

Franciele Fernandes Correia

Resposta imune *in situ* na dermatofitose humana:
análise da expressão de CD1a, CD68, fator XIIIa,
IL-10 e TNF- α .

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Dermatologia

Orientadora: Dra. Maria da Glória Sousa
Stafocker.

São Paulo

2022

Franciele Fernandes Correia

Resposta imune *in situ* na dermatofitose humana:
análise da expressão de CD1a, CD68, fator XIIIa,
IL-10 e TNF- α .

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Dermatologia

Orientadora: Dra. Maria da Glória Sousa
Stafocker.

Versão Corrigida Conforme Resolução
CoPGr6018/1.

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Correia, Franciele Fernandes

Resposta imune *in situ* na dermatofitose humana: análise da expressão de CD1a, CD68, fator XIIIa, IL-10 e TNF- α / Franciele Fernandes Correia. -- São Paulo, 2022.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Dermatologia.

Orientadora: Maria da Glória Sousa Stafocker.

Descritores: 1.Tinha 2.Imunidade 3.Células de Langerhans
4.Macrófagos 5. Dendrócitos dérmicos 6.Fator XIIIa

USP/FM/DBD-182/22

Responsável: Erialva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

A Deus, que é minha força e fortaleza, e à minha família, em especial, meus pais e minha irmã, que me ajudaram a chegar onde estou e que sempre foram o motivo de tudo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, eu gostaria de agradecer a Deus, que sempre foi minha força e fortaleza. Sem Ele, nada disso seria possível. “Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos” (Provérbios 3-16).

Aos meus pais, Ilson e Creusa, que são a razão de toda minha luta. Sempre me ajudaram nos momentos mais difíceis, me apoiando e encorajando. Eu amo muito vocês, Papai e Mamãe. Vocês são minha vida.

Minha gratidão também vai para minha querida irmã Caroline, menina de ouro que me apoia em tudo. A realização deste sonho teve muito oração dessa menina de luz. Obrigada por tudo, minha irmã. Eu te amo muito.

À minha amada Belinha e Luninha, que sempre estive ao meu lado, sempre me proporcionando amor e alegria: amo vocês, minhas princesinhas.

E, também, à toda minha família, em especial, meus avós maternos, João e Maria, e meus avós paternos, Militão e Carmela, que são minhas estrelas, que me guiam e me protegem do céu. Eu sei que, daí de cima, vocês devem estar muito orgulhosos: amarei vocês para sempre.

À minha amada e querida orientadora, Dra. Maria da Glória Sousa Stafocker. Eu sou eternamente grata a Deus por ter cruzado nossos caminhos. Obrigada pela oportunidade que você me deu, de realizar este grande sonho, por toda confiança, pelos ensinamentos, pela paciência e pelos conselhos. Você é sensacional, Glorinha! Meu muito obrigado por tudo: amo você.

Ao meu amigo Antônio Marques, do Laboratório de Histologia da Dermatologia do HCFMUSP, que me ajudou e auxiliou no preparo das lâminas usadas no estudo. Além da colaboração, eu ganhei um grande amigo. Meu muito obrigado por tudo, meu amigo.

Ao Dr. Gil Benard, por todo apoio e dedicação, por sempre estar à disposição para ajudar. À querida Dra. Gilda Del Negro, por todo carinho, conhecimento, dedicação e companheirismo.

Aos membros do nosso grupo, Giovana Celestino, Daniel Valério, Ana Paula e Thais: meu muito obrigada por tudo, meus amigos. O apoio e o companheirismo de vocês foram fundamentais durante minha caminhada. Em especial, eu gostaria de homenagear meu amigo Daniel Valério. Dan, talvez

você não tenha dimensão do quanto me ajudou e do quanto foi importante em todos os meus estudos e pesquisa; você literalmente usou o dom de ser professor para me tornar uma profissional melhor e cheia de conhecimentos. Meu amigo, você é sensacional. A você: minha eterna gratidão. Amo você.

À toda equipe do Laboratório de Micologia Médica (LMM), LIM 53, funcionários e alunos, em especial: Lumena, Vanessa, Vivian, Mirian, Sonia, Marcia, Caroline, Priscila, Danilo, Gabriel e Flaviano. E a todos os demais.

À Dra. Monica Vidal e à Viviane Gimenes, que sempre foram pessoas maravilhosas comigo. Muito obrigada pelo companheirismo, pelos conhecimentos, pelos conselhos e pela linda amizade construída.

Gostaria de agradecer ao Leandro Buffoni, um grande amigo que conheci já no final do mestrado, mas que, sem dúvida, se tornou um grande exemplo pra mim. Le, você é incrível e tenho muito orgulho de você.

À minha amiga Milena, que foi o anjo que me apresentou à Glorinha e fez com que tudo fosse possível. Mi: minha eterna gratidão a você, minha linda.

Agradeço também aos meus amigos de trabalho. Vocês são incríveis e sempre tornaram minha caminhada mais leve. Muito obrigada pelo apoio e pelo colo nos dias difíceis: sem dúvida, eu tenho a melhor equipe! Em especial, agradeço ao meu amigo Alesson David, uma das pessoas mais importantes da minha vida, que chora e ri comigo. Muito obrigada, meu amigo, por todo companheirismo e apoio: amo muito você. E, também, à minha amiga Jéssica Gomes, que esteve comigo desde a graduação e está comigo até o presente momento. Minha amiga, minha “sis”: um anjo enviado por Deus. Obrigado por tudo, amiga: eu te amo. Ao meu amigo Vinicius Machado, que sempre me deu ótimos conselhos e apoio. Obrigada por me encorajar a todo o momento. Vi: te amo, meu amigo. À minha amiga Vanessa Nascimento. Amiga, você tem sido muito importante durante esta fase de muito estudo e trabalho que tenho vivido; sua amizade, seus conselhos e seu ombro amigo têm sido essenciais para mim: te amo muito amiga.

Eu não poderia deixar de agradecer à minha querida e amada chefe, Aline Inoue. Ela foi um anjo que Deus colocou no meu caminho. Sempre me apoiou, sempre me encorajou. Tê-la ao meu lado tornou minha vida corrida muito mais leve. Li, você é um anjo eu não tenho palavras para expressar

minha gratidão por você. Você é sensacional; é luz na minha vida e eu te amo muito. E, também, à minha amada líder, Nayara Caldana, uma pessoa maravilhosa, que me apoia e está sempre torcendo por mim. Obrigada, minha linda, por ser tão única, tão iluminada. Sem dúvida, ter você como líder tornou muita coisa mais leve: amo você, Na.

Meu muito obrigado à minha banca do exame de qualificação, Dra. Gilda Del Negro, Dr. Julian Esteban e Dra. Viviane Gimenes. Foram de extrema importância as sugestões mencionadas por vocês para a finalização da minha dissertação. Gratidão meus queridos.

Agradeço, finalmente, a todos que de alguma forma contribuíram para que este sonho fosse realizado.

SUMÁRIO

Lista de figuras

Lista de abreviações

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 RESPOSTA IMUNE NAS INFECÇÕES FÚNGICAS.....	8
1.2 RESPOSTA IMUNE NA DERMATOFITOSE.....	13
2 JUSTIFICATIVA	17
3 OBJETIVO	18
4 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 Pacientes	19
4.2 Coleta e preparo do corte histológico.....	19
4.3 Análise imuno-histoquímica	21
4.4 Análises quantitativa de células imunocoradas	22
4.5 Análises estatísticas	22
5 RESULTADOS	23
5.1 Densidade celular do marcador imunológico CD1a+	23
5.2 Densidade celular do marcador imunológico Fator XIIIa	25
5.3 Densidade celular do marcador imunológico CD68.....	27
5.4 Expressão da interleucina (IL-10)	28
6 DISCUSSÃO	32
7 CONCLUSÃO	39
8 REFERÊNCIAS	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Tinea capitis</i> seborreica. (BAUMGARDNER, 2017).	3
Figura 2: <i>Tinea corporis</i> . (BAUMGARDNER, 2017).	4
Figura 3: <i>Tinea cruris</i> . (BAUMGARDNER, 2017).	4
Figura 4: <i>Tinea pedis</i> tipo interdigital. (BAUMGARDNER, 2017).....	5
Figura 5: <i>Tinea Manuum</i> . (BAUMGARDNER, 2017).	5
Figura 6: Onicomicose. (PIRES et al., 2014).	6
Figura 7: Esquema demonstrativo do local de coleta de biópsia de lesão ativa e pele sã de paciente com dermatofitose	20
Figura 8: Paciente com lesões dermatófitas, nas regiões das nádegas, coxa e abdômen.....	23
Figura 9: Densidade celular do marcador imunológico CD1a+ nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para populações de células CD1a+. Os dados são expressos como mediana ± intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p <0,05.	24
Figura 10: Padrão imuno-histoquímico de CD1a+. Corte histológico com densidade celular de CD1a+ em pele controle saudável (A) e áreas de lesão (B), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, foi notado uma baixa densidade celular (marcações) nas lesões dos pacientes comparadas ao controle saudável.....	25
Figura 11: Densidade celular do marcador imunológico Fator XIIIa nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para populações de células fator XIIIa. Os dados são expressos como mediana ± intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p <0,05.	26

Figura 12: Padrão imuno-histoquímico do Fator XIIIa. Corte histológico com densidade celular de Fator XIIIa em pele controle saudável (C) e áreas de lesão (D), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, não foram notadas diferenças significativas nas marcações da lesão do paciente quando comparadas ao controle saudável..... 27

Figura 13: Densidade celular do marcador imunológico CD68 nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para populações de células CD68. Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p <0,05. 27

Figura 14: Padrão imuno-histoquímico de CD68. Corte histológico com densidade celular de CD68 em pele controle saudável (E) e áreas de lesão (F), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, não foram notadas diferenças significativas nas marcações da lesão do paciente quando comparadas ao controle saudável..... 28

Figura 15: Expressão da interleucina-10 (IL-10) nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para interleucina 10. Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p <0,05..... 29

Figura 16: Figura 19: Padrão imuno-histoquímico de IL-10. Corte histológico com a expressão da interleucina-10 em pele controle saudável (G) e áreas de lesão (H), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, foi notado aumento significativo da expressão de IL-10 quando comparado ao controle saudável. 30

Figura 17: Expressão da citocina TNF- α nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram

imunocoradas para TNF- α . Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p <0,05. 30

Figura 18: Padrão imuno-histoquímico de TNF- α . Corte histológico com a expressão da citocina TNF- α em pele controle saudável (I) e áreas de lesão (J), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, foi notado aumento significativo da expressão de TNF- α quando comparado ao controle saudável. 31

LISTA DE ABREVIATURA

- AIDS** – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- APC** – Células apresentadoras de antígenos
- β -glucanos** – Beta-glucanos
- CARD9** – Caspase Recruitment Domain Family Member 9
- CD4** – Grupamento de diferenciação 4 ou cluster of differentiation
- CD8** – Grupamento de diferenciação 8 ou cluster of differentiation
- CLR** – Receptores de lectina do tipo C
- CMI** – Imunidade mediada por células
- DC** – Células Dendríticas
- DD** – Dendrócitos Dérmicos
- DNA** - Ácido desoxirribonucleico
- GM-CSF** – Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
- H₂O** – Água
- IFN- γ** – Interferon – gama
- IgE** – Imunoglobulina E
- IL-1** – Interleucina 1
- IL-1 β** – Interleucina 1 Beta
- IL-4** – Interleucina 4
- IL-5** – Interleucina 5
- IL-6** – Interleucina 6
- IL-8** – Interleucina 8
- IL-10** – Interleucina 10
- IL-12** – Interleucina 12
- IL-13** – Interleucina 13
- IL-15** – Interleucina 15
- IL-17** – Interleucina 17
- IL-17A** – Interleucina 17 A
- IL-17F** – Interleucina 17F
- IL-22** – Interleucina 22
- IL-23** – Interleucina 23
- IHQ** – Imuno-histoquímica

LC – Células de *Langerhans*

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

MHC I – Complexo Principal de Histocompatibilidade classe I

MHC II – Complexo Principal de Histocompatibilidade classe II

mRNA – RNA mensageiro

NET – Armadilhas extracelular de neutrófilos

NLR – Receptores do tipo oligomerização de ligação a nucleotídeos

NO – Óxido nítrico

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAMP – Padrões moleculares associados a patógenos

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PRR – Receptores de Reconhecimento de Padrões

Quimiocinas CXC – Quimiotáticos de neutrófilos

RIG-I – Genes indutores de ácido retinoico tipo I

T. benhamiae – *Trichophyton benhamiae*

Th – Células T auxiliares

Th1 – Linfócitos T helper classe 1

Th2 – Linfócitos T helper classe 2

Th17 – Linfócitos T helper classe 17

TLR – Toll-like receptor

TLR1 – Toll-like receptor 1

TLR2 – Toll-like receptor 2

TLR4 – Toll-like receptor 4

TLR10 – Toll-like receptor 10

TNF – Fator de necrose tumoral

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

T. rubrum – *Trichophyton rubrum*

RESUMO

Correia FF. Resposta imune *in situ* na dermatofitose humana: análise da expressão de CD1a, CD68, fator XIIIa, IL-10 e TNF- α . [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

A dermatofitose é uma micose cutânea causada por fungos queratinofílicos, que invadem e se propagam em tecidos queratinizados, como cabelo, pele e unhas. Os dermatófitos pertencem a três principais gêneros, *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*, porém o agente etiológico mais comum é o *Trichophyton rubrum*. Embora seja de alta prevalência mundial e um problema de saúde pública, pouco se sabe sobre os mecanismos de defesa do hospedeiro nesta infecção, principalmente sobre a resposta imune *in situ*. Usando a técnica de imuno-histoquímica, investigamos a densidade celular de CD1a+, fator XIIIa+, CD68+ e a expressão das citocinas IL-10 e TNF- α em lesões de pele de pacientes com dermatofitose. Observamos que as células de *Langerhans* (células CD1a+) diminuíram significativamente na epiderme dos pacientes, tanto nas áreas afetadas quanto naquelas não afetadas em relação ao controle, o que nos leva a sugerir que a diminuição dessa população celular possa ser um fator de risco para o desenvolvimento da dermatofitose. Na derme, entretanto, não foram observadas diferenças significativas na densidade de macrófagos (células CD68+) e dendrócitos dérmicos (células do fator XIIIa+). Além disso, notamos que a expressão de IL-10 e TNF- α foi significativamente aumentada na epiderme afetada quando comparada com a pele não afetada e o grupo controle. Como *T. rubrum* é conhecido por causar inflamação leve em humanos, podemos supor que essa leve infecção seria responsável pelo equilíbrio dos sinais pró e anti-inflamatórios dessas citocinas que controlariam e limitariam este fungo/infecção.

Descritores: Tinha, *Trichophyton rubrum*, Imunidade, Células de *Langerhans*, Macrófagos, Dendrócitos dérmicos.

ABSTRACT

Correia FF. *In situ* immune response in human dermatophytosis: analysis of CD1a, CD68, factor XIIIa, IL-10 and TNF- α expression.[dissertation]. São Paulo: Faculty of Medicine, University of São Paulo; 2022.

Dermatophytosis is a cutaneous mycosis caused by keratinophilic fungi, which invade and spread in keratinized tissues such as hair, skin, and nails. Dermatophytes belong to three main genera, *Epidermophyton*, *Microsporum*, and *Trichophyton*, but the most common etiologic agent is *Trichophyton rubrum*. Although it is of high prevalence worldwide and a public health problem, little is known about the host defense mechanisms in this infection, especially the *in situ* immune response. Using the immunohistochemistry technique, we investigated the cell density of CD1a+, factor XIIIa+, CD68+ and the expression of the cytokines IL-10 and TNF- α in skin lesions of patients with dermatophytosis. We observed that *Langerhans* cells (CD1a+ cells) were significantly decreased in the epidermis of patients, both in affected and non-affected areas compared to controls, which leads us to suggest that the decrease in this cell population may be a risk factor for the development of dermatophytosis. In the dermis, however, no significant differences were observed in the density of macrophages (CD68+ cells) and dermal dendrocytes (factor XIIIa+ cells). Furthermore, we noticed that the expression of IL-10 and TNF- α was significantly increased in the affected epidermis when compared to unaffected skin and control group. As *T. rubrum* is known to cause mild inflammation in human, we can hypothesize that this mild infection would be responsible for the balance of pro- and anti-inflammatory signals of these cytokines that would control and limit this fungus/infection.

