



Imunologia da paracoccidioomicose *

Immunology of paracoccidioomycosis

Maria Rita Parise Fortes¹
Cilmery Suemi Kurokawa¹
Sílvio Alencar Marques²

Hélio Amante Miot²
Mariângela Esther Alencar Marques³

Resumo: Paracoccidioomicose é a mais prevalente micose sistêmica na América Latina, em pacientes imunocompetentes, sendo causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidiooides brasiliensis*. O estudo da sua imunopatogênese é importante na compreensão de aspectos relacionados à história natural, como a imunidade protetora, e à relação entre hospedeiro e parasita, favorecendo o entendimento clínico e a elaboração de estratégias terapêuticas. O polimorfismo clínico da doença depende, em última análise, do perfil de resposta imune que prevalece expresso pelo padrão de citocinas teciduais e circulantes, além da qualidade da resposta imune desencadeada, que levam ao dano tecidual.

Palavras-chave: Alergia e imunologia; Citocinas; Paracoccidiooides; Paracoccidioomicose

Abstract: Paracoccidioomycosis is the most prevalent systemic mycosis in Latin America, among immunocompetent patients. It's caused by the dimorphic fungus *Paracoccidiooides brasiliensis*. Investigations regarding its immunopathogenesis are very important in the understanding of aspects related to natural history, as the protective immunity, and the relationship between host and parasite; also favoring the knowledge about clinical patterns and the elaboration of therapeutic strategies. The disease clinical polymorphism depends, at least, of the immune response profile according to the tissue and blood released cytokines, resulting in tissue damage.

Keywords: Allergy and immunology; Cytokines; Paracoccidiooides; Paracoccidioomycosis

INTRODUÇÃO

Paracoccidioomicose (PCM) é micose sistêmica humana, cujo agente etiológico é o *Paracoccidiooides brasiliensis*, fungo termodimórfico (Figura 1) que promove uma doença inflamatória crônica granulomatosa.¹

A PCM é endêmica na América Latina, tendo maior incidência no Brasil, e diagnosticada com maior frequência no Estado de São Paulo. A real incidência não é conhecida, porém, nas áreas endêmicas, acredita-se na ocorrência de 3 casos por 100 mil habitantes.^{2,3}

A PCM infecção não privilegia gênero ou etnia; já a PCM doença afeta principalmente trabalhadores rurais adultos, do sexo masculino, em contato constante com a vegetação e solo, no período mais produtivo de suas vidas, o que implica em importante repercussão econômica para pacientes e dependentes.^{1,2}

Trabalhadores rurais, geralmente, estão inseridos em estratos sociais de menor nível socioeconômico, têm higiene menos cuidadosa e apresentam maior grau de desnutrição. Além disso, tabagismo e consumo

Aprovado pelo Conselho Editorial e aceito para publicação em 29.04.2010.

* Trabalho realizado no Departamento de Dermatologia e Radioterapia da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (FMB-Unesp), Botucatu (SP), Brasil.

Conflito de interesse: Nenhum / *Conflict of interest: None*
Suporte financeiro: Nenhum / *Financial funding: None*

¹ Doutora em Patologia, Bióloga da FMB-Unesp, Botucatu (SP), Brasil.

² Doutor; professor-assistente do Departamento de Dermatologia e Radioterapia da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (FMB-Unesp) – Botucatu (SP), Brasil.

³ Doutora em Patologia, Professora adjunta do Departamento de Patologia da FMB-Unesp, Botucatu (SP), Brasil.



FIGURA 1: *Paracoccidioides brasiliensis*, forma leveduriforme característica com brotamentos múltiplos em forma de roda de leme. KOH - 400X

abusivo de álcool são hábitos comumente observados nesta população.^{4,5} Estes fatores são considerados condições de risco pré-existentes e exercem papel importante na transformação do estado de infecção para doença manifesta, uma vez que interferem nos mecanismos de defesa do hospedeiro com implicações na qualidade da formação do granuloma.⁶ Da mesma forma, observa-se em indivíduos imunossuprimidos pela infecção pelo HIV/Aids, ou iatrogenicamente, que o fungo adquire comportamento de agente oportunista, com evolução e aspectos clínicos distintos.⁷

A relação entre o *P. brasiliensis* e o meio ambiente ainda não está totalmente esclarecida, mas acredita-se que o micélio seja a forma saprobiótica do fungo na natureza que, sob certas condições, produziria conídios, estruturas de reprodução assexuada e de propagação da espécie. Os conídios, presentes no solo, água e plantas, à temperatura ambiente, são considerados formas infectantes.^{3,8}

O contágio do hospedeiro ocorre mais frequentemente pela inalação de conídios e fragmentos micelianos, que alcançam os bronquíolos terminais e alvéolos pulmonares, onde se transformam em células leveduriformes, produzindo a infecção que pode disseminar-se para os demais tecidos por via linfática e hematogênica. Excepcionalmente, é possível a inoculação traumática do fungo, via tegumentar. O fungo também pode instalar-se na pele e mucosas por inoculação traumática.⁹⁻¹¹

A predominância de homens em relação às mulheres afetadas pela PCM ocorre devido ao possível efeito protetor hormonal, este definido pela presença de receptores para estrógenos na parede do fungo,

capazes de bloquear a transformação de micélios ou conídios à forma leveduriforme infectante.^{12,13} O *Pbrasiliensis* é desprovido de sistemas de mobilidade e desenvolveu evolutivamente características antigênicas para permitir sua adesividade e interação com os tecidos do hospedeiro, impedindo a defesa efetiva e garantindo sua sobrevivência.¹¹ Os mecanismos imunopatológicos pelos quais ocorre a persistência da infecção latente, invasão intravascular e disseminação do fungo pelo organismo não são completamente esclarecidos, apesar de inúmeras pesquisas relativas à fisiopatologia da doença e da biologia do fungo.¹¹

Classificação clínica da PCM

A PCM é classificada de acordo com sua história natural e condições clínicas do paciente nas formas aguda ou subaguda e crônica (Quadro 1). As manifestações clínicas dependem da virulência da cepa infectante do *Pbrasiliensis*, do grau e do tipo de resposta imunológica desencadeada, dos tecidos infectados e, especificamente, de características intrínsecas do seu hospedeiro.^{11,14}

