348:aaa6566.

178. Taylor PR, Roy S, Leal SM Jr, Sun Y, Howell SJ, Cobb BA, et al. Activation of neutrophils by autocrine IL-17A-IL-17RC interactions during fungal infection is regulated by IL-6, IL-23, RORγt and dectin-2. Nat. Immunol. 2014;15:143–51.

179. Colonna M, Samaridis J, Angman L. Molecular characterization of two novel C-type lectin-like receptors, one of which is selectively expressed in human dendritic cells. Eur. J. Immunol. 2000;30:697–704.

180. Sattler S, Reiche D, Sturtzel C, Karas I, Richter S, Kalb ML, et al. The Human C-Type Lectin-Like Receptor CLEC-1 is Upregulated by TGF-β and Primarily Localized in the Endoplasmic Membrane Compartment: CLEC-1 Receptor. Scand. J. Immunol. 2012;75:282–92.

181. Yoshikawa FSY, Ferreira LG, de Almeida SR. IL-1 signaling inhibits Trichophyton rubrum conidia development and modulates the IL-17 response in vivo. Virulence. 2015;6:449–57.

182. Netea MG, Nold-Petry CA, Nold MF, Joosten LAB, Opitz B, Meer JHM van der, et al. Differential requirement for the activation of the inflammasome for processing and release of IL-1β in monocytes and macrophages. Blood. 2009;113:2324–35.

183. Ippagunta SK, Malireddi RKS, Shaw PJ, Neale GA, Vande Walle L, Fukui Y, et al. Addendum: defective Dock2 expression in a subset of ASC-deficient mouse lines. Nat. Immunol. 2012;13:701–2.

184. Man SM, Hopkins LJ, Nugent E, Cox S, Gluck IM, Tourlomousis P, et al. Inflammasome activation causes dual recruitment of NLRC4 and NLRP3 to the same macromolecular complex. Proc. Natl. Acad. Sci. 2014;111:7403–8.

185. Akhter A, Caution K, Abu Khweek A, Tazi M, Abdulrahman BA, Abdelaziz DHA, et al. Caspase-11 Promotes the Fusion of Phagosomes Harboring Pathogenic Bacteria with Lysosomes by Modulating Actin Polymerization. Immunity. 2012;37:35–47.

186. Chen M, Xing Y, Lu A, Fang W, Sun B, Chen C, et al. Internalized Cryptococcus neoformans Activates the Canonical Caspase-1 and the Noncanonical Caspase-8 Inflammasomes. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2015;

187. Kryczek I, Wei S, Vatan L, Escara-Wilke J, Szeliga W, Keller ET, et al. Cutting Edge: Opposite Effects of IL-1 and IL-2 on the Regulation of IL-17+ T Cell Pool IL-1 Subverts IL-2-Mediated Suppression. J. Immunol. 2007;179:1423–6.

188. Walker JA, Barlow JL, McKenzie ANJ. Innate lymphoid cells — how did we miss them? Nat. Rev. Immunol. 2013;13:75–87.

189. Kim HY, Lee HJ, Chang Y-J, Pichavant M, Shore SA, Fitzgerald KA, et al. Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the NLRP3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. Nat. Med. [Internet]. 2013 [cited 2014 Jan 8]; Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nm.3423

190. Gladiator A, Wangler N, Trautwein-Weidner K, LeibundGut-Landmann S. Cutting Edge: IL-17-Secreting Innate Lymphoid Cells Are Essential for Host Defense against Fungal Infection. J. Immunol. 2012;190:521–5.

191. Yan B, Han P, Pan L, Lu W, Xiong J, Zhang M, et al. Il-1 and Reactive Oxygen Species Differentially Regulate Neutrophil Directional Migration and Basal Random Motility in a Zebrafish Injury-Induced Inflammation Model. J. Immunol. 2014;192:5998–6008.

192. Costa JEF, Neves RP, Delgado MM, Lima-Neto RG, Morais VMS, Coêlho MRCD. Dermatophytosis in patients with human immunodeficiency virus infection: Clinical aspects and etiologic agents. Acta Trop. 2015;150:111–5.