Keywords: Tinea, *Trichophyton rubrum*, Immunity, *Langerhans* cells, Macrophages, Dermal dendrocytes.

1 INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas contribuem consideravelmente para a morbidade e a mortalidade em humanos. Os fungos são responsáveis por ampla variedade de doenças, desde infecções superficiais da mucosa a micoses sistêmicas potencialmente fatais (CAMILLI et al., 2021). O súbito aumento de casos de infecções fúngicas se dá devido ao aumento no número de indivíduos imunocomprometidos, incluindo pacientes com AIDS e câncer, além de pacientes receptores de transplante de órgão. As infecções fúngicas matam mais de 1,5 milhão e afetam mais de 1 bilhão de pessoas em todo mundo, estimando-se que 1 bilhão de pessoas tenham infecções causadas por fungos na pele, nas unhas e nos cabelos (BONGOMIN et al., 2017; “Stop neglecting fungi”, 2017).

A dermatofitose é uma infecção fúngica superficial causada por fungos queratinofílicos que invadem tecidos queratinizados, como pele, unhas e cabelos (SHIMAMURA; KUBOTA; SHIBUYA, 2012). Os dermatófitos dependem da degradação da queratina desses tecidos como fonte de nutrientes, por isso, invadem o tecido superficial da pele (HAINER, 2003a). As infecções causadas por esses patógenos são geralmente cutâneas e restritas à camada superficial da pele; porém, em condições crônicas, os fungos podem invadir tecidos mais profundos. (BHATIA; SHARMA, 2014).

O grupo dos dermatófitos é composto por aproximadamente 52 espécies, divididas em 9 gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Arthroderma*, *Lopophyton*, *Nannizia*, *Ctenomyces*, *Guarromyces* e *Paraphyton* (MERCER; STEWART, 2019). Os fungos envolvidos nas infecções por dermatófitos também podem ser agrupados, de acordo com sua fonte de infecção, como antropofílicos (infectam humanos e são adquiridos de outros humanos), zoofílicos (infectam animais e ocasionalmente podem infectar humanos) e os geofílicos (adquiridos do solo e raramente infectam humanos). Fungos antropofílicos e zoofílicos são etiologias comuns de dermatomicoses, enquanto os fungos geofílicos permanecem raros (WHITE et al., 2008)(HAINER, 2003b). Dentre as espécies antropofílicas, o

Trichophyton rubrum representa o fungo infeccioso mais comumente responsável por dermatofitose em seres humanos, sendo responsável por aproximadamente 80% dos casos relatados de onicomicose (SEEBACHER; BOUCHARA; MIGNON, 2008) NENOFF et al., 2014; (CAMPOS et al., 2006), enquanto o *Trichophyton mentagrophytes* se destaca como o segundo agente causador mais comum desses casos (NENOFF; HERRMANN; GRÄSER, 2007; RIVAS; MÜHLHAUSER, 2015).

As dermatofitoses afetam indivíduos em todo o mundo, mas sua incidência é maior em países tropicais, devido às elevadas temperaturas e à umidade, pois esses fungos estão adaptados a temperaturas entre 25 e 28° C (TAPLIN, 2001),(HAVLICKOVA; CZAICA; FRIEDRICH, 2008). Os fatores que induzem o desenvolvimento das dermatofitoses incluem idade, sexo, estação do ano, condições sociais, culturais e localização geográfica (IORIO et al., 2007). Estima-se que aproximadamente 10 a 15% da população mundial já foi contaminada por dermatófitos em algum momento de sua vida, o que torna a infecção de grande importância para a saúde pública (PIRES et al., 2014). Segundo os dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), as dermatofitoses atingem cerca de 25% da população mundial, sendo que 30 a 70% dos adultos são portadores assintomáticos dessa infecção. A prevalência mundial é maior nos homens do que nas mulheres (PETRUCCELLI et al., 2020).

A transmissão dos dermatófitos pode ocorrer por meio de contato direto com humanos ou animais infectados ou indiretamente, por contato com fômites contaminados (DEGREEF, 2008). O contágio também pode acontecer através do compartilhamento de pertences contaminados, como sapatos, roupas, toalhas e roupas de cama (MENDEZ-TOVAR, 2010),(LIKNESS, 2011). Evidências epidemiológicas sugerem associação entre fontes, como piscinas, banhos públicos, vestiários e academias de ginásticas, como propícias à contaminação. (BRANDI et al., 2007). Infecções por *tinea* também podem ser transmitidas de uma geração a outra nas famílias, devido ao baixo grau da infecção ou por conta de portadores assintomáticos (ALY et al., 2000).

Durante a infecção, os artroconídios dos dermatófitos aderem à superfície da pele queratinizada (estrato córneo). Uma vez ancorados, os artroconídios germinam e formam um complexo de hifas, havendo a invasão de

subcamadas e a liberação de múltiplas enzimas, incluindo queratinases, elastases e outras proteases que irão favorecer a germinação das hifas no estrato córneo (KAUFMAN et al., 2007),(HAY, 2017). O grau de inflamação pode variar de acordo com o local de infecção, a espécie fúngica e a resposta imune do hospedeiro (ALY et al., 2000).

As manifestações clínicas mais comuns são o aparecimento de lesões superficiais escamosas, com borda elevada, eritema marcado, descamação, presença de bolhas, prurido ou manchas. (PIRES et al., 2014),(BRASCH, 2009). Certos sinais clínicos predominam de acordo com o local afetado, como:

Tinea capitis: Atinge o couro cabeludo (Figura 1), se apresenta em forma de mechas de queda de cabelos com bordas às vezes irregulares, mas frequentemente bem demarcadas. As lesões podem atingir grande parte do couro cabeludo quando não tratadas (PANTHAGANI; TIDMAN, 2015).



Figura 1: *Tinea capitis* seborreica. (BAUMGARDNER, 2017).

Tinea corporis: Lesões que atingem qualquer parte do corpo (Figura 2). Geralmente, se apresentam como lesões eritematosas escamosas bem demarcadas, podendo ser únicas ou múltiplas, com borda elevada (GUPTA; CHAUDHRY; ELEWSKI, 2003).



Figura 2: *Tinea corporis*. (BAUMGARDNER, 2017).

Tinea cruris: A infecção atinge a região da virilha (Figura 3), particularmente a região das coxas mediais proximais, áreas perineal e perianal. Pode ser aguda ou crônica, com vários graus de coceira e dor. Geralmente, com borda elevada e presença de pústulas e vesículas. (HAINER, 2003a).



Figura 3: *Tinea cruris*. (BAUMGARDNER, 2017).

Tinea pedis: Também conhecida como pé de atleta (Figura 4), comumente causada por espécies de *Trichophyton*. A infecção atinge a superfície dos pés, sendo caracterizada por coceira, fissuras e descamação entre os dedos dos pés (CANA VAN; ELEWSKI, 2015).



Figura 4: *Tinea pedis* tipo interdigital. (BAUMGARDNER, 2017).

Tinea Manuum: Infecção dermatófito que afeta a palma da mão (Figura 5), além dos espaços interdigitais. Geralmente, se apresenta com descamação hiperqueratose, podendo ou não ser acompanhada com coceira leve (ERRICHETTI; STINCO, 2018).



Figura 5: *Tinea Manuum*. (BAUMGARDNER, 2017).

Tinea unguium: Também conhecida como onicomicose (Figura 6), é uma infecção comum das unhas, causada por dermatófitos antropofílicos, sendo o mais frequente *T. rubrum*. Normalmente, a infecção progride próxima

às cutículas, resultando em unhas espessas e escamosas, com diversos graus de descoloração (GUPTA; RYDER; SUMMERBELL, 2004).



Figura 6: Onicomicose. (PIRES et al., 2014).

A forma grave ou disseminada da doença é frequentemente observada em pacientes com AIDS, pacientes receptores de transplantes de órgãos e indivíduos com o comprometimento da resposta imune celular, o que favorece o crescimento desses fungos de forma mais profunda. (CAMPOS et al., 2006). Ainda que as infecções por *T. rubrum* sejam limitadas ao compartimento cutâneo, foi descrito recentemente que a deficiência recessiva na proteína *caspase recruitment domain-containing protein 9 (CARD9)* resulta em suscetibilidade a infecções fúngicas, o que pode ter relação com a dermatofitose profunda, uma condição na qual a infecção ultrapassa a barreira da pele e invade tecidos e órgãos (VAEZI et al., 2018),(GRUMACH et al., 2015),(LANTERNIER et al., 2013).

A proteína CARD9 é um regulador central da imunidade inata, altamente expressa em neutrófilos, macrófagos e células dendríticas (LIANG et al., 2015). Entretanto, no caso de mutações na *CARD9*, ocorre a produção reduzida de citocinas, como IL-17 e IL-22, a partir de células imunes inatas, levando à deficiência de TH17, uma resposta protetora contra infecções fúngicas, tornando, assim, o indivíduo suscetível a infecções disseminadas graves (CONTI; GAFFEN, 2015), (VAEZI et al., 2018), (ALVES DE MEDEIROS et al., 2016).

O diagnóstico das dermatofitoses é definido, principalmente, pela observação das manifestações clínicas e pela distribuição das lesões, mas, para uma confirmação diagnóstica é necessário à realização de testes complementares, como por exemplo, a realização do exame direto (PIRES et al., 2014). A visualização direta, sob microscopia, das hifas hialinas em material de pele, pelos e unhas é o teste mais utilizado para o diagnóstico de infecção por dermatófitos. A coleta deve ser feita por meio de uma lâmina de bisturi, na região mais lesionada. Depois, deve-se colocar o conteúdo coletado no centro de uma lâmina de microscopia e cobri-lo com uma lamínula. Deve-se aplicar, na borda da lamínula, uma solução de hidróxido de potássio de 5% a 20%, que dissolverá o material que une as células. Ao se observar a lâmina, havendo dermatófitos, será visualizada estruturas septadas, tubulares e hialinas – que são chamadas de hifas e micélios (KAUSHIK; PUJALTE; REESE, 2015). Embora haja um grande número de dermatófitos, em especial aqueles que ocorrem frequentemente, sua identificação pode ser com base na pigmentação e características coloniais e morfológicas. Portanto ainda assim pode haver problemas na especificação da espécie dermatofítica, fazendo-se necessário a realização do diagnóstico diferencial micológico, como por exemplo, teste de atividade de uréase e teste de perfuração capilar *in vitro*. (SHADOMY; PHILPOT, 1980).

O teste de atividade da urease é empregado para facilitar o reconhecimento do pequeno número de espécies urease-negativas, particularmente, *T. rubrum*. O teste da atividade da urease pode ser útil na diferenciação de *Trichophyton rubrum* (urease -) do *Trichophyton mentagrophytes* (urease +), portanto o teste pode sofrer algumas limitações na contribuição na identificação da espécie em estudo. Após 10 dias da realização do teste, todos os organismos podem ser positivos, além disto, bactérias resistentes pouco visíveis em isolados de *T. rubrum* podem causar reações falso-positivas. (WEITZMAN; SUMMERBELL, 1995), (ROBERT; PIHET, 2008). Já o teste de perfuração capilar *in vitro* se baseia no desenvolvimento de dermatófitos de órgãos perfurantes especializados que são capazes de penetrar e invadir o fio de cabelo, enquanto outras espécies acometem o cabelo por simples erosões periféricas. O princípio deste teste diagnóstico é a

diferenciação de dermatófitas como *T. mentagrophytes* e *T. rubrum*. Em resumo, os cabelos expostos a *T. mentagrophytes* exibem perfurações profundas, transversais o que resulta em um resultado positivo do teste, enquanto *T. rubrum* revela a carência desta capacidade de perfuração do cabelo. (GÜMRAL et al., 2013), (ROBERT; PIHET, 2008).

As técnicas moleculares, utilizando diferentes formas de triagem por reação em cadeia da polimerase (PCR), também têm contribuído para a identificação rápida e precisa das espécies dos dermatófitos (HAY, 2017).

O tratamento farmacológico na dermatofitose compreende o uso de antifúngicos tópicos e orais. Os antifúngicos bifonazol, clorimazol e miconazol são os mais comumente usados no tratamento de infecções fúngicas cutâneas superficiais. (PANACKAL; HALPERN; WATSON, 2009). Os antifúngicos sistêmicos (orais) são geralmente recomendados para *tinea capitis* assim como o antifúngico griseofulvina, respondendo com eficácia ao tratamento da mesma, portanto o uso tópico também deve ser adicionado para erradicar os conídios contagiosos. O antifúngico sistêmico terbinafina é indicado em casos de infecções palmoplantar crônica e para onicomicose. Já os antifúngicos tópicos são comumente recomendados para *tinea corporis*, *tinea pedis* e também para casos leves e moderados de onicomicose (SAHOO; MAHAJAN, 2016), (DUPONT, 2006).

1.1 RESPOSTA IMUNE NAS INFECÇÕES FÚNGICAS

O sistema imunológico inato é a primeira linha de defesa contra fungos e patógenos, representando uma resposta sistêmica crucial para prevenir infecções, manter a homeostase e impedir a invasão de micróbios. Além disso, contribui para a eliminação de grande variedade de patógenos e para a ativação da resposta imune adaptativa. (RIERA ROMO; PÉREZ- MARTÍNEZ; CASTILLO FERRER, 2016). A pele exerce importante papel na imunidade inata, sendo considerada a principal barreira contra agentes invasores. Ela é constituída por uma complexa rede celular, que exerce uma comunicação celular plasmática e dinâmica para manter vários processos vitais, como a

inflamação, a resposta imune e a prevenção de doenças. A pele contribui também na proteção mecânica, evitando a perda de água e a infiltração de patógenos, além de ter outras funções sensoriais e excretoras. (MATSUI; AMAGAI, 2015), (RIERA ROMO; PÉREZ- MARTÍNEZ; CASTILLO FERRER, 2016), (MATEJUK, 2018).

O sistema imune inato é constituído por células fagocíticas, como macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. Além disto, os queratinócitos epidérmicos também possuem papel primordial durante a resposta imunológica contra agentes invasores. (LIEBELT; FINOCCHIARO; HEIMBERGER, 2016).

Os macrófagos são células imunes fagocíticas, derivados da diferenciação de monócitos sanguíneos, além de estarem envolvidos na primeira linha de defesa contra fungos e patógenos. Possuem a capacidade de reconhecer, fagocitar e destruir corpos estranhos, antes mesmo de realizarem a apresentação de antígeno para a ativação da imunidade adaptativa (GILBERT; WHEELER; MAY, 2014). Os macrófagos também podem induzir inflamação ou reparar tecidos danificados, secretando diferentes proteínas de sinalização. Suas diferentes funções estão relacionadas ao tipo de interação do receptor e à presença de citocinas, sendo classificados em macrófagos M1 (clássicos) e macrófagos M2 (alternativos). Os macrófagos M1 são ativados por meio de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF α), já os macrófagos M2 estão envolvidos na imunossupressão e no reparo de tecidos com baixos níveis de secreção de citocinas pró-inflamatórias. (EPELMAN; LAVINE; RANDOLPH, 2014), (SICA; MANTOVANI, 2012), (ESSANDOH et al., 2016).

Os neutrófilos são importantes células do sistema imune inato, que desempenham relevante papel na defesa do hospedeiro contra fungos e patógenos (VAN REES et al., 2016). São células de vida curta, que exibem funções antimicrobianas potentes, como fagocitose, degranulação e produção de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NET) (SILVESTRE-ROIG et al., 2019). Os neutrófilos possuem a capacidade de degradar e processar antígenos, além de apresentar peptídeos antigênicos de forma eficiente aos linfócitos (CHAKRAVARTI; ALLAEYS; POUBELLE, 2007).

As células de *Langerhans* são células apresentadoras de antígenos e compreendem cerca de 3 a 8% das células epidérmicas; sua principal função é

o reconhecimento de corpos estranhos, com a transferência dessas informações para o sistema imune adaptativo. Os antígenos estranhos são processados e exibidos às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I ou II, permitindo, assim, a apresentação de antígenos a células T citotóxicas e células T auxiliares. (MUTYAMBIZI; BERGER; EDELSON, 2009).