Não se conhecem as manifestações clínicas associadas à PCM infecção. Os resultados evidenciados pelo achado de reação intradérmica positiva à paracoccidioidina, quando de inquéritos epidemiológicos, têm mostrado que, em áreas endêmicas, o índice de infecção pode ser alto quanto a 70% da população pesquisada.⁵ Em contraposição, o número de casos clínicos, com a doença franca, é muito inferior, mostrando que a possibilidade maior é que indivíduos infectados permaneçam como tal, indefinidamente, a não ser que o equilíbrio hospedeiro-parasita seja alterado, permitindo a multiplicação do fungo e a evolução para doença clinicamente manifesta.^{5,14, 15}

1.	Paracoccidioidomicose infecção	
2.	Paracoccidioidomicose doença	
2.1.	Forma Aguda	
2.1.1.		Moderada
2.1.2.		Grave
2.2.	Forma Crônica	
2.2.1.	Unifocal	Leve
		Moderada
		Grave
2.2.2.	Multifocal	Leve
		Moderada
		Grave
3.	Paracoccidioidomicose associada à imunossupressão	
4.	Forma residual (sequela)	

Fonte adaptada: Franco et al., 1987¹⁶

A forma aguda ou subaguda (tipo juvenil) é observada em indivíduos jovens de ambos os sexos. Em geral, desenvolve-se a partir de lesão primária pulmonar não detectada que progride rapidamente com disseminação linfática e hematogênica para órgãos do sistema monocítico-macrofágico, como baço, fígado, linfonodos, ossos e medula óssea, levando à deterioração importante da condição clínica do paciente. Altos títulos de anticorpos específicos e depressão grave da imunidade celular são comumente observados.¹⁶ Os índices de letalidade associados à PCM estão particularmente associados a essa forma clínica.

A forma crônica, também denominada “do adulto”, é a mais comum na prática clínica. Desenvolve-se a partir do complexo primário pulmonar ou da reativação de foco quiescente pulmonar ou metastático. A maior parte dos casos tem início nos pulmões e progride lentamente. Geralmente, é observada em adultos do sexo masculino com mais de 30 anos de idade. Apresenta quadro clínico de duração prolongada, normalmente acima de seis meses de história clínica, e se expressa frequentemente pelo comprometimento pulmonar e tegumentar (cutâneo e/ou mucoso).⁵

As lesões podem permanecer localizadas (subtipo clínico unifocal) ou se disseminar para vários órgãos e sistemas (multifocal), com gravidade variável.¹⁶

Aspectos histológicos das lesões cutâneas

O contato do *P. brasiliensis* com o tecido do hospedeiro desencadeia inicialmente reação inflamatória congestivo-exudativa com afluxo predominante de neutrófilos. Progressivamente, estas células são substituídas por macrófagos, que se dispõem em nódulos frouxos e células gigantes multinucleadas. Com a evolução do processo, são encontradas células epitelioides e, concomitantemente, forma-se halo linfoplasmocitário. Assim, o granuloma da PCM é constituído por arranjo nodular de células epitelioides e células gigantes multinucleadas do tipo Langhans e corpo estranho, muitas contendo fungos. É comum a presença de área central de supuração e de exsudato inflamatório rico em linfócitos, plasmócitos e eosinófilos, permeando ou circundando a reação granulomatosa (Figura 2). Fibrose de intensidade variável é vista, em geral, circundando o granuloma ou áreas de necrose, que vão sendo progressivamente substituídas por tecido fibroso cicatricial.^{6,17}

Estudos experimentais e em humanos sustentam a hipótese de que o granuloma da PCM pode representar uma resposta imune específica do hospedeiro contra o fungo.¹⁸ A evolução do granuloma está relacionada à resposta imune do hospedeiro e aos componentes da parede celular expressos pelo fungo.¹⁹ Os granulomas epitelioides, obtidos de biópsias de pele ou mucosa de pacientes com PCM, são

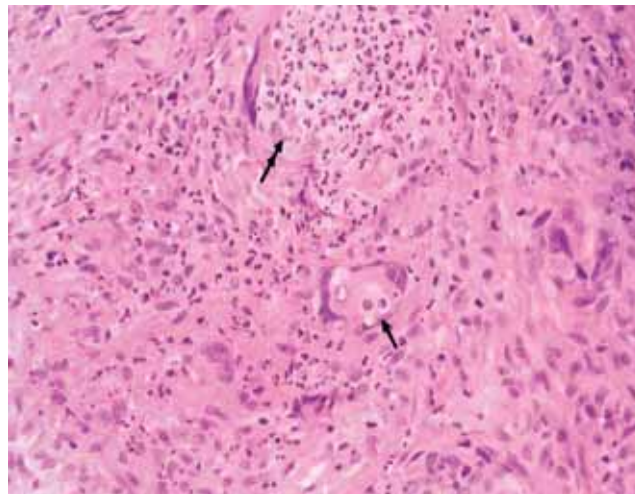


FIGURA 2: Pele. Reação inflamatória crônica e supurativa, apresentando granulomas constituídos por macrófagos, células epitelioides e células gigantes, contendo fungos viáveis em seu interior (seta simples). Observar focos de supuração em meio ao processo granulomatoso epitelióide (seta dupla). HE – 200X

compostos por agrupamento central de células HLA-DR+, representadas por macrófagos e células epitelioides envolvidas por manto periférico de células T com predomínio da população CD4+. Estes achados corroboram a hipótese de que os linfócitos T e as células HLA-DR+ estão ativamente envolvidos no processo de formação do granuloma e na defesa do hospedeiro contra o *P. brasiliensis*.²⁰

Assim, macrófagos e linfócitos T assumem importância central na morfogênese do processo inflamatório e a atuação sinérgica destas células é importante na formação e modulação do granuloma, por meio da produção de citocinas e outros mediadores no sítio inflamatório.^{14, 18, 21}

A configuração morfológica da reação granulomatosa na PCM, baseada no padrão da resposta imunológica, pode ser representada pela configuração de dois polos antagônicos. Em indivíduos com resposta imune celular preservada, observam-se granulomas epitelioides compactos, bem definidos, por vezes confluentes, com poucos fungos e infecção benigna localizada. Nos pacientes que apresentam comprometimento imunológico, a inflamação granulomatosa é desorganizada, com grande número de fungos e granulomas frouxos, mal definidos, com exudação supurativa e áreas de necrose. Ocorrem proliferação e disseminação do fungo, levando à doença generalizada de mau prognóstico.^{5, 21, 22}

Portanto, a reação granulomatosa que ocorre na PCM humana e na experimental representa a mais especializada e eficiente resposta do tecido do hospedeiro na tentativa de bloquear e restringir o fungo, impedindo sua multiplicação e disseminação pelos tecidos.