193. Tomlinson GS, Bell LCK, Walker NF, Tsang J, Brown JS, Breen R, et al. HIV-1 infection of macrophages dysregulates innate immune responses to Mycobacterium tuberculosis by inhibition of interleukin-10. J. Infect. Dis. 2014;209:1055–65.

194. Brummer E, Choi JH, Stevens DA. Interaction between conidia, lung macrophages, immunosuppressants, proinflammatory cytokines and transcriptional regulation. Med. Mycol. 2005;43 Suppl 1:S177–9.

195. Bressani VO, Santi TN, Domingues-Ferreira M, Almeida A, Duarte AJS, Moraes-Vasconcelos D. Characterization of the cellular immunity in patients presenting extensive dermatophytoses due to *Trichophyton rubrum*: Cellular immunity in extensive dermatophytosis. Mycoses. 2013;56:281–8.

196. Waldman A, Segal R, Berdicevsky I, Gilhar A. CD4+ and CD8+ T cells mediated direct cytotoxic effect against

Trichophyton rubrum and Trichophyton mentagrophytes. Int. J. Dermatol. 2010;49:149–57.

197. Baltazar L de M, Santos PC, Paula TP de, Rachid MA, Cisalpino PS, Souza DG, et al. IFN-γ impairs Trichophyton rubrum proliferation in a murine model of dermatophytosis through the production of IL-1β and reactive oxygen species. Med. Mycol. 2014;52:293–302.

198. Sawada Y, Nakamura M, Kabashima-Kubo R, Shimauchi T, Kobayashi M, Tokura Y. Defective Epidermal Innate Immunity and Resultant Superficial Dermatophytosis in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma. Clin. Cancer Res. 2012;18:3772–9.

199. Cypowyj S, Picard C, Maródi L, Casanova J-L, Puel A. Immunity to infection in IL-17-deficient mice and humans. Eur. J. Immunol. 2012;42:2246–54.

200. Conti HR, Whibley N, Coleman BM, Garg AV, Jaycox JR, Gaffen SL. Signaling through IL-17C/IL-17RE is dispensable for immunity to systemic, oral and cutaneous candidiasis. PloS One. 2015;10:e0122807.

201. Whibley N, Jaycox JR, Reid D, Garg AV, Taylor JA, Clancy CJ, et al. Delinking CARD9 and IL-17: CARD9 Protects against Candida tropicalis Infection through a TNF-α-Dependent, IL-17-Independent Mechanism. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2015;195:3781–92.

202. Gow NAR, van de Veerdonk FL, Brown AJP, Netea MG. Candida albicans morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. Nat. Rev. Microbiol. [Internet]. 2011 [cited 2013 Nov 16]; Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrmicro2711

203. García-Romero MT, Arenas R. New Insights into Genes, Immunity, and the Occurrence of Dermatophytosis. J. Invest. Dermatol. 2015;135:655–7.

204. Knutsen AP. Immunopathology and Immunogenetics of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. J. Allergy [Internet]. 2011 [cited 2014 Apr 4];2011. Available from: http://www.hindawi.com/journals/ja/2011/785983/abs/

205. Perlroth J, Choi B, Spellberg B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. Med. Mycol. 2007;45:321–46.

206. Devillers A, Courjol F, Fradin C, Coste A, Poulain D, Pipy B, et al. Deficient Beta-Mannosylation of Candida albicans Phospholipomannan Affects the Proinflammatory Response in Macrophages. Bayry J, editor. PLoS ONE. 2013;8:e84771.

207. Fradin C, Bernardes ES, Jouault T. Candida albicans phospholipomannan: a sweet spot for controlling host response/inflammation. Semin. Immunopathol. 2015;37:123–30.