Os queratinócitos são células predominantes na epiderme, que compreendem cerca de 90% das células presentes na pele (OLIVEIRA et al., 2015). Os queratinócitos estão constantemente expostos a estímulos externos e são as primeiras células a responderem contra patógenos invasores. Após uma lesão cutânea, os queratinócitos são ativados e secretam uma série de moléculas, ação que fornece uma resposta imune inata rápida e específica contra diferentes patógenos. Além disto, os queratinócitos desencadeiam a inflamação, bem como a proliferação celular, para manter a estrutura e a função da epiderme. Portanto, a desregulação da resposta imune dos queratinócitos pode levar à inflamação descontrolada. (ZHANG; YIN; ZHANG, 2019),(LAI et al., 2012).

A resposta imune inata antifúngica é mediada por intermédio de padrões moleculares associados a patógenos (PAMP), que, por sua vez, são altamente expressos em células fúngicas. O reconhecimento do patógeno ocorre por meio dos receptores de reconhecimento de padrões do hospedeiro (PRR). Os PRR são receptores imunológicos presentes na membrana de células imunes inatas, que garantem o reconhecimento e a morte de patógenos fúngicos (HATINGUAIS; WILLMENT; BROWN, 2020). Os quatros principais grupos de PRR humanos são os receptores do tipo *Toll* (TLR), os receptores do tipo oligomerização de ligação a nucleotídeos (NLR), os receptores de helicase do tipo 1 induzíveis pelo ácido retinoico (RIG-I) e os receptores de lectina do tipo C (CLR). A sinalização por meio de PRR é conhecida como essencial para ativação da resposta imune inata (WILLS-KARP et al., 2010),(TAKEUCHI; AKIRA, 2010). Os PRR do sistema imune inato também atuam na regulação da resposta imune adaptativa; em particular, nas respostas Th1 e Th17. Em células dendríticas, os PRR desempenham um essencial papel na produção de citocinas polarizantes Th1 e Th17, como IL-12, IL-23 e IL-6 (KARP, 2010).

Os receptores de *Toll-like* (TLR) são receptores essenciais no reconhecimento dos PAMP específicos para fungos. A família TLR é composta por 10 membros (TLR1 a TLR10). Certos membros da família TLR participam do reconhecimento inicial de PAMP fúngicos na superfície celular, assim como de células imunes inatas como, por exemplo, o TLR2 que reconhecem β -glucanos fúngicos de várias espécies de fungos. As cascatas de sinalização ativa nos fagócitos permitem a eliminação fúngica, a liberação de citocinas e o recrutamento de outras células imunes inatas. (BARONI et al., 2006), (BOURGEOIS; KUHLER, 2012).

Outros PRR muito importantes no reconhecimento e na ativação da imunidade inata contra fungos são os receptores de lectina do tipo C (CLR), que são proteínas de membrana que se ligam a carboidratos próprios ou não. Os CLR são proteínas transmembranares glicosiladas do tipo II, com domínios de reconhecimento único de carboidratos. Uma das principais características da parede celular dos fungos é a riqueza em carboidratos; sendo assim, os CLR desempenham papel central no reconhecimento e na modelagem na resposta imunológica antifúngica (SHIOKAWA; YAMASAKI; SAIJO, 2017), (VAUTIER; MACCALLUM; BROWN, 2012). Baseando-se em sua estrutura, os CLR foram divididos em 17 famílias, incluindo dectina-1 (CLEC7A – C-type lectin domain Family 7 member A), mincle (lectina do tipo C induzível por macrófagos) e, por fim, os receptores de manose (VAUTIER; SOUSA; BROWN, 2010).

O sistema imune inato, além de ser a primeira linha de defesa contra agentes patogênicos, também possui a função de iniciar e modular respostas imunes adaptativas, que serão expostas pela apresentação de antígenos aos linfócitos T, levando à formação de memória imunológica e proteção contra patógenos (NETEA et al., 2008). Os linfócitos T que mediam a imunidade celular, juntamente com os linfócitos B que mediam a imunidade humoral, fornecem a resposta imune adaptativa que possui extrema colaboração com o sistema imunológico inato. Os linfócitos B amadurecem na medula óssea; já os linfócitos T requerem que o timo amadureça, antes de ser introduzido nos órgãos linfoides periféricos, para que ocorra a diferenciação dos linfócitos T por meio de antígenos. (LUCKHEERAM et al., 2012). A população de células T é

dividida em duas linhagens principais: as moléculas de superfície CD4 e CD8 (TWU; TEH, 2014).

As células Th desempenham papéis críticos durante as respostas imunes adaptativas a infecções, estando envolvidas na imunidade protetora de diferentes patógenos. Existem várias células Th, tipificadas, com base em seus perfis de citocinas, como: as células T helper tipo 1 (Th1), que produzem citocinas pró-inflamatórias como interferon γ (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) – já as células T helper tipo 2 (Th2) produzem interleucinas (IL)-4, por exemplo –, e, por fim, as células efectoras CD4 Th17, que produzem IL-17 (ZHU; YAMANE; PAUL, 2010; ZHU, 2018).

As células Th1 e Th17 são os principais subtipos de células T que contribuem para a imunidade protetora contra vários fungos patogênicos. As células Th1 orquestram as respostas imunes antifúngicas, por meio da liberação de citocinas pró-inflamatórias IFN- γ , TNF- α e GM-CSF. A citocina IFN- γ induz a ativação dos macrófagos, que são um importante fagócito para deter o crescimento de patógenos fúngicos intracelulares, como *Histoplasma capsulatum* e outros fungos dimórficos – como *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis* e *Paracoccidioides brasiliensis* (VERMA et al., 2015). As células Th17 secretam inúmeras citocinas, incluindo IL-17A, IL-17F e IL-22, que são de extrema importância para a proteção imunológica contra infecções fúngicas, como, por exemplo, por *Candida albicans* (RICHARDSON; MOYES, 2015). As citocinas IL-17 desempenham papel primordial no recrutamento e na ativação de neutrófilos, estimulando a liberação de quimiocinas CXCL; enquanto IL-22 aumenta a função de barreira epitelial (RICHARDSON; MOYES, 2015), (VERMA et al., 2015). Na grande maioria das infecções fúngicas, a imunidade Th2 resulta em suscetibilidade a infecções causadas por fungos, sendo prejudicial ao hospedeiro. A imunidade Th2 é composta por citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 e IgE secretadas por células B. Tanto IL-4 quanto IL-13 levam à ativação alternativa de macrófagos – a qual está correlacionada ao crescimento desorientado de fungos (VERMA et al., 2015). Portanto, a ativação alternativa desses fagócitos pode levar à baixa quantidade de óxido nítrico – essencial para a atividade fungicida (BORGHI et al., 2014).

1.2 RESPOSTA IMUNE NA DERMATOFITOSE

Os dermatófitos são fungos patogênicos altamente especializados que infectam exclusivamente o estrato córneo, as unhas e os cabelos. Durante o processo infeccioso, na interação dermatófitos-hospedeiro, ocorrem adaptações metabólicas específicas que permitem a aderência e a penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, onde os dermatófitos devem superar os mecanismos de defesa inatos do hospedeiro, para que ocorra a colonização do tecido. (MONOD, 2008), (PERES et al., 2010). O reconhecimento dos dermatófitos ocorre por meio dos PRR, os quais, por sua vez, irão reconhecer os PAMP presentes na parede celular fúngica, assim como as mananas. A interação entre os PRR e os PAMP resulta na liberação de citocinas, que induzem uma resposta imunológica contra os dermatófitos (BLUTFIELD et al., 2015).

Os dermatófitos contêm moléculas de carboidratos da parede celular (β -glucana) que são reconhecidas por mecanismos imunes inatos, assim como dectina-1, dectina-2 e receptores *Toll-like* 2 e 4 (TLR-2 e TLR-4). A dectina-1 leva à produção de fator de necrose tumoral- α , IL-17, IL-6 e IL-10 que, por sua vez, estimulam a imunidade adaptativa (TAINWALA; SHARMA, 2011). Os queratinócitos são células abundantes na epiderme; quando entram em contato com antígenos dermatofílicos, como a tricofitina, liberam IL-8, um potente quimiotrativo neutrofílico, capaz de destruir os dermatófitos (SAHOO; MAHAJAN, 2016). Além disso, os queratinócitos também secretam agentes antimicrobianos, como as catelicidinas e as defensinas, que possuem alto potencial na atividade antifúngica. Diversos autores demonstraram que as defensinas e as catelicidinas LL-37 humanas agem como potentes fungicidas *in vitro*, contra *T. rubrum*, e que sua expressão pode se encontrar aumentada *in vivo* em lesões de *Tinea corporis* causadas por esse fungo. (LÓPEZ-GARCÍA; LEE; GALLO, 2006), (CRIADO et al., 2011). Durante o processo inflamatório, os PRR são capazes de ativar neutrófilos e macrófagos, induzindo assim eventos projetados para que ocorra a eliminação do patógeno, incluindo o processo de fagocitose, e a liberação de citocinas e quimiocinas. (ROMANI, 2004), (PLATO; HARDISON; BROWN, 2015). Os macrófagos, juntamente com

os neutrófilos, quando ativados, liberam uma produção maciça de citocinas, como IL-1, IL-12 e TNF, que ativam a resposta celular importante no controle das infecções fúngicas. (PARYUNI; INDARJULIANTO; WIDYARINI, 2020).

Em um estudo *in situ* realizado por Oliveira C. et al. (2015), envolvendo os receptores de *Toll-like 2* e 4 e sua expressão, em queratinócitos de pacientes com dermatofitose localizada e disseminada, foi observada a baixa expressão do receptor de TLR4 nos queratinócitos desses pacientes (DE OLIVEIRA et al., 2015). Há evidências de que o TLR4 induz a produção de citocinas inflamatórias e o recrutamento de neutrófilos para o infiltrado inflamatório. Também foi demonstrado que o TLR2 induz uma resposta Th2, a qual é considerada uma resposta celular não protetora – o que não seria adequado para a eliminação dos dermatófitos. Além disso, as respostas Th2 também podem inibir respostas Th17 que são importantes na indução de infiltração de neutrófilos e na produção de citocinas pró-inflamatórias. Portanto, a baixa expressão de TLR4 na epiderme, conseqüentemente, leva à diminuição na produção de citocinas pró-inflamatórias e no recrutamento de neutrófilos, o que explicaria a resposta inflamatória reduzida em lesões causadas por *T. rubrum* (DE OLIVEIRA et al., 2015), (CROME; WANG; LEVINGS, 2010), (MIOSSEC; KOLLS, 2012).

Celestrino G. et al. (2019) realizaram experimentos *in vitro*, nos quais ficou demonstrado que os receptores de TLR2 são importantes para a fagocitose de conídios de *T. rubrum* e para a produção de citocinas pró-inflamatórias por monócitos humanos. O bloqueio de TLR2 por anticorpos neutralizantes prejudicou a atividade fungicida dos monócitos, assim como a secreção de fator de necrose tumoral (TNF)- α , porém nem a produção de óxido nítrico (NO) nem a secreção de interleucina (IL)-10 foram prejudicadas. Portanto, foi demonstrado que TLR2 contribui para a produção de citocinas pró-inflamatórias induzidas por *T. rubrum*, mas não participa da secreção de IL-10, e que a ausência de sinalização de TLR2 em monócitos humanos pode prejudicar a resposta inflamatória (CELESTRINO et al., 2019).

Assim como os queratinócitos, as células de *Langerhans* são células residentes na epiderme e se mostram primordiais para a iniciação e a modulação das respostas imunes adaptativas contra os dermatófitos (MIGNON

et al., 2008). As células de *Langerhans* (LC) ou as células dendríticas (DC) são células apresentadoras de antígenos, que migram para os órgãos linfoides secundários para apresentar antígenos às células T virgens, com isso, dando início à resposta imunológica mediada por células (MONTAGNOLI et al., 2001). As repostas imunológicas contra fungos, assim como na dermatofitose, são mediadas por respostas imunológicas mediadas por células (CMI), que, por sua vez, são responsáveis pelo controle do crescimento fúngico (SANTIAGO et al., 2014). Na região da derme, uma população de DC, denominada dendrócitos dérmicos (DD), é tão importante quanto as LC na apresentação de antígenos e pode estar envolvida em diferentes infecções fúngicas, como, por exemplo, paracoccidiodomicose e cromoblastomicose (REIS et al., [s.d.]).

Os dermatófitos induzem resposta imune adaptativa específica que promove a recuperação clínica e a proteção contra a reinfecção. A proteção contra infecções por dermatófitos está associada à resposta de hipersensibilidade do tipo tardia, devido aos linfócitos T CD4 e à imunidade T auxiliar (Th) 1 mediada por IFN- γ (BURSTEIN et al., 2018). As células CD4+ são cruciais nas respostas imunes celulares, quando a presença de agentes patogênicos levará a ativação de células CD4+ *naive* para se diferenciarem em vários grupos de células Th (Th1, Th2 e Th17). Citocinas, como IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, TNF- α , e fator de crescimento transformador- β também possuem papel crucial durante a resposta imunológica a infecções fúngicas (PARYUNI; INDARJULIANTO; WIDYARINI, 2020).

Atualmente, tem sido visto que uma proteção eficiente do hospedeiro contra fungos oportunistas requer uma resposta imune que envolva células Th1 e Th17. Recentemente, um estudo, realizado por Heinen *et al.* (2018), ao comparar a dermatofitose superficial aguda por *T. benhamiae* em camundongos, demonstrou que a imunidade mediada por células T é crítica para a eliminação fúngica, além da recuperação clínica. Após a infecção por *T. benhamiae*, camundongos demonstraram aumento significativo dos níveis de mRNA de IL-17A, IL-22 e IFN- γ , centralizando os tipos celulares Th1 e Th17. Verificou-se que a ausência dessas citocinas não foi individualmente necessária para a eliminação completa do patógeno, mas que, juntas, elas contribuem na resolução da dermatofitose. Portanto, os dados do estudo

sugerem que a imunidade mediada por células T é crucial para o controle ideal da dermatofitose superficial e que a imunidade adaptativa é polarizada tanto pela resposta Th1 quanto pela Th17. (HEINEN et al., 2019). As células Th2 produzem principalmente IL-4 e IL-5, que, respectivamente, induzem a produção de IgE e a ativação de eosinófilos. Estudos adicionais demonstraram que, em pacientes com imunodeficiência, a infecção por *T. rubrum* pode induzir reações dominantes em Th2, com níveis elevados de IL-4, IL-5 e IgE, sendo uma resposta celular não protetora (SATO; TAGAMI, 2003). Portanto, as citocinas IL-17A e IFN- γ e as citocinas de assinatura das linhagens Th17 e Th1 são, respectivamente, cruciais na resposta contra dermatófitos (VERMA; GAFFEN, 2019).

Por meio de modelos murinos de dermatofitose profunda, Yoshikawa FS e colaboradores verificaram que os receptores de lectina do tipo C, dectina-1 e dectina-2, são elementos-chave na resposta imune a infecções por *T. rubrum*, em um modelo de dermatofitose profunda. Em modelos *in vivo*, foi observado que a deficiência de dectina-1 e dectina-2 comprometeu gravemente a produção de citocinas pelas células dendríticas. Durante o estudo, camundongos geneticamente modificados, na ausência de dectina-1 e dectina-2, apresentaram produção ineficaz de citocinas pró-inflamatórias em resposta a *T. rubrum*, prejudicando a resolução da doença (YOSHIKAWA et al., 2016). A dermatofitose profunda é causada principalmente em indivíduos imunocomprometidos e com deficiência de *CARD9*, os quais, por sua vez, são predispostos à dermatofitose grave. (ROUZAUD et al., 2015).

2 JUSTIFICATIVA

A dermatofitose é uma infecção fúngica superficial, causada por fungos queratinofílicos, que se caracterizam por invadir o estrato córneo e outros tecidos queratinizados, como unhas e cabelos. Esses fungos se desenvolvem secretando enzimas e degradando a queratina para obter nutrientes, promovendo a invasão tecidual. O principal agente causador de dermatofitose é o *Trichophyton rubrum*, porém o *Trichophyton mentagrophytes* vem se destacando como o segundo agente mais causador dessa doença. Mesmo que a dermatofitose seja uma doença superficial, ela é de difícil tratamento; ademais, pacientes com deficiência na imunidade celular podem evoluir para infecções profundas e disseminadas.