Lesões cutâneas

O significado clínico das lesões cutâneas depende do seu número, padrão e localização. Lesões múltiplas, do tipo pápulo-acneiformes, sugerem disseminação hematogênica do *P. brasiliensis* e refletem a gravidade da doença. Basicamente, a frequência, o número e a característica das lesões cutâneas são consequências da interação parasita-hospedeiro, incluindo a patogênese das lesões, o sítio envolvido e a duração da doença.⁵

A caracterização dos padrões morfológicos das lesões cutâneas na PCM não é facilmente estabelecida devido ao polimorfismo clínico da doença, à dinâmica de evolução da lesão e também ao critério dermatológico empregado. Entretanto, lesões ulceradas são consideradas as mais prevalentes, podendo apresentar um padrão semiológico característico que é a aparência de úlceras limpas, não infectadas secundariamente e com a presença de pontilhado hemorrágico que imita, assim, a denominada estomatite moriforme (Figura 3), auxiliando o diagnóstico clínico.⁵ As lesões cutâneas são mais frequentes no segmento cefálico e presentes ao redor do nariz e da boca.^{1,5,23}

Formas disseminadas são associadas à resposta imune menos eficiente, ao pior prognóstico e a recidivas mais frequentes, como ocorre nas formas aguda ou subaguda e em formas crônicas graves (Figura 4).

Imunopatogenia da PCM

O estabelecimento da doença, sua disseminação e gravidade dependem de fatores inerentes ao próprio fungo, como sua virulência, composição antigênica, das condições ambientais e, principalmente, dos fato-

res ligados ao hospedeiro de desenvolver uma resposta imune eficaz. No que se refere a este último aspecto, podemos considerar que o *P. brasiliensis* sintetiza antígenos metabólicos que interagem com o sistema imune do hospedeiro, provocando uma resposta imunológica altamente complexa e multifatorial.¹⁴ Estudos clínicos e experimentais têm sugerido a interação entre mecanismos específicos e inespecíficos de defesa na determinação da resistência ao *P. brasiliensis*.^{11,24}

O *P. brasiliensis* apresenta uma complexa estrutura antigênica, com epítomos que se relacionam com a patogenicidade. O principal componente antigênico do *P. brasiliensis* é uma glicoproteína de superfície da parede fúngica com 43 KDa (gp43), um antígeno imunodominante associado ao fator de virulência e/ou escape pelo qual o fungo evade os mecanismos de defesa do hospedeiro e se instala nos tecidos.²⁵ A glicoproteína gp43 apresenta efeitos proteolíticos sobre colágeno, elastina e caseína. Esta digestão de proteínas estruturais parece ter importante papel na instalação do fungo nos tecidos.²⁶

Vários mecanismos da imunidade inata, como ativação das proteínas do sistema-complemento e atividade microbicida das células *natural killer* (NK) e dos fagócitos, constituem forma significativa no combate aos fungos patogênicos. Células da resposta inata - células *natural killer* (NK), neutrófilos, monócitos e macrófagos - desempenham papel central na resistência ao *P. brasiliensis*. A participação destas células na reação inflamatória e na atividade fungicida são induzidas pelo fungo e por citocinas produzidas pelas células durante sua interação com fagócitos.²⁷⁻²⁹ O



FIGURA 3: Úlceras na mucosa labial e gengiva, apresentando fundo limpo com pontilhado hemorrágico (estomatite moriforme)



FIGURA 4: Paciente portador de PCM forma aguda, com linfonodo pré-auricular e cervical com abscesso e fistula

papel das células NK foi estudado no sangue periférico de pacientes com a PCM e no modelo experimental do hamster. Estas células apresentam atividade citotóxica diminuída quando de PCM doença, sugerindo distúrbio imunológico associado à depressão da imunidade celular tanto em pacientes quanto no modelo experimental.³⁰

A interação entre moléculas de superfície do parasita e receptores homólogos presentes na membrana celular das células fagocíticas, incluindo os neutrófilos, modula a fagocitose e a ativação dessas células. Entre esses receptores destacam-se os receptores semelhantes a Toll (TLRs, *Toll-like receptors*) e receptores de lecitina tipo C- Like (CLR), que são proteínas transmembrânicas que interagem com estruturas moleculares de patógenos, ativando as células fagocitárias. Os TLRs são capazes de reconhecer porções moleculares associadas ao patógeno (PAMPs) e induzir a sinais que resultam na expressão de genes da resposta imune inata e produção de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias que regulam a resposta imune adaptativa.³¹

Apesar dos TLRs promoverem resposta imunológica contra agentes infecciosos, modelos experimentais sugerem que leveduras do fungo penetram em macrófagos do hospedeiro através dos receptores TLR2 e TLR4. A interação entre o TLR e o *P. brasiliensis* é considerada um mecanismo de escape desenvolvido pelo fungo para garantir sua sobrevivência dentro das células fagocitárias.³²

Foi demonstrada a participação de TLR2, TLR4 e dectin-1 no reconhecimento e internalização do *P. brasiliensis* com consequente ativação de neutrófilos. A cepa menos virulenta do fungo foi reconhecida preferencialmente por TLR2 e detectin-1, com produção balanceada de TNF- α e IL-10. No entanto, a cepa mais virulenta induziu somente à produção de TNF- α . Os autores sugerem que a cepa menos virulenta desencadearia uma resposta mais controlada, menos danosa para o hospedeiro por meio da indução da produção de IL-10.³³

Polimorfonucleares (PMN) humanos estão presentes em grande quantidade nos tecidos parasitados e apresentam importante papel na atividade fungicida contra o *P. brasiliensis* através dos mecanismos dependentes dos metabólitos de oxigênio como H₂O₂ e ânion superóxido, quando estas células são estimuladas com IFN- γ , TNF- α , GM-CSF e IL-15.^{34,35} Os PMN têm papel essencial nos estágios iniciais da infecção, conferindo resistência ao hospedeiro e contribuindo para o desenvolvimento de resposta imune efetiva contra o *P. brasiliensis*. PMN ainda produzem grandes quantidades de prostaglandinas E2 e leucotrienos, perpetuando o edema e o processo inflamatório, porém, minimizando a capacidade de dano celular causado pelos monócitos.