208. Heung LJ, Luberto C, Del Poeta M. Role of Sphingolipids in Microbial Pathogenesis. Infect. Immun. 2006;74:28–39.

209. Wu M-F, Chen S-T, Yang A-H, Lin W-W, Lin Y-L, Chen N-J, et al. CLEC5A is critical for dengue virus-induced inflammasome activation in human macrophages. Blood. 2013;121:95–106.

210. Joo H, Li D, Dullaers M, Kim T-W, Duluc D, Upchurch K, et al. C-Type Lectin-like Receptor LOX-1 Promotes Dendritic Cell-Mediated Class-Switched B Cell Responses. Immunity. 2014;41:592–604.

211. Astarita JL, Cremasco V, Fu J, Darnell MC, Peck JR, Nieves-Bonilla JM, et al. The CLEC-2–podoplanin axis controls the contractility of fibroblastic reticular cells and lymph node microarchitecture. Nat. Immunol. 2014;16:75–84.

212. Thebault P, Lhermite N, Tilly G, Le Texier L, Quillard T, Heslan M, et al. The C-Type Lectin-Like Receptor CLEC-1, Expressed by Myeloid Cells and Endothelial Cells, Is Up-Regulated by Immunoregulatory Mediators and Moderates T Cell Activation. J. Immunol. 2009;183:3099–108.

213. Nyirenda MH, Morandi E, Vinkemeier U, Constantin-Teodosiu D, Drinkwater S, Mee M, et al. TLR2 stimulation regulates the balance between regulatory T cell and Th17 function: a novel mechanism of reduced regulatory T cell function in multiple sclerosis. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2015;194:5761–74.

214. Ulirsch J, Fan C, Knafl G, Wu MJ, Coleman B, Perou CM, et al. Vimentin DNA methylation predicts survival in breast cancer. Breast Cancer Res. Treat. 2013;137:383–96.

215. Moinova H, Leidner RS, Ravi L, Lutterbaugh J, Barnholtz-Sloan JS, Chen Y, et al. Aberrant vimentin methylation is characteristic of upper gastrointestinal pathologies. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 2012;21:594–600.

216. Mor-Vaknin N, Punturieri A, Sitwala K, Markovitz DM. Vimentin is secreted by activated macrophages. Nat. Cell Biol. 2003;5:59–63.

217. Morley SC. The actin-bundling protein L-plastin: a critical regulator of immune cell function. Int. J. Cell Biol. 2012;2012:935173.

218. Wang C, Morley SC, Donermeyer D, Peng I, Lee WP, Devoss J, et al. Actin-bundling protein L-plastin regulates T cell activation. J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2010;185:7487–97.

219. Chen H, Mocsai A, Zhang H, Ding R-X, Morisaki JH, White M, et al. Role for plastin in host defense distinguishes integrin signaling from cell adhesion and spreading. Immunity. 2003;19:95–104.

220. Martínez-Solano L, Nombela C, Molero G, Gil C. Differential protein expression of murine macrophages upon

interaction with Candida albicans. Proteomics. 2006;6 Suppl 1:S133–44.

221. Reales-Calderón JA, Martínez-Solano L, Martínez-Gomariz M, Nombela C, Molero G, Gil C. Sub-proteomic study on macrophage response to Candida albicans unravels new proteins involved in the host defense against the fungus. J. Proteomics. 2012;75:4734–46.

222. Reales-Calderón JA, Sylvester M, Strijbis K, Jensen ON, Nombela C, Molero G, et al. Candida albicans induces pro-inflammatory and anti-apoptotic signals in macrophages as revealed by quantitative proteomics and phosphoproteomics. J. Proteomics. 2013;91:106–35.

## LISTA DE ANEXOS

**Anexo 1:** Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

**Anexo 2:** Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais

**Anexo 3:** Currículo Lattes

**Anexo 4:** Ficha do Aluno

**Anexo 5:** Yoshikawa FSY, Ferreira LG, de Almeida SR. IL-1 signaling inhibits *Trichophyton rubrum* conidia development and modulates the IL-17 response in vivo. Virulence. 2015;6:449-57.