Sabe-se que as células imunológicas, como os macrófagos, as células de *Langerhans* e os dendrócitos dérmicos são células importantes no reconhecimento dos dermatófitos – assim como outras células imunológicas. Os macrófagos agem como fagócitos, as células de *Langerhans* são células apresentadoras de antígenos e os dendrócitos dérmicos auxiliam na apresentação de antígenos em infecções que atingem a região da derme. Além disso, sabe-se a importância do equilíbrio de citocinas pró e anti-inflamatória na resposta inflamatória das infecções fúngicas.

Mesmo diante da alta prevalência mundial dos casos de dermatofitose, pouco se sabe sobre os mecanismos de defesa do hospedeiro nesta infecção, principalmente *in situ*. Por isso, em decorrência do crescente número de casos de dermatofitose e da escassez de estudos focando na resposta imune *in situ*, nossa proposta foi avaliar a expressão dos marcadores CD1a+ (células de *Langerhans*), CD68+ (macrófagos), fator XIIIa+ (dendrócitos) e a expressão das citocinas IL-10 e TNF- α em lesões cutâneas de pacientes com dermatofitose.

3 OBJETIVO

O objetivo do estudo foi avaliar a expressão dos receptores CD1a (células de *Langerhans*), CD68 (macrófagos), fator XIIIa (dendrócitos) e a expressão das citocinas IL-10 e TNF- α em lesões cutâneas de pacientes com dermatofitose por meio da técnica de imuno-histoquímica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Pacientes

Este estudo foi composto por 20 pacientes, sendo 10 pacientes com dermatofitose, com as seguintes áreas anatômicas afetadas: abdômen, nádegas, braços e coxas; e 10 indivíduos saudáveis submetidos à cirurgia plástica, os quais foram incluídos como controle. Os pacientes foram recrutados no Ambulatório de Micologia, da Divisão de Dermatologia Clínica, do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Os critérios de inclusão foram: (i) pacientes sem qualquer comorbidade que afetasse a resposta imune ou predispucesse à dermatofitose (por exemplo: imunossupressão primária ou secundária, diabetes mellitus, doença de *Cushing*, receptores de transplante); (ii) indivíduos que não usaram tratamentos tópicos ou sistêmicos um mês antes da coleta das amostras. O isolamento e a identificação de *T. rubrum* de lesões cutâneas foram realizados por exame microscópico de amostras e cultura de lesões em Agar *Sabouraud* (Becton, Dickinson e Company, Heidelberg, Alemanha) para isolamento de fungos. Foram excluídos pacientes com idade inferior a 18 anos, gestante e pacientes acima de 70 anos.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (Aprovação nº 673/06). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da doação da amostra.

4.2 Coleta e preparo do corte histológico

Dos pacientes portadores de dermatofitose, foram retirados dois fragmentos cutâneos, sendo um fragmento da borda ativa da lesão e outro de pele sã, com distanciamento de pelo menos 4 cm da área cutânea acometida, no mesmo fragmento corporal, assim como demonstrado na imagem abaixo (figura 7). A coleta foi realizada com um perfurador de biópsia dermatológico

padrão (5 mm) com anestesia local. No grupo controle, as amostras de pele foram obtidas por meio de cirurgia estética.

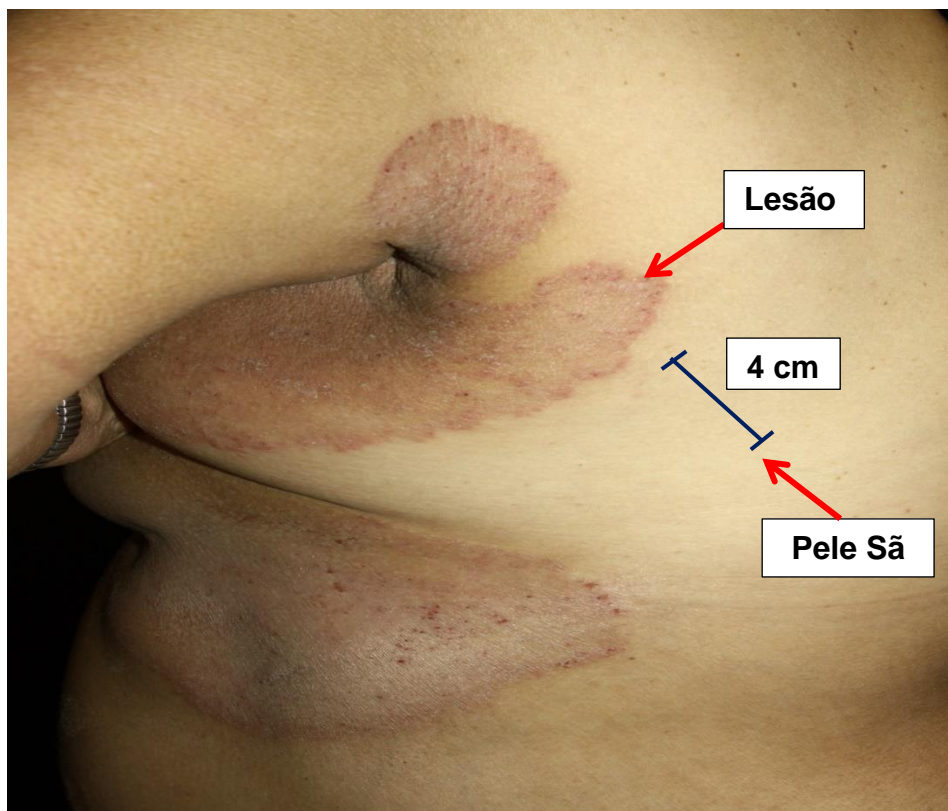


Figura 7: Esquema demonstrativo do local de coleta de biópsia de lesão ativa e pele sã de paciente com dermatofitose.

Os cortes histológicos coletados foram mantidos em formol tamponado 10%, para que se conservassem as estruturas teciduais da amostra. Essas biópsias passaram pelo processo de desidratação, diafanização e impregnação, como descrito a seguir:

Desidratação: Neste processo, o tecido é mantido em álcool etílico em ordem crescente, sendo álcool 70%, 80%, 90% e 100%, pelo período de 1 hora em cada álcool. A função do álcool no processo de desidratação é a retirada total de água no tecido. Além disso, a desidratação precisa ser feita em ordem crescente, para que não haja maior retração do tecido, podendo ocasionar posteriores artefatos.

Diafanização: No processo de diafanização, o tecido fica imerso em xilol I e xilol II (xilol puro) durante 1 hora cada. A função do xilol neste processo é a retirada do álcool do tecido, preparando-o, assim, para o processo de impregnação. Este processo também pode ser chamado de clarificação.

Impregnação: Por fim, esses cortes histológicos foram submersos na parafina líquida a 60°, por 1 hora cada, na qual sua função é penetrar no tecido, para que adquira rigidez suficiente, e seja possível a realização de finos cortes.

Os cortes histológicos desidratados são submetidos em blocos de parafina e preparados para corte no equipamento micrótomo, que possui a capacidade de realizar finos cortes histológicos de 3 a 5 micra. Esses cortes foram fixados em lâminas de vidro e levados para estufa a 65°C para secagem.

4.3 Análise imuno-histoquímica

Utilizou-se o método estreptavidina-biotina-peroxidase (HSU; RAINE; FANGER, 1981), o qual consiste na incubação do anticorpo primário, seguido de um anticorpo secundário, biotilado, e do complexo de estreptavidina conjugado a uma enzima, que tem como função a conversão de um cromógeno incolor a produto final, que pode conferir diversas cores aos antígenos teciduais marcados. Os cortes histológicos fixados em lâminas foram desparafinizados em três banhos de xilol, à temperatura ambiente, durante 3 minutos cada. Posteriormente, foram hidratados em sequência decrescente de etanol (absoluto, 100%, 95%, 70%) por dois minutos cada e, logo após, foram lavados duas vezes com H₂O destilada por dois minutos cada. Em seguida, foi realizada a recuperação de antígenos, na qual as lâminas foram incubadas em banho de citrato quente (10 mm/ pH 6,0), por 40 minutos, com banho-maria a 60°C. Seguidamente, as lâminas foram resfriadas lentamente, à temperatura ambiente, e lavadas duas vezes com H₂O destilada por dois minutos.

Foi realizado o bloqueio da peroxidase do tecido endógeno com solução de peróxido de hidrogênio a 3%. As amostras foram incubadas durante a noite, a 4°C, com os seguintes anticorpos primários: CD68 anti-humano monoclonal

de camundongo (clone KP1; Dako Corporation, Carpinteria, CA, EUA); anti-CD1a (clone 010; Dako Corporation) ou antifator XIIIa (clone E980; CM 357; Biocare Medical, Concord, CA, EUA). A amplificação e a visualização das reações foram realizadas com o Novolink™Max, sistema de detecção de polímero (RE7260-K; Novocastra), que contém reagentes pré-diluídos em frascos codificados por cores, que podem ser usados na visualização de anticorpos primários. As reações foram desenvolvidas usando-se uma solução de cromogênio diaminobenzidina (DAB; Novocastra) e, depois, contrastadas com hematoxilina Harris. Todas as reações foram realizadas com controles positivo e negativo – este último consistindo na omissão do anticorpo primário.

4.4 Análises quantitativa de células imunocoradas

A contagem de células imunocoradas foi realizada em um microscópio AxionVision (Carl Zeiss, San Diego, CA, EUA), acoplado ao *software* Pentium IV e AxioShop 2 Plus. As células foram quantificadas em 10 campos, dos cortes histológicos, e com aumento de 400 vezes. As células coradas em marrom foram consideradas imunorreativas.

4.5 Análises estatísticas

O número de células positivas nos três grupos foi comparado usando-se o pós-teste de Kruskal Wallis e Dunn, com o nível de significância estabelecido em 95%. Foi utilizado o *software* Graph Pad Prism, versão 5.0 para Windows (Graph Pad, San Diego, CA, EUA).

5 RESULTADOS

O grupo de pacientes foi composto por sete indivíduos do sexo masculino (70%) e três do sexo feminino (30%), cuja idade média foi de 38 anos (faixa 21-57). Os locais anatômicos afetados foram abdômen, nádegas, braços e coxas. As lesões eram geralmente típicas, circulares ou ovais e eritematosas, geralmente com descamação, com sinais de inflamação mais intensos dentro dos limites das lesões (Figura 8). O tempo de início das lesões variou de 5 meses a 2 anos.



Figura 8: Paciente com lesões dermatofíticas, nas regiões das nádegas, coxa e abdômen.

No grupo controle, seis pessoas eram do sexo masculino e quatro do feminino, com idade média de 34 anos (variação de 28 a 52). Todas as amostras de pacientes com dermatofitose foram positivas para *T. rubrum*.

5.1 Densidade celular do marcador imunológico CD1a+

As LC estão normalmente presentes na epiderme e podem ser identificadas pelo marcador fenotípico CD1a+ (MATEJUK, 2018). Embora a coloração com hematoxilina não tenha revelado infiltrado inflamatório na epiderme dos pacientes (dados não mostrados), a densidade das células CD1a+ foi significativamente reduzida em ambos, na área da pele afetada ($90,7 \pm 64,3$ células / mm², média \pm dp), bem como na pele não afetada ($77,9$

$\pm 66,5$ células / mm², média \pm dp) em comparação com o grupo controle ($158,5 \pm 99,2$ células / mm², média \pm dp) (Figura 9). Em virtude de *T. rubrum* ser um fungo bem estabelecido no corpo humano, os resultados obtidos nos levam a postular que tanto em pele afetada quanto em não afetada há a presença do fungo na região, porém na pele lesionada as características da lesão são aparente (descamação, eritema e etc.), já em pele sã não há lesão aparente.

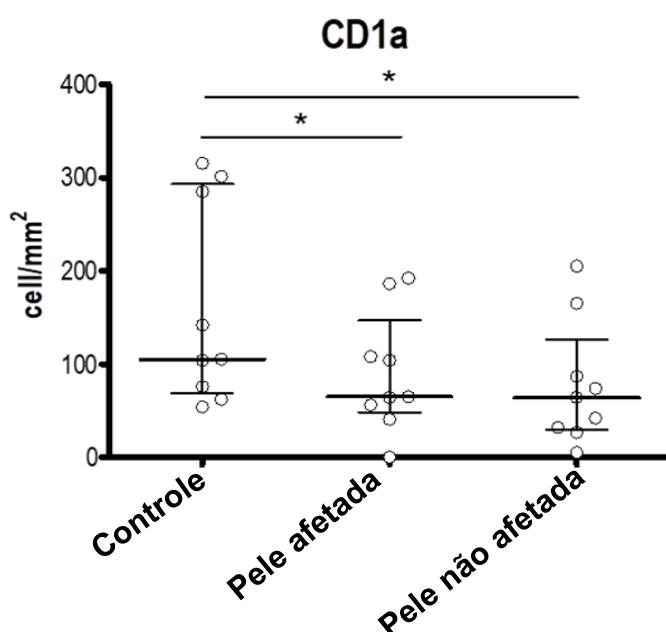


Figura 9: Densidade celular do marcador imunológico CD1a+ nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para populações de células CD1a+. Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p <0,05.

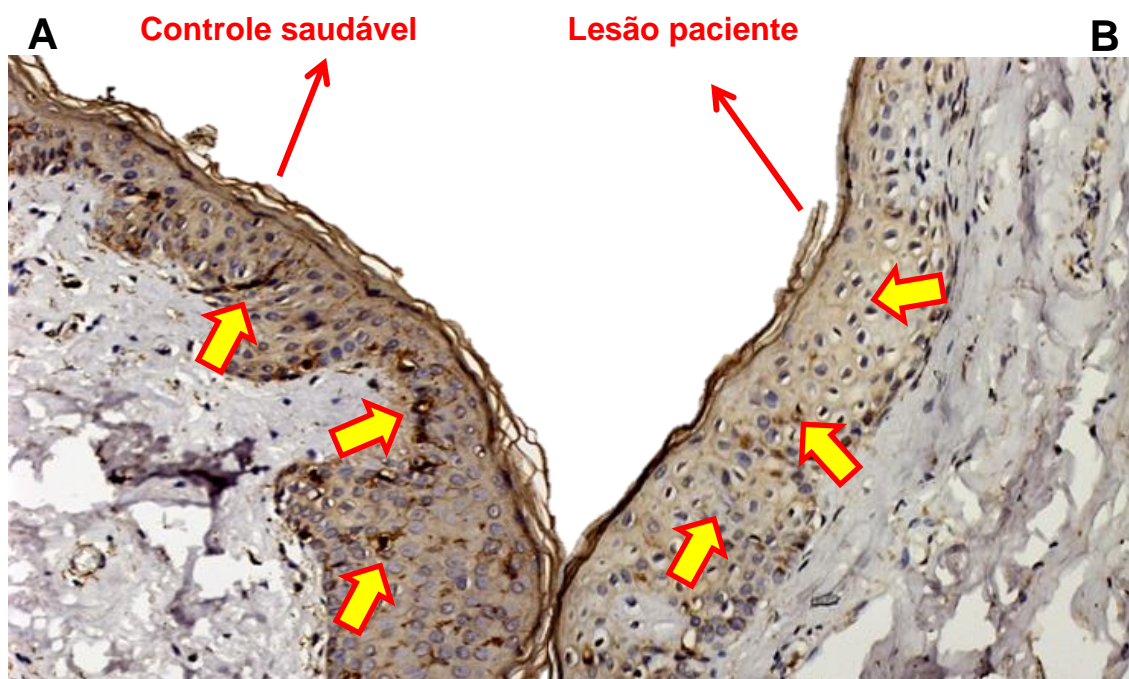


Figura 10: Padrão imuno-histoquímico de CD1a+. Corte histológico com densidade celular de CD1a+ em pele controle saudável (A) e áreas de lesão (B), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, foi notado uma baixa densidade celular (marcações) nas lesões dos pacientes comparadas ao controle saudável.