No entanto, quando desafiados com *P. brasiliensis in vitro*, os PMN produzem altos níveis de IL-8, desencadeando processo antiapoptótico dos neutrófilos, favorecendo a multiplicação e sobrevivência do fungo no interior da célula fagocitária.³⁶ Da mesma forma, a produção de óxido nítrico (NO) pelos monócitos, estimulados pelo *P. brasiliensis*, parece exercer efeito modulador negativo na formação de granulomas e positivo na disseminação fúngica, levando à disseminação da PCM.³⁷

Estudos experimentais e em pacientes com PCM indicam que a resistência ao fungo é dependente das atividades de células T Helper e macrófagos/monócitos, mediadas por IFN- γ e TNF- α .²⁷ O efeito sinérgico entre estas duas citocinas é essencial para a resistência do hospedeiro e eficiente atividade fungicida contra o *P. brasiliensis*.^{27,28} Ainda durante a evolução da infecção, os linfócitos CD4 Th1 sintetizam citocinas, como IFN- γ , TNF- α e IL-12, que conferem proteção ao hospedeiro, evitando a disseminação do fungo.^{14,18,27,38}

O TNF- α atua sobre a função macrofágica na PCM humana e experimental, modulando e amplificando a resposta imune, promovendo reação granulomatosa e atividade fungicida mediada por macrófagos.^{27,39} A ausência desta citocina resulta no comprometimento dos mecanismos de defesa associado à incapacidade de desenvolver reações granulomatosas, eficientes para conter a multiplicação fúngica.⁴⁰

O aspecto heterogêneo das lesões observadas no tegumento dos pacientes com PCM está, provavelmente, associado aos eventos imunopatológicos que se estabelecem durante o contato do *P. brasiliensis* com o tecido do hospedeiro. A interação parasita-hospedeiro estimula a produção de citocinas como o TNF- α pelas células fagocíticas, levando à lesão tecidual através da produção exacerbada de metabólitos intermediários do oxigênio, colagenases e ativação das moléculas de adesão e proliferação fibroblástica. Assim, na PCM, tal como ocorre em outras doenças granulomatosas, como tuberculose,⁴¹ esquistossomose⁴² e hanseníase,⁴³ o TNF- α parece estar envolvido na proteção contra agentes infecciosos através da indução da atividade fungicida e microbicida de fagócitos mononucleares e macrófagos teciduais, na ativação de fibroblastos, na iniciação e manutenção da resposta granulomatosa, na expressão de moléculas de adesão, como também na imunopatogênese tecidual.^{18,27,39}

Para corroborar a importância do papel mediador do TNF- α na formação de resposta imune efetiva contra patógenos intracelulares, cite-se a terapêutica imunobiológica de doenças inflamatórias com imunoglobulinas anti-TNF- α , que promove aumento no risco do desenvolvimento de formas graves de doenças infecciosas.⁴⁴

Nas lesões granulomatosas de pele e mucosa de pacientes com PCM, a expressão de TNF- α distribui-se

difusamente na derme, expressa-se nas células mononucleares do infiltrado inflamatório ao redor do granuloma e em ceratinócitos, indicando o envolvimento desta citocina na gênese e manutenção de granulomas.¹⁸ Grande número de células dendríticas expressando TNF- α dispõe-se ao redor de granulomas, sugerindo participação desta citocina precocemente após o contato do *P. brasiliensis* com o hospedeiro.⁴⁵ A expressão de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF- β em linfonodos de pacientes com a forma aguda da doença, está associada ao mecanismo pelo qual o fungo evade a resposta imune do hospedeiro, contribuindo para a forma disseminada da PCM.⁴⁶ A detecção de imunomarcagem para IL-10 e IL-5 em granulomas frouxos de pacientes indica resposta imune ineficaz para conter a infecção fúngica.^{45, 47} Nas formas mucocutâneas da PCM, a presença de TGF- β nas áreas de fibrose após tratamento com sulfametoxazol-trimetoprim sugere que esta citocina está envolvida no processo de cicatrização através da estimulação da proliferação de fibroblastos, como também exerce funções reparadora e reguladora das lesões, modulando a resposta inflamatória, reduzindo a destruição tecidual e contribuindo para o reparo e menor intensidade da seqüela tecidual.¹⁸

O sucesso da implantação do *P. brasiliensis* nos tecidos do hospedeiro depende de características do fungo, como virulência da cepa infectante e volume do inóculo e, principalmente, do ambiente de citocinas produzidas durante o confronto entre o fungo e as células fagocitárias. Desta forma, se o fungo induzir precocemente à síntese de citocinas com atividade supressora ou anti-inflamatória, como o TGF- β e IL-10, a resultante poderá ser a supressão da resposta macrofágica, permitindo a instalação e a reprodução do fungo nos tecidos e a disseminação do mesmo para vários órgãos e sistemas.¹⁴

Há evidências que indicam capacidade de internalização do fungo pelos ceratinócitos, células epiteliais de outros tecidos e pelo endotélio, sem que o processo desencadeie resposta fagocítica efetiva, o que pode indicar mecanismo outro pelo qual o agente evade a fagocitose por leucócitos e, assim, ganha a corrente sanguínea e se dissemina por outros tecidos.¹¹

A imunorregulação na PCM está associada a padrões de resposta imune regulada por células T *Helper* do Tipo Th1, Th2 e células T regulatórias CD4⁺ CD25⁺ (Treg). Indivíduos saudáveis que entram em contato com o *P. brasiliensis* podem resolver a infecção no local do inóculo a partir de eficiente resposta imune inata e do desenvolvimento do padrão de resposta Th1, com formação de granulomas densos.¹⁴

A maioria das formas clínicas da doença ocorre pela incapacidade de desenvolvimento de resposta efetiva Th1, portanto, inaptidão à formação de granu-

lomas densos. Há, nesses casos, possibilidade de desvio para outros padrões de respostas imunológicas, como a Th2, que resulta ser ineficiente para conter a propagação da infecção.⁴⁵

Pacientes com a doença em atividade apresentam depressão da resposta imune celular, caracterizada por diminuição da síntese de citocinas de padrão Th1 como IL-2, IFN- γ e IL-12, e aumento dos níveis de IL-4, IL-5 e IL-10, que corresponde à resposta de padrão Th2 não protetora ao hospedeiro.⁴⁸