5.2 Densidade celular do marcador imunológico Fator XIIIa

Os DD são células dendríticas, apresentadoras de antígenos derivadas da medula óssea que são encontradas no tecido conjuntivo dérmico. O Fator XIIIa é um marcador fenotípico dessa linhagem celular (CARNEIRO et al., 2014). Para dendrócitos dérmicos, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em sua frequência entre a derme cutânea afetada ($90,67 \pm 64,32$ células / mm², média \pm dp) e a derme da pele não afetada ($76,30 \pm 62,86$ células / mm², média \pm dp) ou quando foi comparado ao grupo controle ($118,9 \pm 49,93$ células / mm², média \pm dp) (Figura 11).

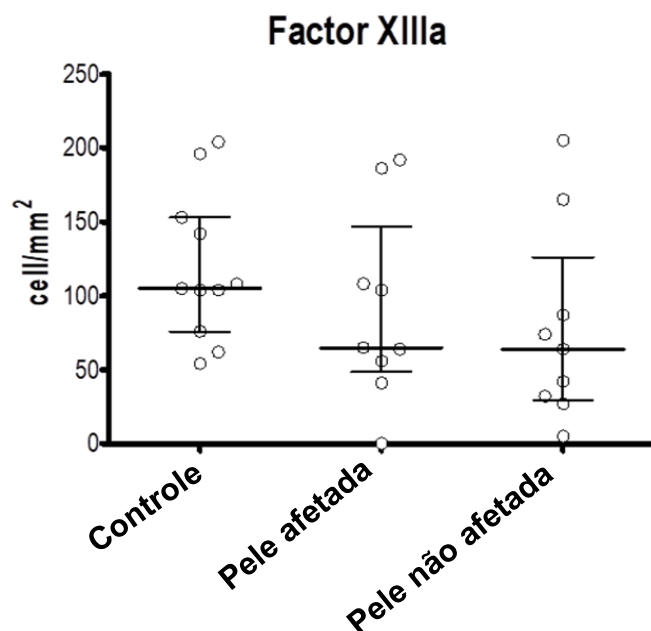


Figura 11: Densidade celular do marcador imunológico Fator XIIIa nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para populações de células fator XIIIa. Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. $n = 10$; * $p < 0,05$.

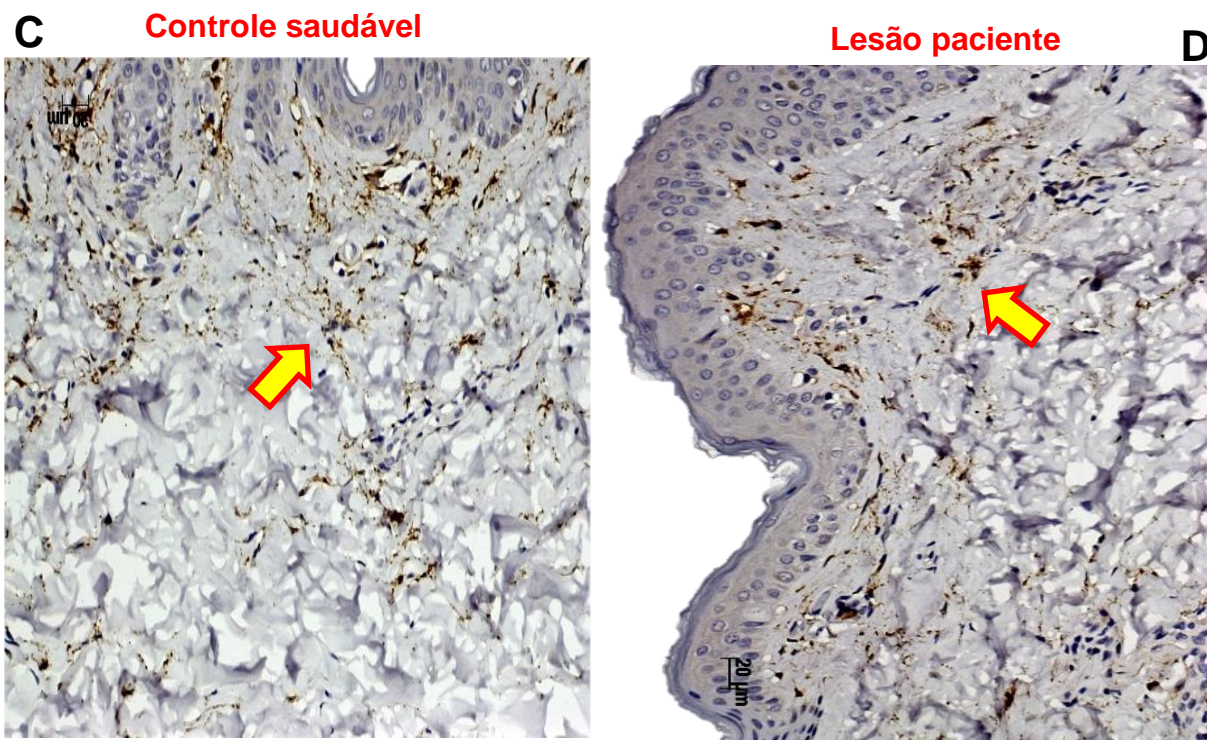


Figura 12: Padrão imuno-histoquímico do Fator XIIIa. Corte histológico com densidade celular de Fator XIIIa em pele controle saudável (C) e áreas de lesão (D), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, não foram notadas diferenças significativas nas marcações da lesão do paciente quando comparadas ao controle saudável.

5.3 Densidade celular do marcador imunológico CD68

Macrófagos são importantes células da imunidade inata que agem como células fagocíticas, as quais respondem imediatamente aos patógenos invasores (KELLY; O'NEILL, 2015). O marcador imunológico CD68 é um marcador fenotípico dessa linhagem celular, na qual tanto em pele afetada, quanto em pele não afetada (afetados: $35,36 \pm 27,64$, não afetados: $50,18 \pm 35,33$ células / mm²), também não houve significâncias estatísticas, sendo semelhante à observada no grupo controle ($38,91 \pm 26,85$) (Figura 13).

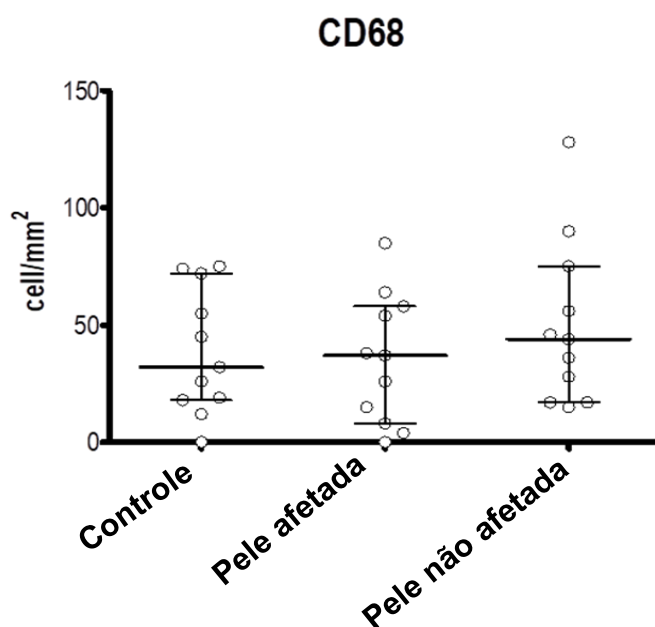


Figura 13: Densidade celular do marcador imunológico CD68 nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para populações de células CD68. Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p <0,05.

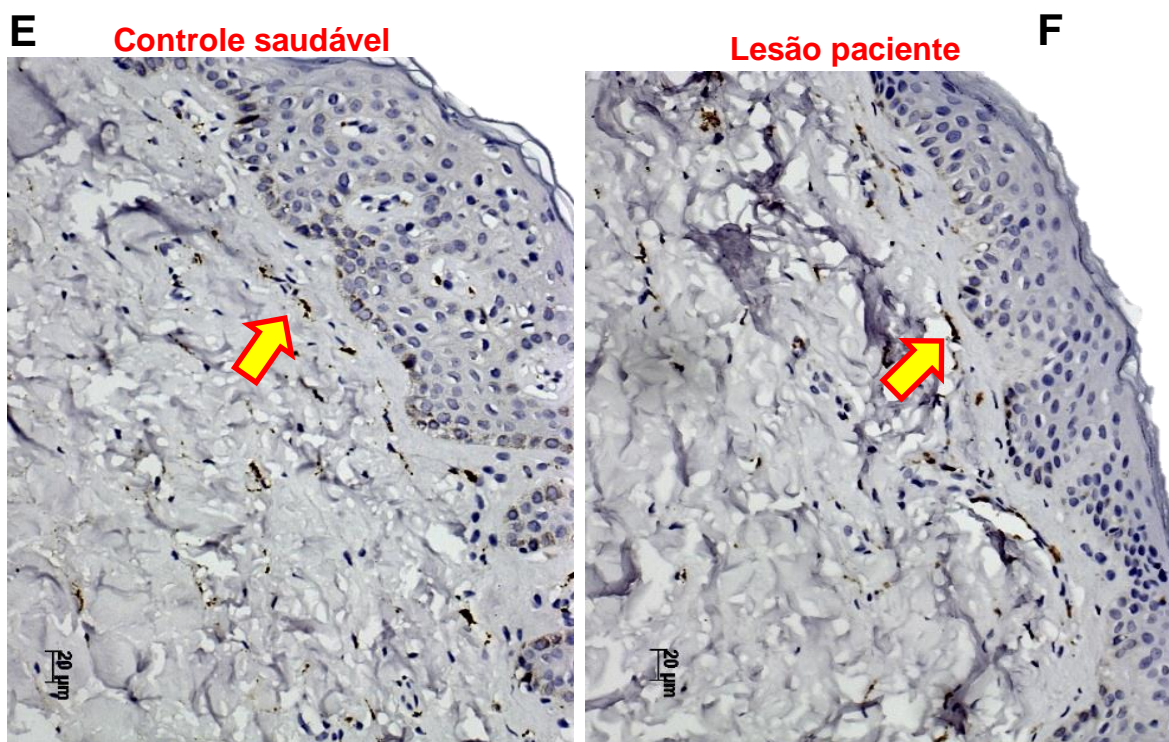


Figura 14: Padrão imuno-histoquímico de CD68. Corte histológico com densidade celular de CD68 em pele controle saudável (E) e áreas de lesão (F), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, não foram notadas diferenças significativas nas marcações da lesão do paciente quando comparadas ao controle saudável.

5.4 Expressão da interleucina (IL-10)

A interleucina-10 (IL-10), uma citocina com propriedades anti-inflamatórias, possui papel central nas infecções por limitar a resposta imune aos patógenos e, assim, prevenir danos ao hospedeiro (SARAIVA; O’GARRA, 2010). A expressão da citocina IL-10 foi significativamente aumentada na epiderme afetada (ODI: $86,0 \pm 35,1$ média \pm dp.) ao comparar com a pele não afetada (ODI: $48,3 \pm 21,3$ média \pm dp) e grupo de controle (ODI: $35,75 \pm 23,03$) (Figura 15).

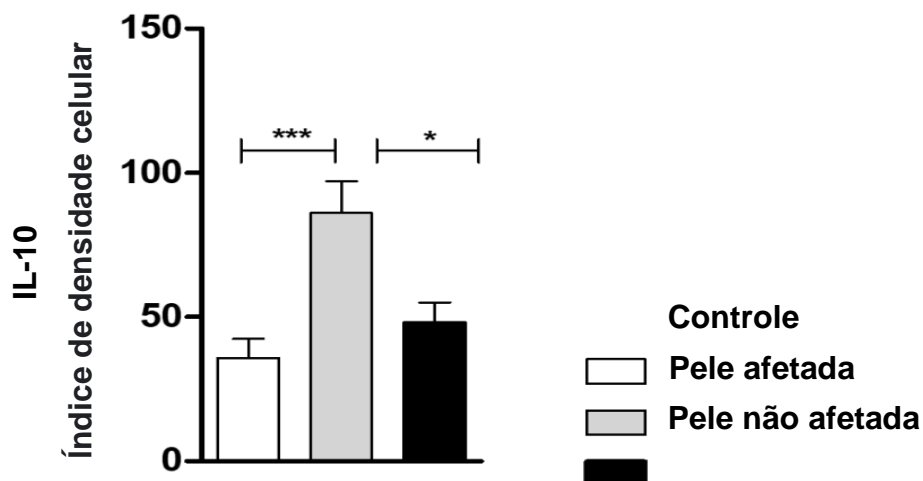


Figura 15: Expressão da interleucina-10 (IL-10) nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para interleucina 10. Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. $n = 10$; $* p < 0,05$.

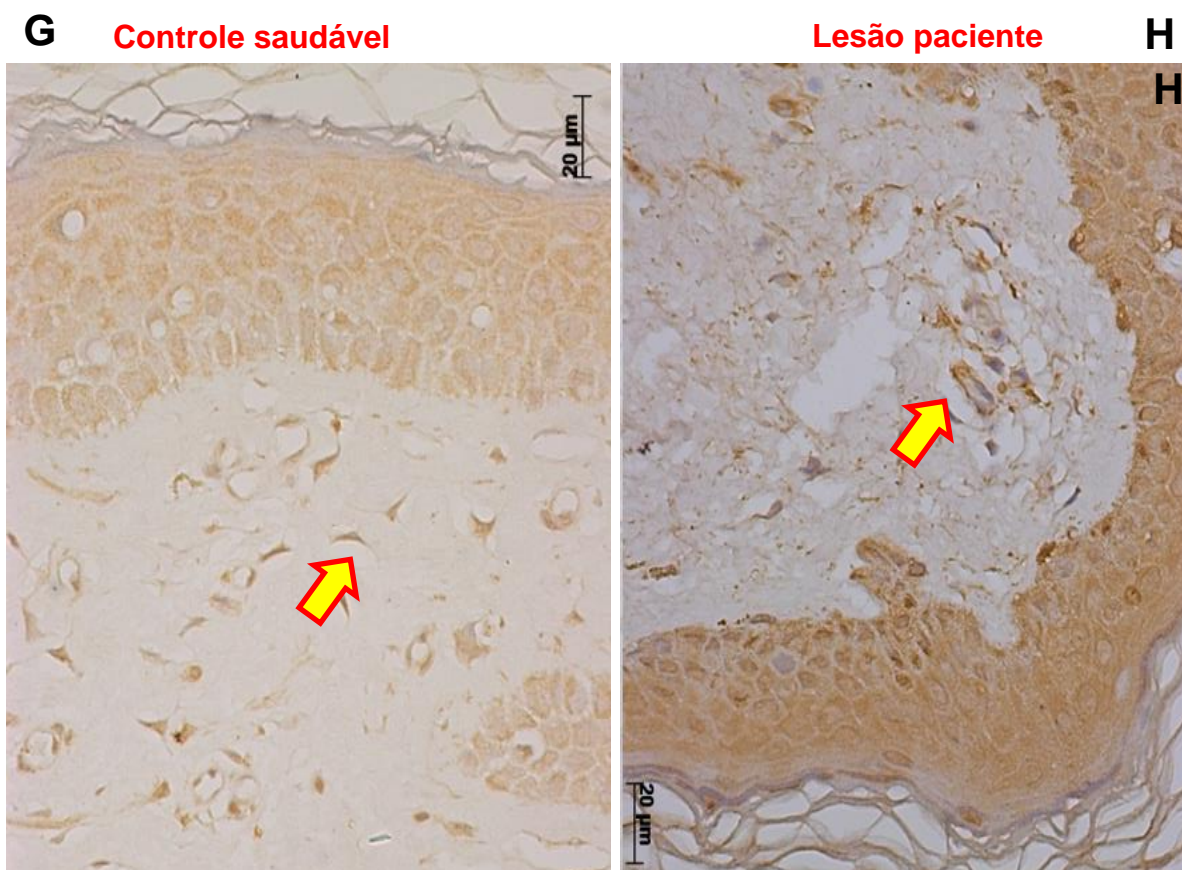


Figura 16: Padrão imuno-histoquímico de IL-10. Corte histológico com a expressão da interleucina-10 em pele controle saudável (G) e áreas de lesão (H), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, foi notado aumento significativo da expressão de IL-10 quando comparado ao controle saudável.

5.5 Expressão da citocina TNF- α

A citocina fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa) é uma citocina de propriedades inflamatórias produzida por macrófagos e monócitos, sendo responsável por diversos eventos de sinalização dentro das células, levando à necrose ou à apoptose (IDRISS; NAISMITH, 2000a). A expressão de TNF- α também foi significativamente aumentada na epiderme da pele afetada (ODI: $75,60 \pm 22,20$, média \pm dp) quando comparado ao grupo de controle (ODI: $53,17 \pm 14,02$, média \pm dp), mas não para a pele não afetada (ODI: $57,50 \pm 16,46$, média \pm desvio padrão) (Figura 17).

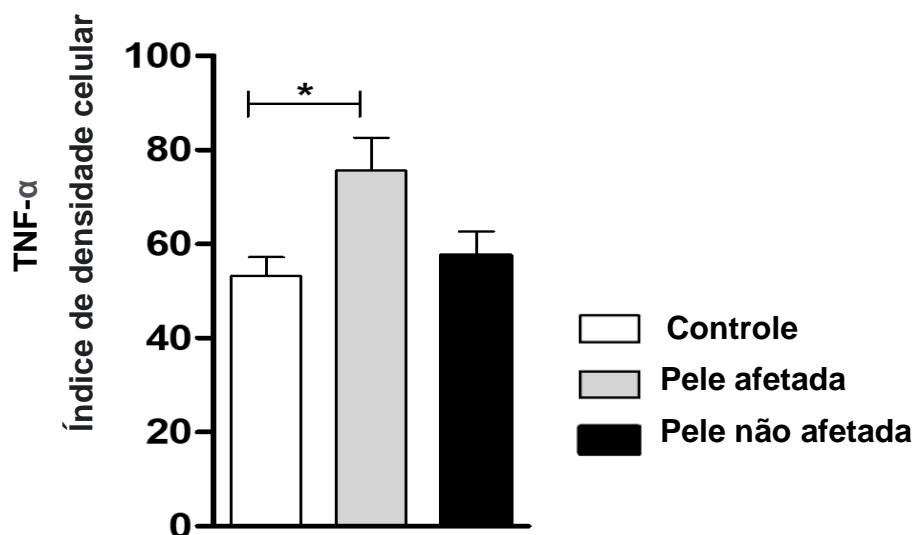


Figura 17: Expressão da citocina TNF- α nos locais de lesões de pacientes com dermatofitose. Amostras de pele de pacientes com dermatofitose (áreas de lesão e pele não afetada) e amostras de pele de controles saudáveis foram imunocoradas para TNF- α . Os dados são expressos como mediana \pm intervalo interquartil da densidade de células imunocoradas. As comparações estatísticas foram realizadas com Kruskal Wallis e pós-teste de Dunn, com um nível de confiança de 95%. n = 10; * p < 0,05.

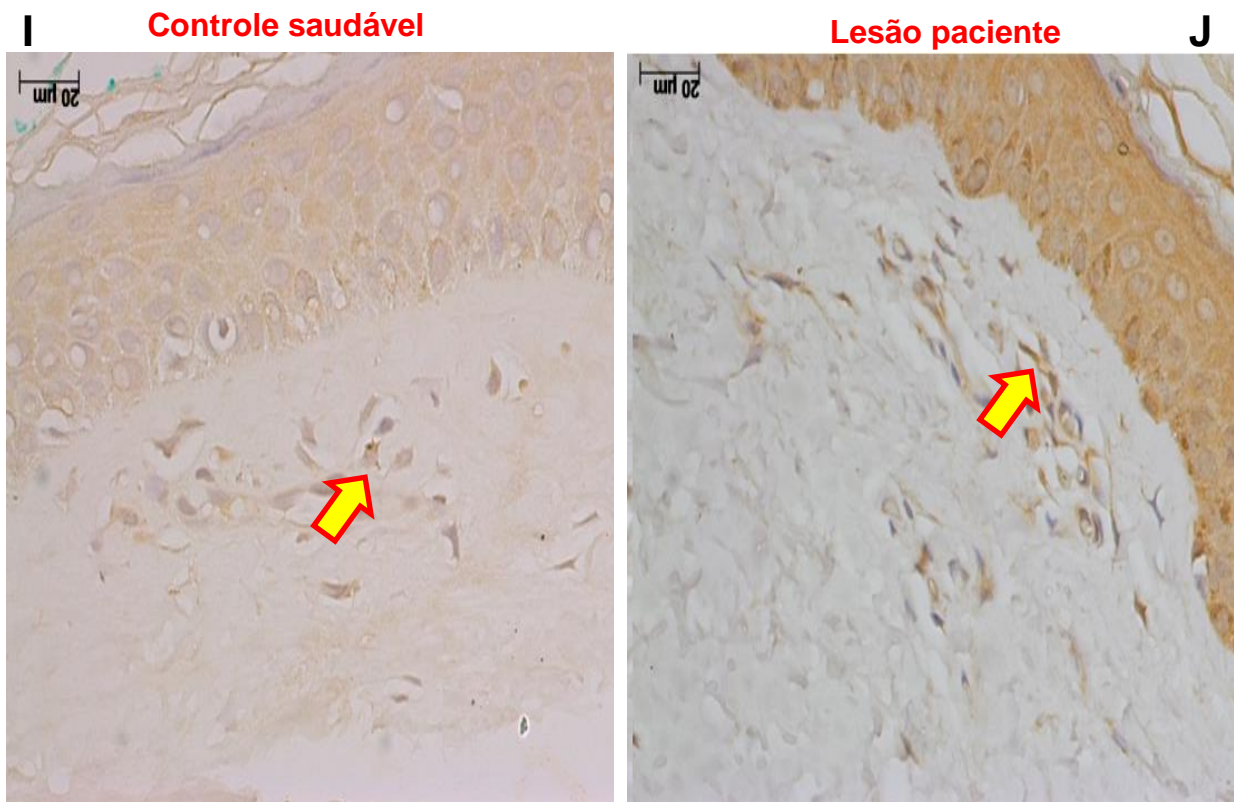


Figura 18: Padrão imuno-histoquímico de TNF- α . Corte histológico com a expressão da citocina TNF- α em pele controle saudável (I) e áreas de lesão (J), com ampliação de 200x. Nas figuras acima, foi notado aumento significativo da expressão de TNF- α quando comparado ao controle saudável.

6 DISCUSSÃO

A dermatofitose é uma infecção fúngica benigna que afeta tecidos queratinizados (WEITZMAN; PADHYE, 1996). A infecção ocorre por meio da inoculação de elementos fúngicos, ou seja, arthroconídios, na pele, que se aderem e germinam pelo estrato córneo. Após a adesão, os arthroconídios formam um complexo de hifas, as quais se desenvolvem e se espalham pelas camadas inferiores da pele. Inúmeras enzimas liberadas pelos dermatófitos durante a infecção permitem que eles degradem e utilizem a queratina e outras proteínas, bem como lipídios e DNA como fonte de nutrientes (“Pathogenesis of tinea - Brasch - 2010 - JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft - Wiley Online Library”, [s.d.]),(DUEK et al., 2004). Ainda que a dermatofitose seja uma infecção fúngica superficial que atinge a região epidérmica, em hospedeiros imunocomprometidos a doença pode progredir para a disseminação profunda, que é caracterizada por extensa invasão do tecido dérmico e subcutâneo, e por disseminação frequente para os linfonodos, ocasionalmente, para o sistema nervoso central (LANTERNIER et al., 2013), (ALVES DE MEDEIROS et al., 2016), (DREWNIK et al., 2013).

Devido à carência de estudos explorando a interação patógeno-hospedeiro *in situ*, as análises imunopatológicas podem contribuir para a compreensão da patogênese da doença e dos mecanismos associados às suas diferentes apresentações clínicas.

Neste estudo, avaliamos as alterações histopatológicas nas lesões de dermatofitose e a distribuição tecidual de DC e macrófagos, que são células-chave na defesa do hospedeiro. Nosso estudo mostrou predomínio de pacientes do sexo masculino (70%), concordando com estudos anteriores (SEEBACHER; BOUCHARA; MIGNON, 2008),(BHATIA; SHARMA, 2014),(TEKLEBIRHAN; BITEW, 2015). Essa prevalência mais alta em homens também foi relatada na Índia, assim como em outros países do mundo (Singh e Beena 2003; Balakumar et al. 2012) (BALAKUMAR et al., 2012). Isso pode ser devido às diferenças na exposição ocupacional de ambos os sexos, pois os homens podem estar mais envolvidos em construções civis e atividades ao ar livre (BHATIA; SHARMA, 2014),(SINGH; BEENA, 2003). Em um estudo

realizado por Bae et. Al, em 2012 na Coreia do Sul, os autores demonstraram que as infecções fúngicas da pele são muito comuns em militares. Os resultados obtidos evidenciaram a prevalência de *Tinea pedis* (15,2%), *Tinea cruris* (2,7%), *Tinea corporis* (0,6%) e onicomicose (0,9%). A maior prevalência de *Tinea pedis* é provável que esteja relacionada principalmente a calçados inadequados (sapatos de couro oclusivos), a trauma no pé durante o aumento das atividades esportivas e a falta de higiene. Além disso, o fato de morar em um ambiente em grupo com compartilhamento de banheiros, possivelmente, poderia aumentar o risco de infecção cruzada. (BAE et al., 2012).

Ainda que todas as idades estejam suscetíveis à dermatofitose, em sua maioria, nossos pacientes (70%) têm entre 30 e 50 anos. Nos estudos realizados por Bhatia e Sharma, em 2014, na Índia, a faixa etária mais afetada foi de 21 a 50 anos (64,9%), o que quase se assemelha com nosso estudo. A razão provável para uma prevalência mais elevada nessa faixa etária se deve ao motivo que os indivíduos neste grupo são frequentemente mais ativos, devido ao seu envolvimento em atividades ao ar livre, como estudos, trabalhos etc. (BHATIA; SHARMA, 2014)

Levando em consideração o papel fundamental das células de *Langerhans*, macrófagos e dendrócitos dérmicos na determinação do curso de algumas doenças infecciosas, avaliamos essas populações celulares, em nossas amostras de pele, por meio da técnica de imuno-histoquímica. Para isso, usamos os marcadores imunológicos: CD1a+, Fator XIIIa+ e CD68+. O marcador CD1a é uma proteína humana associada ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC), que desempenha o papel de mediador na apresentação de antígenos aos linfócitos T. Além disso, ele é expresso em células de *Langerhans*, sendo utilizado como um marcador imunológico na presença dessas células na pele (ALESCI et al., 2020), (ELIAS; NANDA; BARR, 2003). O marcador imunológico Fator XIIIa+ é um marcador de dendrócitos dérmicos, que são células dendríticas derivadas da medula óssea e encontradas no tecido conjuntivo dérmico; ele desempenha o papel de marcador diagnóstico em uma ampla gama de doenças dermatológicas, assim como, por exemplo, paracoccidiodomicose e cromoblastomicose (REIS et al., [s.d.]), desde condições inflamatórias até malignidade (CARNEIRO et al.,

2014), (PARAGH; TÖRŐCSIK, 2017). Já o CD68+ é uma glicoproteína fortemente glicosilada, altamente expressa em macrófagos e outros fagócitos mononucleares. Tradicionalmente, o CD68 é utilizado como um marcador citoquímico extremamente importante para imunocoloração de macrófagos/monócitos na análise histoquímica de tecidos inflamados, tecidos tumorais, entre outras aplicações imuno-histopatológicas (CHISTIakov et al., 2017).

Em nossas análises, detectamos uma densidade menor de células CD1a+ em pacientes com dermatofitose, levantando-nos à hipótese de que a infecção por *T. rubrum* fosse responsável pela diminuição da expressão deste marcador. Podemos supor dois mecanismos potenciais, não respectivamente exclusivos, para essa expressão diminuída observada de CD1a: (i) regulação negativa da expressão de CD1a ou (ii) diminuição da população residente de APC cutâneos, em consequência à sua migração para nódulos linfáticos regionais para a apresentação de antígenos. Em relação à primeira hipótese, foi descrito que *T. rubrum* libera uma variedade de moléculas, incluindo proteases, como queratinases, elastases, colagenases e lipases. (LAMBKIN; HAMILTON; HAY, 1994),(MARTINEZ-ROSSI; PERES; ROSSI, 2017),(SCHAUFUSS; STELLER, 2003). Essas proteases podem interagir com as células hospedeiras e, ocasionalmente, levar à regulação negativa da expressão de marcadores de superfície, como CD1a em LC, interferindo, assim, em sua função, contudo, comprometendo a resposta imunológica contra o agente invasor. Em nossa segunda hipótese, os APC cutâneos, quando ativados, migram para os linfonodos regionais para induzir respostas imunes adaptativas. Estudos recentes envolvendo os dermatófitos demonstram que uma proteção eficiente do hospedeiro contra fungos oportunistas requer uma resposta imune coordenada, a qual envolve células Th1 e Th17 (ROMANI, 2011),(RICHARDSON; MOYES, 2015), mas a resposta imune celular de pacientes com dermatofitose mostra uma tendência à resposta celular Th2 (HEINEN et al., 2019),(HEINEN et al., 2017), (LEIBOVICI et al., 1995), indutora de resposta imunológica não protetora – ainda que as CL sejam capazes de produzir mediadores pró-inflamatórios, inclusive IL-12, localmente (KANG et al., 1996).

Curiosamente, também identificamos baixa expressão de CD1a+ na pele saudável ou não afetada de pacientes com dermatofitose em relação ao controle. Alguns autores demonstraram forte expressão das proteínas CD1 (CD1a, -b e -c) em pacientes com forma tuberculoide (benigna) da hanseníase, enquanto a má expressão de CD1a possivelmente estaria ligada à falha na restrição do patógeno, característica do polo *virchowiano* (SIELING et al., 1999). Em um estudo realizado por Jabbour et al. (2015), também se observou redução na expressão de CD1a. Os autores postularam que isto poderia ocorrer por meio de dois mecanismos: através de absorção do receptor CD1a direta, por leishmania amastigotas, ou através de uma inibição do *feedback* negativo de CD1a, por células duplo-negativo CD3-reguladores (JABBOUR et al., 2015). É desafiante especular que o número reduzido de CL possa ser um fator de risco para o desenvolvimento de dermatofitose.

Em relação aos dendrócitos e macrófagos, não foi observada nenhuma associação entre densidade celular e estado de dermatofitose. Sotto et al. (SOTTO et al., 2010) demonstraram o aumento do número de células do fator XIIIa+ em pacientes com leishmaniose tegumentar americana. Os DD podem exibir formas amastigotas de leishmania, participando assim dos mecanismos patogênicos, agindo como APC. O dermatófito *T. rubrum*, entretanto, dificilmente atinge a derme e em nenhum de nossos casos pudemos encontrar hifas ou artroconídios nessa camada – mesmo fazendo uso de uma coloração micológica específica (coloração de *Grocott*), pois *T. rubrum* geralmente é encontrado na camada superficial da pele.

Conseqüentemente, pressupomos que a ausência de alteração na frequência desses dois tipos celulares (fator XIIIa+, CD68+) poderia ser explicada pela ausência de inflamação induzida por infecção neste compartimento. Os dendrócitos são células residentes na derme e, como o *T. rubrum*, raramente são encontrados na derme; o contato com os dendrócitos pode ser limitado ou reduzido, conseqüentemente, a densidade do fator XIIIa+ pode se manter estável. Em relação aos macrófagos (Cd68+), podemos hipotetizar que houve ausência de alteração nesta divisão celular, pois a dermatofitose é uma doença pouco inflamatória, não havendo o recrutamento

de muitos macrófagos para o infiltrado inflamatório, tornando assim os níveis de CD68+ estáveis em relação ao controle.