A resposta imune humoral contra o fungo não é efetiva. Caracteriza-se pela produção de altos títulos de anticorpos das classes IgG4, IgA e IgE, associadas ao predomínio de citocinas supressoras do granuloma como IL-4, IL-5 e TGF- β , além da intensa eosinofilia. É observada em pacientes com as formas mais graves da PCM, o que reforça o papel não protetor da resposta Th2.^{49, 50}

Pacientes com a forma crônica de gravidade moderada apresentam resposta imune intermediária entre o padrão Th1 e Th2. Indivíduos com a PCM infecção que vivem em áreas endêmicas, mas que não desenvolvem a doença, apresentam padrão Th1, suprimindo a replicação fúngica e mantendo um equilíbrio entre o hospedeiro e o parasita; além disso, pacientes com a forma aguda/subaguda desenvolvem resposta Th2.⁵¹

A importância da resposta Th1 na PCM foi demonstrada, *in vivo*, pelo desenvolvimento de doença disseminada em paciente portador de deficiência congênita da subunidade b1 do receptor de IL-12/IL-23. Essa deficiência resulta em prejuízo adicional da síntese de IFN- γ , e susceptibilidade às infecções intracelulares por micobactérias e salmonelas.⁵²

Células T regulatórias com fenótipo CD4⁺ CD25⁺ (Treg) são importantes no controle da resposta imune. A ausência destas células está associada à exacerbação da resposta inflamatória e, conseqüentemente, ao desenvolvimento de doenças autoimunes. Por outro lado, a ativação excessiva pode estar associada à susceptibilidade aos patógenos.⁵³

Pacientes com PCM crônica apresentam níveis elevados de células com fenótipo característico de células Tregs (CD4⁺ CD25⁺), tanto no sangue periférico quanto nas lesões, sugerindo que estas células podem controlar a resposta imune local e sistêmica na PCM crônica. A expressão de receptores CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 immunoglobulin) em células Tregs age como regulador negativo da ativação das células T em pacientes com PCM.^{53, 54}

Dentro do contexto de susceptibilidade da PCM, antígenos leucocitários humanos classe II (DRB1*11) estão associados à forma crônica unifocal leve, sugerindo que este alelo possa conferir resistência contra a disseminação do *P. brasiliensis*.⁵⁵

Citocinas como IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e

TNF- α , na PCM, têm sido relatadas por vários autores e sugerem que monócitos/macrófagos são importantes fontes desses peptídeos capazes de promover resposta inflamatória sistêmica.⁵⁶ A produção sistêmica de TNF- α pode ser responsável por sintomas como febre, anorexia, perda de peso e dano tecidual, comumente associadas às formas moderadas e graves de PCM.^{39, 57} Níveis elevados de IL-18 e sTNF-RII em pacientes com a forma aguda estão associados à gravidade,⁵⁸ e sTNF-R1, sTNF-R2 e a quimiocina CXCL9 na forma crônica indicam doença em atividade.⁵⁹ Em trabalho recente, Siqueira et al, em 2009, demonstraram que a adição de IL-6 em cultura de monócitos permitiu a proliferação do *P. brasiliensis* quando essas células foram desafiadas com cepa virulenta do fungo. Os mecanismos pelos quais monócitos em presença de IL-6 permitem a proliferação do fungo ainda não são conhecidos; no entanto, a elucidação deste processo poderia contribuir para o entendimento do papel desta citocina na patogênese da PCM.⁶⁰

Embora a resposta imune seja fundamental para a defesa do hospedeiro, aspectos imunopatológicos estão relacionados à exacerbação da resposta imune, resultando em dano tecidual. Citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-8 e TNF- α podem estar envolvidas em distúrbios metabólicos como febre, elevação da proteína C reativa, astenia e perda de peso, observados em pacientes com quadros mais graves.⁵⁶ Em contrapartida, citocinas anti-inflamatórias IL-10 e TGF- β , provavelmente, têm como função controlar e modular a resposta inflamatória sistêmica em

pacientes com a doença em atividade.⁵⁶

Um resumo dos efeitos das citocinas decorrentes da interação entre fagócitos e *P. brasiliensis* encontra-se na figura 5.

Como exposto, a interação dos componentes da parede do fungo com os receptores do sistema imune do hospedeiro induz à produção de citocinas, que atuam estimulando os mecanismos celulares de defesa contra o fungo, levando à sua eliminação e regulando a intensidade da resposta granulomatosa, impedindo a lesão tecidual. Por outro lado, o envolvimento de citocinas durante o confronto entre o fungo e as células fagocitárias pode promover o crescimento do fungo nos tecidos do hospedeiro levando à progressão da doença.⁶⁰ No entanto, é fundamental que haja equilíbrio entre os sinais pró e anti-inflamatórios para o sucesso e equilíbrio das interações entre o hospedeiro e o fungo.

Os resultados obtidos até o momento sugerem papel potencial de substâncias imunomoduladoras, como o uso de vacina efetiva que possa modular o sistema imune no sentido de amplificação de resposta eficaz contra o *P. brasiliensis*. As moléculas associadas às proteínas de choque térmico (heat-shock proteins - HSP) são a opção mais atraente, pois estão associadas a diferentes fenômenos da imunidade inata e adaptativa.⁶¹ Membros desta família de proteínas têm sido testados na profilaxia e/ou imunoterapia de doenças como tumores, doença autoimune e micoses.^{62, 63}

O potencial da vacina DNAhsp⁶⁵ foi testado em modelo murino da PCM como fator imunomodulador.