Levando-se em consideração a importância do equilíbrio entre as citocinas pró e anti-inflamatórias na determinação do curso de algumas doenças infecciosas, avaliamos também a expressão de TNF- α e IL-10 nas amostras de pele dos pacientes com dermatofitose. A interleucina IL-10 é uma citocina anti-inflamatória essencial que desempenha papéis fundamentais como regulador negativo das respostas imunes a antígenos. Além disso, exercem funções para manter a homeostase tecidual durante a infecção e a inflamação, através da restrição de respostas inflamatórias excessivas durante o curso da infecção. A IL-10 pode ser produzida em respostas a sinais pró-inflamatórios por praticamente todas as células imunes, incluindo células T, células B, células dendríticas e macrófagos (OUYANG; O'GARRA, 2019), (RUTZ; OUYANG, 2016). Já o fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa) é uma citocina pró-inflamatória secretada por macrófagos/monócitos durante a infecção, sendo responsável por uma ampla gama de atividades biológicas, além de participar do processo de regeneração tecidual. (IDRISS; NAISMITH, 2000b), (UVERSKY et al., 2017). Além do mais, TNF- α também desempenha importante papel na regulação da resposta imune Th1 uma resposta protetora contra infecções fúngicas. Embora seja uma citocina altamente benéfica na ativação da resposta imunológica, sua produção inadequada leva à inflamação desordenada, à destruição de tecidos e à lesão de órgãos. (SCHOTTELIUS et al., 2004).

Em nossas análises, nossos resultados mostram que as expressões de IL-10 e TNF- α foram significativamente aumentadas na epiderme afetada quando comparadas com pele não afetada e grupo controle. Além disso, a magnitude da expressão dessas citocinas foi comparável. Como *T. rubrum* é conhecido por causar inflamação leve em humanos (BRASCH, 2010), podemos supor que essa leve infecção seria responsável pelo equilíbrio dos sinais pró e anti-inflamatórios dessas citocinas que controlariam e limitariam este fungo/infecção. Consistente com isso, em estudos anteriores, nosso grupo demonstrou que lesões dermatófitas exibem expressão reduzida de TLR-4, um receptor relacionado à produção de citocinas inflamatórias e expressão

preservada de TLR-2, que, por sua vez, possui relação com um perfil de resposta anti-inflamatória na doença (DE OLIVEIRA et al., 2015). Outro estudo também realizado pelo grupo por meio de experimentos *in vitro*, foi demonstrado que o bloqueio de TLR2 por anticorpos neutralizantes prejudicou a atividade fungicida dos monócitos, assim como a secreção de fator de necrose tumoral TNF- α , porém nem a produção de óxido nítrico (NO) nem a secreção de IL-10 foram prejudicadas. (CELESTRINO et al., 2019). Em um estudo realizado por Campos M. et al. (2006), onde investigaram a interação de macrófagos residentes com conídios de *T. rubrum*, na qual observaram que a interação entre *T. rubrum* e macrófagos residentes resulta na produção de TNF- α e IL-10, mas não de IL-12 e óxido nítrico (NO). Além disso, também notaram que a fagocitose de *T. rubrum* resultou na modulação negativa da molécula de MHC-II. (CAMPOS et al., 2006). Esses resultados corroboram com nossos achados, enfatizando nossa hipótese de que as citocinas IL-10 e TNF- α participam do processo inflamatório de infecções causadas por *Trichophyton rubrum*, e que o equilíbrio pró e anti-inflamatório dessas citocinas limitariam o dano inflamatório do hospedeiro, favorecendo o desenvolvimento de uma leve patologia que pouparia a região da derme.

Levando-se em consideração a baixa expressão de CD1a+ (Células de *Langerhans*) na epiderme, podemos supor que a baixa densidade dessa população celular também pode ser explicada pela regulação negativa da citocina IL-10 o que reduz o recrutamento dessas células para o sítio infeccioso. A interleucina IL-10 tem como alvo principal as células apresentadoras de antígenos (APC), como células de *Langerhans*, macrófagos e monócitos, na qual agem inibindo a liberação de citocinas pró-inflamatória, como fator de necrose tumoral α (TNF- α), IL-1 β , IL-6, IL-8, fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) e fator estimulador de colônias de macrófagos de granulócitos (GM-CSF) (MOORE et al., 2001). A IL-10 também age interferindo na apresentação de antígenos, reduzindo a expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC)-II. (DE WAAL MALEFYT et al., 1991). Além disso, IL-10 suprime a ação de citocinas, como IL-12 e IL-23, que são imprescindíveis para a diferenciação de células T CD4 +. (D'ANDREA et al., 1993), (SCHUETZE et al., 2005). Da mesma maneira, IL-10 pode agir

diretamente nas células T, inibindo assim sua proliferação e produção de citocinas, desta forma não havendo a indução da resposta imune celular. (WANG et al., 2019). Outra hipótese é que essa baixa densidade seria o resultado das células de *Langerhans* ativadas por *T. rubrum* que migraram para os nódulos linfáticos regionais, onde induziriam respostas imunes adaptativas ineficazes, devido IL-10 agir interferindo a proliferação das células T, contudo, prejudicando a apresentação antigênica, onde induziriam respostas imunes adaptativas ineficazes levando à cronicidade da doença.

A técnica de IHQ possui certas restrições inerentes, como a preparação profissional de quem realiza a técnica e a alta variabilidade inter-observadora, a qual necessita de profissionais altamente qualificados para a análise das marcações teciduais, pois deve haver concordância dos resultados por todos os patologistas que realizaram as análises. (TAN et al., 2020), (VARGA et al., 2012). Mesmo diante das inerências da técnica de IHQ e do limitado número de pacientes e marcadores de superfície empregados, em resumo, mostramos, neste trabalho, que a infecção por *T. rubrum* é predominantemente localizada na epiderme e que a diminuição do número de CL resultaria em uma apresentação de antígeno defeituosa; conseqüentemente, não haveria uma resposta imunológica efetiva, o que possivelmente poderia conduzir a um quadro de cronicidade ou de recorrência da micose. Além disto, foi possível notar que o equilíbrio entre as citocinas IL-10 e TNF- α limita o dano inflamatório do hospedeiro, favorecendo o desenvolvimento de uma leve patologia que limitaria a região da derme. A compreensão do ambiente imunológico nas lesões pode ser um ponto de partida interessante para a identificação de alvos terapêuticos específicos.

7 CONCLUSÃO

Baseados nesses estudos, podemos concluir que a infecção por *T. rubrum* é predominantemente localizada na epiderme e que a diminuição da expressão do receptor de CD1a+ (células de *Langerhans*) nas lesões de pele de pacientes com dermatofitose pode resultar em uma apresentação de antígeno defeituosa, apontando para um possível mecanismo de cronicidade ou recorrência dessa micose. Além disso, também concluímos que o equilíbrio entre as citocinas IL-10 e TNF- α limita o dano inflamatório do hospedeiro, favorecendo o desenvolvimento de uma leve patologia que pouparia a região da derme.

8 REFERÊNCIAS

ALESCI, A. et al. Marking vertebrates langerhans cells, from fish to mammals. **Acta Histochemica**, v. 122, n. 7, p. 151622, out. 2020.

ALVES DE MEDEIROS, A. K. et al. Chronic and Invasive Fungal Infections in a Family with CARD9 Deficiency. **Journal of Clinical Immunology**, v. 36, n. 3, p. 204–209, abr. 2016.

ALY, R. et al. Epidemiology of tinea capitis. **Medical Mycology**, v. 38 Suppl 1, p. 183–188, 2000.

BAE, J. M. et al. Prevalence of Common Skin Diseases and Their Associated Factors among Military Personnel in Korea: A Cross-sectional Study. **Journal of Korean Medical Science**, v. 27, n. 10, p. 1248–1254, out. 2012.

BALAKUMAR, S. et al. Epidemiology of dermatophytosis in and around Tiruchirapalli, Tamilnadu, India. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, n. 4, p. 286–289, 1 ago. 2012.

BARONI, A. et al. Toll-like receptor 2 (TLR2) mediates intracellular signalling in human keratinocytes in response to *Malassezia furfur*. **Archives of Dermatological Research**, v. 297, n. 7, p. 280–288, jan. 2006.

BAUMGARDNER, D. J. Fungal Infections From Human and Animal Contact. **Journal of Patient-Centered Research and Reviews**, v. 4, n. 2, p. 78–89, 25 abr. 2017.

BHATIA, V. K.; SHARMA, P. C. Epidemiological studies on Dermatophytosis in human patients in Himachal Pradesh, India. **SpringerPlus**, v. 3, 9 mar. 2014.

BLUTFIELD, M. S. et al. The Immunologic Response to *Trichophyton Rubrum* in Lower Extremity Fungal Infections. **Journal of Fungi**, v. 1, n. 2, p. 130–137, 17 jul. 2015.

BONGOMIN, F. et al. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 4, 18 out. 2017.

BORGHI, M. et al. Antifungal Th Immunity: Growing up in Family. **Frontiers in Immunology**, v. 5, 15 out. 2014.

BOURGEOIS, C.; KUCHLER, K. Fungal pathogens—a sweet and sour treat for toll-like receptors. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, 22 nov. 2012.

BRANDI, G. et al. Swimming pools and fungi: an environmental epidemiology survey in Italian indoor swimming facilities. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 17, n. 3, p. 197–206, jun. 2007.

BRASCH, J. Current knowledge of host response in human tinea. **Mycoses**, v. 52, n. 4, p. 304–312, jul. 2009.

BRASCH, J. Pathogenesis of tinea. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG**, v. 8, n. 10, p. 780–786, out. 2010.

BURSTEIN, V. L. et al. IL-17–Mediated Immunity Controls Skin Infection and T Helper 1 Response during Experimental *Microsporum canis* Dermatophytosis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 138, n. 8, p. 1744–1753, 1 ago. 2018.

CAMILLI, G. et al. Programmed cell death: central player in fungal infections. **Trends in cell biology**, v. 31, n. 3, p. 179–196, mar. 2021.

CAMPOS, M. R. M. et al. Stimulation, inhibition and death of macrophages infected with *Trichophyton rubrum*. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 2, p. 372–379, fev. 2006.

CANAVAN, T. N.; ELEWSKI, B. E. Identifying Signs of Tinea Pedis: A Key to Understanding Clinical Variables. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 14, n. 10 Suppl, p. s42-47, out. 2015.

CARNEIRO, F. R. O. et al. Tissue immunostaining for factor XIIIa in dermal dendrocytes of pityriasis alba skin lesions. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 89, n. 2, p. 245–249, 2014.

CELESTRINO, G. A. et al. *Trichophyton rubrum* Elicits Phagocytic and Pro-inflammatory Responses in Human Monocytes Through Toll-Like Receptor 2. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 21 nov. 2019.

CHAKRAVARTI, A.; ALLAEYS, I.; POUBELLE, P. E. Neutrophile et immunité - Est-ce inné ou acquis ? **médecine/sciences**, v. 23, n. 10, p. 862–867, 1 out. 2007.

CHISTIYAKOV, D. A. et al. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. **Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology**, v. 97, n. 1, p. 4–13, jan. 2017.

CONTI, H. R.; GAFFEN, S. L. IL-17-mediated immunity to the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 195, n. 3, p. 780–788, 1 ago. 2015.

CRIADO, P. R. et al. Superficial mycosis and the immune response elements. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 726–731, ago. 2011.

CROME, S. Q.; WANG, A. Y.; LEVINGS, M. K. Translational Mini-Review Series on Th17 Cells: Function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 159, n. 2, p. 109–119, fev. 2010.

D'ANDREA, A. et al. Interleukin 10 (IL-10) inhibits human lymphocyte interferon gamma-production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/IL-12 synthesis in accessory cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 178, n. 3, p. 1041–1048, 1 set. 1993.

DE OLIVEIRA, C. B. et al. TOLL-LIKE RECEPTORS (TLR) 2 AND 4 EXPRESSION OF KERATINOCYTES FROM PATIENTS WITH LOCALIZED AND DISSEMINATED DERMATOPHYTOSIS. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 1, p. 57–61, 2015.

DE WAAL MALEFYT, R. et al. Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 174, n. 4, p. 915–924, 1 out. 1991.

DEGREEF, H. Clinical forms of dermatophytosis (ringworm infection). **Mycopathologia**, v. 166, n. 5–6, p. 257–265, dez. 2008.

DREWNIAK, A. et al. Invasive fungal infection and impaired neutrophil killing in human CARD9 deficiency. **Blood**, v. 121, n. 13, p. 2385–2392, 28 mar. 2013.

DUEK, L. et al. The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. **The Journal of Infection**, v. 48, n. 2, p. 175–180, fev. 2004.

DUPONT, B. [Use of topical antifungal agents]. **Therapie**, v. 61, n. 3, p. 251–254, jun. 2006.

ELIAS, A. N.; NANDA, V. S.; BARR, R. J. CD1a expression in psoriatic skin following treatment with propylthiouracil, an antithyroid thioureylene. **BMC Dermatology**, v. 3, p. 3, 3 jul. 2003.

EPELMAN, S.; LAVINE, K. J.; RANDOLPH, G. J. Origin and functions of tissue macrophages. **Immunity**, v. 41, n. 1, p. 21–35, 17 jul. 2014.

ERRICHETTI, E.; STINCO, G. Dermoscopy in tinea manuum. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 93, n. 3, p. 447–448, 2018.

ESSANDOH, K. et al. MiRNA-Mediated Macrophage Polarization and Its Potential Role in the Regulation of Inflammatory Response. **Shock (Augusta, Ga.)**, v. 46, n. 2, p. 122–131, ago. 2016.

GILBERT, A. S.; WHEELER, R. T.; MAY, R. C. Fungal Pathogens: Survival and Replication within Macrophages. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 7, p. a019661, 10 nov. 2014.

GRUMACH, A. S. et al. A homozygous CARD9 mutation in a Brazilian patient with deep dermatophytosis. **Journal of Clinical Immunology**, v. 35, n. 5, p. 486–490, jul. 2015.

GÜMRAL, R. et al. The Use of Albino Adult Hair and Blond Prepubertal Hair Yields Equivalent Results in an In Vitro Hair Perforation Test to Differentiate Between Different Dermatophytic Fungi. **Mycopathologia**, v. 176, n. 1, p. 23–31, 1 ago. 2013.

GUPTA, A. K.; CHAUDHRY, M.; ELEWSKI, B. Tinea corporis, tinea cruris, tinea nigra, and piedra. **Dermatologic Clinics**, v. 21, n. 3, p. 395–400, v, jul. 2003.

GUPTA, A. K.; RYDER, J. E.; SUMMERBELL, R. C. Onychomycosis: classification and diagnosis. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 3, n. 1, p. 51–56, fev. 2004.

HAINER, B. L. Dermatophyte infections. **American Family Physician**, v. 67, n. 1, p. 101–108, 1 jan. 2003a.

HAINER, B. L. Dermatophyte infections. **American Family Physician**, v. 67, n. 1, p. 101–108, 1 jan. 2003b.

HATINGUAIS, R.; WILLMENT, J. A.; BROWN, G. D. PAMPs of the Fungal Cell Wall and Mammalian PRRs. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 425, p. 187–223, 2020.

HAVLICKOVA, B.; CZAIKA, V. A.; FRIEDRICH, M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. **Mycoses**, v. 51 Suppl 4, p. 2–15, set. 2008.

HAY, R. J. Tinea Capitis: Current Status. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1, p. 87–93, 2017.

HEINEN, M.-P. et al. Are Th17 Cells Playing a Role in Immunity to Dermatophytosis? **Mycopathologia**, v. 182, n. 1–2, p. 251–261, fev. 2017.

HEINEN, M.-P. et al. Th1 and Th17 Immune Responses Act Complementarily to Optimally Control Superficial Dermatophytosis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 139, n. 3, p. 626–637, 1 mar. 2019.

HSU, S. M.; RAINE, L.; FANGER, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society**, v. 29, n. 4, p. 577–580, abr. 1981.

IDRISS, H. T.; NAISMITH, J. H. TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). **Microscopy Research and Technique**, v. 50, n. 3, p. 184–195, 1 ago. 2000a.

IDRISS, H. T.; NAISMITH, J. H. TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). **Microscopy Research and Technique**, v. 50, n. 3, p. 184–195, 1 ago. 2000b.

IORIO, R. et al. Dermatophytoses in cats and humans in central Italy: epidemiological aspects. **Mycoses**, v. 50, n. 6, p. 491–495, nov. 2007.

JABBOUR, M. N. et al. The immune microenvironment in cutaneous leishmaniasis. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV**, v. 29, n. 6, p. 1170–1179, jun. 2015.

KANG, K. et al. IL-12 synthesis by human Langerhans cells. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 156, n. 4, p. 1402–1407, 15 fev. 1996.

KARP, C. L. Guilt by intimate association: What makes an allergen an allergen? **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 125, n. 5, p. 955–962, maio 2010.

KAUFMAN, G. et al. Infection stages of the dermatophyte pathogen *Trichophyton*: microscopic characterization and proteolytic enzymes. **Medical Mycology**, v. 45, n. 2, p. 149–155, 1 mar. 2007.

KAUSHIK, N.; PUJALTE, G. G. A.; REESE, S. T. Superficial Fungal Infections. **Primary Care**, v. 42, n. 4, p. 501–516, dez. 2015.

KELLY, B.; O'NEILL, L. A. Metabolic reprogramming in macrophages and dendritic cells in innate immunity. **Cell Research**, v. 25, n. 7, p. 771–784, jul. 2015.

LAI, Y. et al. The Antimicrobial Protein REG3A Regulates Keratinocyte Proliferation and Differentiation after Skin Injury. **Immunity**, v. 37, n. 1, 27 jul. 2012.

LAMBKIN, I.; HAMILTON, A. J.; HAY, R. J. Partial purification and characterization of a 235,000M(r) extracellular proteinase from *Trichophyton rubrum*. **Mycoses**, v. 37, n. 3–4, p. 85–92, abr. 1994.

LANTERNIER, F. et al. Deep Dermatophytosis and Inherited CARD9 Deficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 18, p. 1704–1714, 31 out. 2013.

LEIBOVICI, V. et al. Imbalance of immune responses in patients with chronic and widespread fungal skin infection. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 20, n. 5, p. 390–394, set. 1995.

LIANG, P. et al. CARD9 Deficiencies Linked to Impaired Neutrophil Functions Against *Phialophora verrucosa*. **Mycopathologia**, v. 179, n. 5, p. 347–357, 1 jun. 2015.

LIEBELT, B. D.; FINOCCHIARO, G.; HEIMBERGER, A. B. Principles of immunotherapy. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 134, p. 163–181, 2016.

LIKNESS, L. P. Common dermatologic infections in athletes and return-to-play guidelines. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v. 111, n. 6, p. 373–379, jun. 2011.

LÓPEZ-GARCÍA, B.; LEE, P. H. A.; GALLO, R. L. Expression and potential function of cathelicidin antimicrobial peptides in dermatophytosis and tinea

versicolor. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 57, n. 5, p. 877–882, 1 maio 2006.

LUCKHEERAM, R. V. et al. CD4+T Cells: Differentiation and Functions. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2012, 2012.

MARTINEZ-ROSSI, N. M.; PERES, N. T. A.; ROSSI, A. Pathogenesis of Dermatophytosis: Sensing the Host Tissue. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1–2, p. 215–227, fev. 2017.

MATEJUK, A. Skin Immunity. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 66, n. 1, p. 45–54, 2018.

MATSUI, T.; AMAGAI, M. Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum. **International Immunology**, v. 27, n. 6, p. 269–280, jun. 2015.

MENDEZ-TOVAR, L. J. Pathogenesis of dermatophytosis and tinea versicolor. **Clinics in Dermatology**, v. 28, n. 2, p. 185–189, 4 mar. 2010.

MERCER, D. K.; STEWART, C. S. Keratin hydrolysis by dermatophytes. **Medical Mycology**, v. 57, n. 1, p. 13–22, 1 jan. 2019.

MIGNON, B. et al. Immunization and dermatophytes. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 134–140, abr. 2008.

MIOSSEC, P.; KOLLS, J. K. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v. 11, n. 10, p. 763–776, out. 2012.

MONOD, M. Secreted proteases from dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5–6, p. 285–294, dez. 2008.

MONTAGNOLI, C. et al. The plasticity of dendritic cells at the host/fungal interface. **Immunobiology**, v. 204, n. 5, p. 582–589, dez. 2001.

MOORE, K. W. et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annual Review of Immunology**, v. 19, p. 683–765, 2001.

MUTYAMBIZI, K.; BERGER, C. L.; EDELSON, R. L. The balance between immunity and tolerance: The role of Langerhans cells. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**, v. 66, n. 5, p. 831–840, mar. 2009.

NENOFF, P. et al. Mycology – an update. Part 1: Dermatomycoses: Causative agents, epidemiology and pathogenesis. **JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v. 12, n. 3, p. 188–210, 2014.

NENOFF, P.; HERRMANN, J.; GRÄSER, Y. Trichophyton mentagrophytes sive interdigitale? A dermatophyte in the course of time. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG**, v. 5, n. 3, p. 198–202, mar. 2007.

NETEA, M. G. et al. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 67–78, jan. 2008.

OLIVEIRA, C. B. DE et al. TOLL-LIKE RECEPTORS (TLR) 2 AND 4 EXPRESSION OF KERATINOCYTES FROM PATIENTS WITH LOCALIZED AND DISSEMINATED DERMATOPHYTOSIS. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 1, p. 57–61, fev. 2015.

OUYANG, W.; O'GARRA, A. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 871–891, 16 abr. 2019.

PANACKAL, A. A.; HALPERN, E. F.; WATSON, A. J. Cutaneous fungal infections in the United States: Analysis of the National Ambulatory Medical Care Survey (NAMCS) and National Hospital Ambulatory Medical Care Survey (NHAMCS), 1995-2004. **International Journal of Dermatology**, v. 48, n. 7, p. 704–712, jul. 2009.

PANTHAGANI, A. P.; TIDMAN, M. J. Diagnosis directs treatment in fungal infections of the skin. **The Practitioner**, v. 259, n. 1786, p. 25–29, 3, out. 2015.

PARAGH, L.; TÖRÖCSIK, D. Factor XIII Subunit A in the Skin: Applications in Diagnosis and Treatment. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 3571861, 2017.

PARYUNI, A. D.; INDARJULIANTO, S.; WIDYARINI, S. Dermatophytosis in companion animals: A review. **Veterinary World**, v. 13, n. 6, p. 1174–1181, jun. 2020.

Pathogenesis of tinea - Brasch - 2010 - JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft - Wiley Online Library. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1610-0387.2010.07481.x>>. Acesso em: 6 dez. 2021.

PERES, N. T. DE A. et al. Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657–667, out. 2010.

PETRUCELLI, M. F. et al. Epidemiology and Diagnostic Perspectives of Dermatophytoses. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, 23 nov. 2020.

PIRES, C. A. A. et al. Clinical, epidemiological, and therapeutic profile of dermatophytosis. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, v. 89, n. 2, p. 259–264, abr. 2014.

PLATO, A.; HARDISON, S. E.; BROWN, G. D. Pattern recognition receptors in antifungal immunity. **Seminars in Immunopathology**, v. 37, n. 2, p. 97–106, 2015.

REIS, A. P. C. et al. In situ immune response in human dermatophytosis: possible role of Langerhans cells (CD1a+) as a risk factor for dermatophyte infection. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, [s.d.].

RICHARDSON, J. P.; MOYES, D. L. Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. **Virulence**, v. 6, n. 4, p. 327–337, 21 jan. 2015.

RIERA ROMO, M.; PÉREZ-MARTÍNEZ, D.; CASTILLO FERRER, C. Innate immunity in vertebrates: an overview. **Immunology**, v. 148, n. 2, p. 125–139, jun. 2016.

RIVAS, L.; MÜHLHAUSER, M. [Trichophyton mentagrophytes complex]. **Revista Chilena De Infectologia: Organo Oficial De La Sociedad Chilena De Infectologia**, v. 32, n. 3, p. 319–320, jun. 2015.

ROBERT, R.; PIHET, M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5–6, p. 295–306, dez. 2008.

ROMANI, L. Immunity to fungal infections. **Nature Reviews. Immunology**, v. 4, n. 1, p. 1–23, jan. 2004.

ROMANI, L. Immunity to fungal infections. **Nature Reviews. Immunology**, v. 11, n. 4, p. 275–288, abr. 2011.

ROUZAUD, C. et al. Severe Dermatophytosis and Acquired or Innate Immunodeficiency: A Review. **Journal of Fungi**, v. 2, n. 1, 31 dez. 2015.

RUTZ, S.; OUYANG, W. Regulation of Interleukin-10 Expression. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 941, p. 89–116, 2016.

SAHOO, A. K.; MAHAJAN, R. Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 7, n. 2, p. 77–86, 2016.

SANTIAGO, K. et al. Monocyte-Derived Dendritic Cells from Patients with Dermatophytosis Restrict the Growth of *Trichophyton rubrum* and Induce CD4-T Cell Activation. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 5 nov. 2014.

SARAIVA, M.; O'GARRA, A. The regulation of IL-10 production by immune cells. **Nature Reviews. Immunology**, v. 10, n. 3, p. 170–181, mar. 2010.

SATO, N.; TAGAMI, H. Severe measles in a young female patient with chronic, generalized *Trichophyton rubrum* infection showing type 2 helper T cell-dominant immunologic reactivity. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 48, n. 5, p. S43–S46, 1 maio 2003.

SCHAUFUSS, P.; STELLER, U. Haemolytic activities of *Trichophyton* species. **Medical Mycology**, v. 41, n. 6, p. 511–516, dez. 2003.

SCHOTTELIUS, A. J. G. et al. Biology of tumor necrosis factor- α – implications for psoriasis. **Experimental Dermatology**, v. 13, n. 4, p. 193–222, 2004.

SCHUETZE, N. et al. IL-12 family members: differential kinetics of their TLR4-mediated induction by *Salmonella enteritidis* and the impact of IL-10 in bone marrow-derived macrophages. **International Immunology**, v. 17, n. 5, p. 649–659, maio 2005.

SEEBACHER, C.; BOUCHARA, J.-P.; MIGNON, B. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5–6, p. 335–352, dez. 2008.

SHADOMY, H. J.; PHILPOT, C. M. Utilization of Standard Laboratory Methods in the Laboratory Diagnosis of Problem Dermatophytes. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 74, n. 2, p. 197–201, 1 ago. 1980.

SHIMAMURA, T.; KUBOTA, N.; SHIBUYA, K. Animal Model of Dermatophytosis. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, 2012.

SHIOKAWA, M.; YAMASAKI, S.; SAIJO, S. C-type lectin receptors in anti-fungal immunity. **Current Opinion in Microbiology**, Host-microbe interactions: fungi * Host-microbe interactions: parasites. v. 40, p. 123–130, 1 dez. 2017.

SICA, A.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 3, p. 787–795, mar. 2012.

SIELING, P. A. et al. CD1 expression by dendritic cells in human leprosy lesions: correlation with effective host immunity. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 162, n. 3, p. 1851–1858, 1 fev. 1999.

SILVESTRE-ROIG, C. et al. Neutrophil Diversity in Health and Disease. **Trends in Immunology**, v. 40, n. 7, p. 565–583, jul. 2019.

SINGH, S.; BEENA, P. M. Profile of dermatophyte infections in Baroda. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 69, n. 4, p. 281–283, ago. 2003.

SOTTO, M. N. et al. Factor XIIIa+ dermal dendrocyte parasitism in American tegumentary leishmaniasis skin lesions. **The American Journal of Dermatopathology**, v. 32, n. 1, p. 15–18, fev. 2010.

Stop neglecting fungi. **Nature Microbiology**, v. 2, p. 17120, 25 jul. 2017.

TAINWALA, R.; SHARMA, Y. Pathogenesis of dermatophytoses. **Indian Journal of Dermatology**, v. 56, n. 3, p. 259–261, maio 2011.

TAKEUCHI, O.; AKIRA, S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 805–820, 19 mar. 2010.

TAN, W. C. C. et al. Overview of multiplex immunohistochemistry/immunofluorescence techniques in the era of cancer immunotherapy. **Cancer Communications**, v. 40, n. 4, p. 135–153, 17 abr. 2020.

TAPLIN, D. Dermatophytosis in Vietnam. **Cutis**, v. 67, n. 5 Suppl, p. 19–20, maio 2001.

TEKLEBIRHAN, G.; BITEW, A. Prevalence of Dermatophytic Infection and the Spectrum of Dermatophytes in Patients Attending a Tertiary Hospital in Addis Ababa, Ethiopia. **International Journal of Microbiology**, v. 2015, p. 653419, 2015.

TWU, Y.-C.; TEH, H.-S. The ThPOK transcription factor differentially affects the development and function of self-specific CD8⁺ T cells and regulatory CD4⁺ T cells. **Immunology**, v. 141, n. 3, p. 431–445, mar. 2014.

UVERSKY, V. N. et al. Functionality of intrinsic disorder in tumor necrosis factor- α and its receptors. **The FEBS Journal**, v. 284, n. 21, p. 3589–3618, 2017.

VAEZI, A. et al. Frequency and Geographic Distribution of CARD9 Mutations in Patients With Severe Fungal Infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

VAN REES, D. J. et al. Immunoreceptors on neutrophils. **Seminars in Immunology**, v. 28, n. 2, p. 94–108, abr. 2016.

VARGA, Z. et al. How Reliable Is Ki-67 Immunohistochemistry in Grade 2 Breast Carcinomas? A QA Study of the Swiss Working Group of Breast- and Gynecopathologists. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e37379, 25 maio 2012.

VAUTIER, S.; MACCALLUM, D. M.; BROWN, G. D. C-type lectin receptors and cytokines in fungal immunity. **Cytokine**, v. 58, n. 1, p. 89–99, abr. 2012.

VAUTIER, S.; SOUSA, M. DA G.; BROWN, G. D. C-type lectins, fungi and Th17 responses. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 21, n. 6, p. 405–412, dez. 2010.

VERMA, A. et al. Adaptive Immunity to Fungi. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 3, mar. 2015.

VERMA, A. H.; GAFFEN, S. L. Dermatophyte Immune Memory is Only Skin-Deep. **The Journal of investigative dermatology**, v. 139, n. 3, p. 517–519, mar. 2019.

WANG, X. et al. Targeting IL-10 Family Cytokines for the Treatment of Human Diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 11, n. 2, p. a028548, fev. 2019.

WEITZMAN, I.; PADHYE, A. A. Dermatophytes: gross and microscopic. **Dermatologic Clinics**, v. 14, n. 1, p. 9–22, jan. 1996.

WEITZMAN, I.; SUMMERBELL, R. C. The dermatophytes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, n. 2, p. 240–259, abr. 1995.

WHITE, T. C. et al. Generating and Testing Molecular Hypotheses in the Dermatophytes. **Eukaryotic Cell**, v. 7, n. 8, p. 1238–1245, ago. 2008.

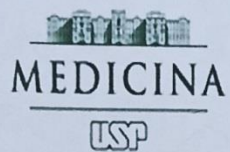
WILLS-KARP, M. et al. New Insights Into Innate Immune Mechanisms Underlying Allergenicity. **Mucosal immunology**, v. 3, n. 2, p. 104–110, mar. 2010.

YOSHIKAWA, F. S. et al. A dectina-1 e a dectina-2 promovem o controle do patógeno fúngico *Trichophyton rubrum* independentemente da IL-17 e imunidade adaptativa na dermatofitose profunda experimental. **Innate Immunity**, v. 22, n. 5, p. 316–324, 1 jul. 2016.

ZHANG, X.; YIN, M.; ZHANG, L. Keratin 6, 16 and 17—Critical Barrier Alarmin Molecules in Skin Wounds and Psoriasis. **Cells**, v. 8, n. 8, 1 ago. 2019.

ZHU, J. T Helper Cell Differentiation, Heterogeneity, and Plasticity. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 10, n. 10, out. 2018.

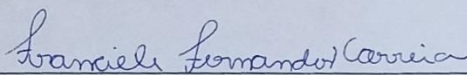
ZHU, J.; YAMANE, H.; PAUL, W. E. Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations. **Annual review of immunology**, v. 28, p. 445–489, 2010.



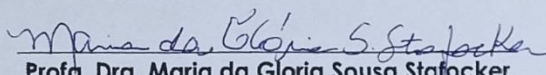
DECLARAÇÃO

Nesta data, declaro após o julgamento da **Dissertação de Mestrado** da aluna **FRANCIELE FERNANDES CORREIA** do Programa de Pós-graduação em **Dermatologia**, que haverá correção no mencionado trabalho. Sendo agora entregue a versão corrigida.

São Paulo, 30 de Agosto de 2022.



Franciele Fernandes Correia
(aluna)



Profa. Dra. Maria da Glória Sousa Stafocker
(orientadora)