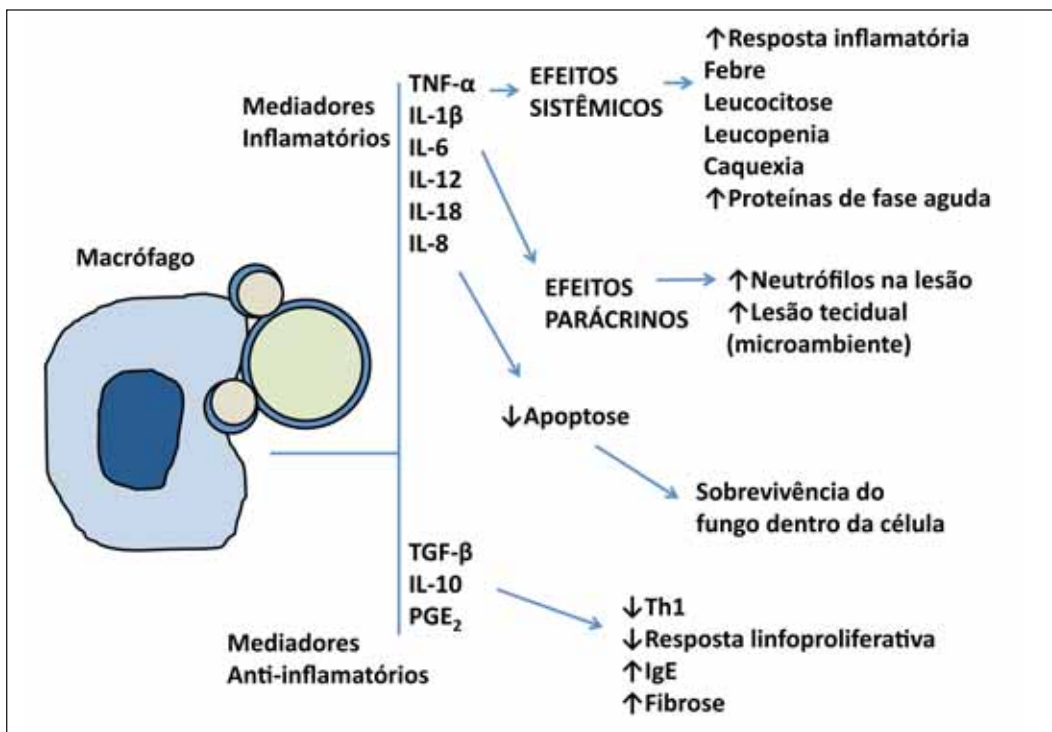


FIGURA 5: Microambientes de citocinas decorrentes da interação entre *P. brasiliensis* e fagócito mononuclear

A imunização com a DNAhsp⁶⁵ induziu à resposta Th1 associada à redução da carga fúngica pulmonar. Estes resultados indicam a DNAhsp⁶⁵ como candidata promissora e atrativa na prevenção, e mesmo na terapia, como adjuvante no tratamento da PCM.⁶⁴ Outra molécula, denominada HSP60, quando utilizada no modelo da PCM pulmonar induziu à resposta imune protetora contra a infecção, sugerindo que este antígeno imunodominante é considerado candidato também para o desenvolvimento da vacina contra o *P. brasiliensis*.⁶⁵

O tratamento das micoses sistêmicas é feito com antifúngicos sistêmicos e, nos casos de pacientes imunossuprimidos, as formas leveduriformes proliferam intensamente devido à deficiência da resposta imune inata e adaptativa. Nestas condições, a terapêutica é pouco eficiente e períodos longos de tratamento são necessários com risco de recaídas da doença. A vacina terapêutica com antígenos fúngicos pode levar a uma resposta imune celular eficiente impedindo a possível recaída da doença. As vacinas de DNA e pep-

tídeos parecem ser bastante promissoras, pois são obtidas em grandes quantidades e com alto grau de purificação para a imunização humana.⁶⁶

O estudo da imunologia da PCM tem fornecido subsídios para o entendimento da história natural da doença e suas manifestações clínicas para a elaboração de propostas terapêuticas, bem como o desenvolvimento de medidas protetoras, como as vacinas. Enquanto todos estes aspectos fisiopatológicos não são esclarecidos, a PCM permanece como doença de grande morbidade para os pacientes, causando significativo impacto à sociedade. □

AGRADECIMENTOS

À fotógrafa Eliete Soares, pela documentação fotográfica clínica.

À bióloga Rosângela Maria Pires de Camargo, pela realização dos exames micológicos.

REFERÊNCIAS

- Ramos ESM, Saraiva Ldo E. Paracoccidiodomycosis. *Dermatol Clin*. 2008;26:257-69.
- Marques SA, Franco MF, Mendes RP, Silva NC, Baccili C, Curcelli ED, et al. Epidemiologic aspects of paracoccidiodomycosis in the endemic area of Botucatu (São Paulo - Brazil). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1983;25:87-92.
- Barrozo LV, Mendes RP, Marques SA, Benard G, Silva ME, Bagagli E. Climate and acute/subacute paracoccidiodomycosis in a hyper-endemic area in Brazil. *Int J Epidemiol*. 2009;38:1642-9.
- Martinez R, Moya MJ. The relationship between paracoccidiodomycosis and alcoholism. *Rev Saude Publica*. 1992;26:12-6.
- Marques SA, Cortez DB, Lastoria JC, Camargo RMP, Marques MEA. Paracoccidiodomycose: Frequência, morfologia e patogênese de lesões tegumentares. *An Bras Dermatol*. 2007;82:411-7.
- de Camargo ZP, de Franco MF. Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidiodomycosis. *Rev Iberoam Micol*. 2000;17:41-8.
- Marques SA, Camargo RM, Abbade LP, Fortaleza CM, Marques ME. Paracoccidiodomycosis: an unusual presentation in a young girl disclosing an unnoted HIV-infection. *Med Mycol*. 2010;48:182-7.
- Restrepo S, Tobon A, Trujillo J, Restrepo A. Development of pulmonary fibrosis in mice during infection with *Paracoccidiodomycosis brasiliensis* conidia. *J Med Vet Mycol*. 1992;30:173-84.
- Restrepo A. The ecology of *Paracoccidiodomycosis brasiliensis*: a puzzle still unsolved. *Sabouraudia*. 1985;23:323-34.
- Castro RM, Cuze LC, Netto CF. Paracoccidiodomycosis. Accidental inoculation "in anima nobile." Report of a case. *Med Cutan Ibero Lat Am*. 1975;3:289-92.
- Mendes-Giannini MJ, Monteiro da Silva JL, de Fátima da Silva J, Donofrio FC, Miranda ET, Andreotti PF, et al. Interactions of *Paracoccidiodomycosis brasiliensis* with host cells: recent advances. *Mycopathologia*. 2008;165:237-48.
- Aristizabal BH, Clemons KV, Cock AM, Restrepo A, Stevens DA. Experimental paracoccidiodomycosis infection in mice: influence of the hormonal status of the host on tissue responses. *Med Mycol*. 2002;40:169-78.
- Pinzan CF, Ruas LP, Casabona-Fortunato AS, Carvalho FC, Roque-Barreira MC. Immunological basis for the gender differences in murine *Paracoccidiodomycosis brasiliensis* infection. *PLoS One*. 2010;5:e10757.
- Benard G. An overview of the immunopathology of human paracoccidiodomycosis. *Mycopathologia*. 2008;165:209-21.
- Botteon FA, Camargo ZP, Benard G, Coelho RF, Chamone DA, Itano EN. Paracoccidiodomycosis: reactive antibodies in Brazilian blood donors. *Med Mycol*. 2002;40:387-91.
- Franco M, Montenegro MR, Mendes RP, Marques SA, Dillon NL, Mota NG. Paracoccidiodomycosis: a recently proposed classification of its clinical forms. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1987;20:129-32.
- labuki K, Montenegro MR. Experimental paracoccidiodomycosis in the Syrian hamster: morphology, ultrastructure and correlation of lesions with presence of specific antigens and serum levels of antibodies. *Mycopathologia*. 1979;67:131-41.
- Parise-Fortes MR, Marques SA, Soares AM, Kurokawa CS, Marques ME, Peracoli MT. Cytokines released from blood monocytes and expressed in mucocutaneous lesions of patients with paracoccidiodomycosis evaluated before and during trimethoprim-sulfamethoxazole treatment. *Br J Dermatol*. 2006;154:643-50.
- Figueiredo F, Silva CL, Alves LMC, Rossi MA. Participation of *Paracoccidiodomycosis brasiliensis* lipids and polysaccharides in the evolution of granulomas. *Braz J Med Biol Res*. 1986;19:651-3.
- Moscari-Bacchi M, Soares A, Mendes R, Marques S, Franco M. In situ localization of T lymphocyte subsets in human paracoccidiodomycosis. *J Med Vet Mycol*. 1989;27:149-58.
- Mota NG, Rezakallah-Iwasso MT, Peracoli MT, Audi RC, Mendes RP, Marcondes J, et al. Correlation between cell-mediated immunity and clinical forms of paracoccidiodomycosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1985;79:765-72.
- Lacaz CS. Aspectos clínicos gerais. Formas polares da paracoccidiodomycose. In: Del Negro G, Lacaz CS, Fiorillo AM, eds. *Paracoccidiodomycose*. São Paulo: Sarvier-Edusp; 1982.
- Londero AT, Ramos CD. Paracoccidiodomycosis. A clinical and mycologic study of forty-one cases observed in Santa Maria, RS, Brazil. *Am J Med*. 1972;52:771-5.
- Calich VL, da Costa TA, Felonato M, Arruda C, Bernardino S, Loures FV, et al. Innate immunity to *Paracoccidiodomycosis brasiliensis* infection. *Mycopathologia*. 2008;165:223-36.
- Vicentini AP, Gesztes J, Franco MF, de Souza W, de Moraes JZ, Travassos LR, et al. Binding of *Paracoccidiodomycosis brasiliensis* to laminin through surface glycoprotein gp43 leads to enhancement of fungal pathogenesis. *Infect Immun*. 1994;62:1465-9.
- Mendes-Giannini MJ, Moraes RA, Ricci TA. Proteolytic activity of the 43,000 molecular weight antigen secreted by *Paracoccidiodomycosis brasiliensis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1990;32:384-5.
- Calvi SA, Peracoli MT, Mendes RP, Marcondes-Machado J, Fecchio D, Marques SA, et al. Effect of cytokines on the in vitro fungicidal activity of monocytes from

- paracoccidioidomycosis patients. *Microbes Infect.* 2003;5:107-13.
28. Soares AM, Calvi SA, Peracoli MT, Fernandez AC, Dias LA, Dos Anjos AR. Modulatory effect of prostaglandins on human monocyte activation for killing of high- and low-virulence strains of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Immunology.* 2001;102:480-5.
 29. Pagliari C, Pereira NV, Kanashiro L, Stegun FW, Croda J, Duarte MI, et al. Characterization of cytotoxic immune response in skin and mucosal lesions of paracoccidioidomycosis. *J Cutan Pathol.* 2010;37:565-70.
 30. Peracoli MT, Fortes MR, Da Silva MF, Montenegro MR. Natural killer cell activity in experimental paracoccidioidomycosis of the Syrian hamster. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1995;37:129-36.
 31. McInturff JE, Modlin RL, Kim J. The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J Invest Dermatol.* 2005;125:1-8.
 32. Calich VL, Pina A, Felonato M, Bernardino S, Costa TA, Loures FV. Toll-like receptors and fungal infections: the role of TLR2, TLR4 and MyD88 in paracoccidioidomycosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2008;53:1-7.
 33. Bonfim CV, Mamoni RL, Souza MH, Blotta L. TLR-2, TLR-4 and dectin-1 expression in human monocytes and neutrophils stimulated by *Paracoccidioides brasiliensis*. *Med Mycol.* 2009;1:12.
 34. Rodrigues DR, Dias-Melicio LA, Calvi SA, Peracoli MT, Soares AM. *Paracoccidioides brasiliensis* killing by IFN-gamma, TNF-alpha and GM-CSF activated human neutrophils: role for oxygen metabolites. *Med Mycol.* 2007;45:27-33.
 35. Tavian EG, Dias-Melicio LA, Acorci MJ, Graciani AP, Peracoli MT, Soares AM. Interleukin-15 increases *Paracoccidioides brasiliensis* killing by human neutrophils. *Cytokine.* 2008;41:48-53.
 36. Acorci MJ, Dias-Melicio LA, Golim MA, Bordon-Graciani AP, Peracoli MT, Soares AM. Inhibition of human neutrophil apoptosis by *Paracoccidioides brasiliensis*: role of interleukin-8. *Scand J Immunol.* 2009;69:73-9.
 37. Nishikaku AS, Molina RF, Ribeiro LC, Scavone R, Albe BP, Cunha CS, et al. Nitric oxide participation in granulomatous response induced by *Paracoccidioides brasiliensis* infection in mice. *Med Microbiol Immunol.* 2009;198:123-35.
 38. Romano CC, Mendes-Giannini MJ, Duarte AJ, Benard G. IL-12 and neutralization of endogenous IL-10 revert the *in vitro* antigen-specific cellular immunosuppression of paracoccidioidomycosis patients. *Cytokine.* 2002;18:149-57.
 39. Parise-Fortes MR, da Silva MF, Sugizaki MF, Defaveri J, Montenegro MR, Soares AM, et al. Experimental paracoccidioidomycosis of the Syrian hamster: fungicidal activity and production of inflammatory cytokines by macrophages. *Med Mycol.* 2000;38:51-60.
 40. Souto JT, Figueiredo F, Furlanetto A, Pfeffer K, Rossi MA, Silva JS. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha determine resistance to *Paracoccidioides brasiliensis* infection in mice. *Am J Pathol.* 2000;156:1811-20.
 41. Bean AG, Roach DR, Briscoe H, Ruth JH, Lincoln P, Kunkel SL, et al. Structural deficiencies in granuloma formation in TNF gene-targeted mice underlie the heightened susceptibility to aerosol *Mycobacterium tuberculosis* infection, which is not compensated for by lymphotoxin. *J Immunol.* 1999;162:3504-11.
 42. Chensue SW, Warmington KS, Ruth JH, Lincoln P, Kunkel SL. Cytokine function during mycobacterial and schistosomal antigen-induced pulmonary granuloma formation. Local and regional participation of IFN-gamma, IL-10, and TNF. *J Immunol.* 1995;154:5969-76.
 43. Sarno EN, Sampaio EP. The role of inflammatory cytokines in the tissue injury of leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1996;64:S69-73; discussion S-4.
 44. Tsioudras S, Samonis G, Boumpas DT, Kontoyiannis DP. Fungal infections complicating tumor necrosis factor alpha blockade therapy. *Mayo Clin Proc.* 2008;83:181-94.
 45. Pagliari C, Sotto MN. Dendritic cells and pattern of cytokines in paracoccidioidomycosis skin lesions. *Am J Dermatopathol.* 2003;25:107-12.
 46. Neworal EP, Altemani A, Mamoni RL, Noronha IL, Blotta MH. Immunocytochemical localization of cytokines and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in oral mucosa and lymph nodes of patients with paracoccidioidomycosis. *Cytokine.* 2003;21:234-41.
 47. Pagliari C, Fernandes ER, Guedes F, Alves C, Sotto MN. Role of mast cells as IL10 producing cells in paracoccidioidomycosis skin lesions. *Mycopathologia.* 2006;162:331-5.
 48. Benard G, Romano CC, Cacere CR, Juvenale M, Mendes-Giannini MJ, Duarte AJ. Imbalance of IL-2, IFN-gamma and IL-10 secretion in the immunosuppression associated with human paracoccidioidomycosis. *Cytokine.* 2001;13:248-52.
 49. Mamoni RL, Nouér SA, Oliveira SJ, Musatti CC, Rossi CL, Camargo ZP, et al. Enhanced production of specific IgG4, IgE, IgA and TGF-beta in sera from patients with the juvenile form of paracoccidioidomycosis. *Med Mycol.* 2002;40:153-9.
 50. Oliveira SJ, Mamoni RL, Musatti CC, Papaiordanou PM, Blotta MH. Cytokines and lymphocyte proliferation in juvenile and adult forms of paracoccidioidomycosis: comparison with infected and non-infected controls. *Microbes Infect.* 2002;4:139-44.
 51. Mamoni RL, Blotta MH. Kinetics of cytokines and chemokines gene expression distinguishes *Paracoccidioides brasiliensis* infection from disease. *Cytokine.* 2005;32:20-9.
 52. Moraes-Vasconcelos D, Grumach AS, Yamaguti A, Andrade ME, Fieschi C, de Beaucoudrey L, et al. Paracoccidioides brasiliensis disseminated disease in a patient with inherited deficiency in the beta1 subunit of the interleukin (IL)-12/IL-23 receptor. *Clin Infect Dis.* 2005;41:e31-7.
 53. Ferreira MC, de Oliveira RT, da Silva RM, Blotta MH, Mamoni RL. Involvement of regulatory T cells in the immunosuppression characteristic of patients with paracoccidioidomycosis. *Infect Immun.* 2010;78:4392-401.
 54. Lima HC. Papel das células T reguladoras no desenvolvimento de dermatoses. *An Bras Dermatol.* 2006;81:269-81.
 55. Sadahiro A, Roque AC, Shikanai-Yasuda MA. Generic human leukocyte antigen-class II (DRB1 and DQB1) alleles in patients with paracoccidioidomycosis. *Med Mycol.* 2007;45:35-40.
 56. Kurokawa CS, Araujo JP Jr, Soares AM, Sugizaki MF, Peraçoli MT. Pro- and anti-inflammatory cytokines produced by human monocytes challenged *in vitro* with *Paracoccidioides brasiliensis*. *Microbiol Immunol.* 2007;51:421-8.
 57. Peraçoli MT, Kurokawa CS, Calvi SA, Mendes RP, Pereira PC, Marques SA, et al. Production of pro- and anti-inflammatory cytokines by monocytes from patients with paracoccidioidomycosis. *Microbes Infect.* 2003;5:413-8.
 58. Corvino CL, Mamoni RL, Fagundes GZ, Blotta MH. Serum interleukin-18 and soluble tumour necrosis factor receptor 2 are associated with disease severity in patients with paracoccidioidomycosis. *Clin Exp Immunol.* 2007;147:483-90.
 59. Lyon AC, Teixeira MM, Araujo SA, Pereira MC, Pedroso ER, Teixeira AL. Serum levels of sTNF-R1, sTNF-R2 and CXCL9 correlate with disease activity in adult type paracoccidioidomycosis. *Acta Trop.* 2009;109:213-8.
 60. Siqueira KZ, Campos Soares AM, Dias-Melicio LA, Calvi SA, Peraçoli MT. Interleukin-6 treatment enhances human monocyte permissiveness for *Paracoccidioides brasiliensis* growth by modulating cytokine production. *Med Mycol.* 2009;47:259-67.
 61. Segal BH, Wang XY, Dennis CG, Youn R, Repasky EA, Manjili MH, et al. Heat shock proteins as vaccine adjuvants in infections and cancer. *Drug Discov Today.* 2006;11:534-40.
 62. Raz I, Elias D, Avron A, Tamir M, Metzger M, Cohen IR. Beta-cell function in new-onset type 1 diabetes and immunomodulation with a heat-shock protein peptide (DiaPep277): a randomised, double-blind, phase II trial. *Lancet.* 2001;358:1749-53.
 63. Ribeiro AM, Bocca AL, Amaral AC, Souza AC, Faccioli LH, Coelho-Castelo AA, et al. HSP65 DNA as therapeutic strategy to treat experimental paracoccidioidomycosis. *Vaccine.* 2010;28:1528-34.
 64. Ribeiro AM, Bocca AL, Amaral AC, Faccioli LH, Galetti FC, Zárate-Bladés CR, et al. DNAhsp65 vaccination induces protection in mice against *Paracoccidioides brasiliensis* infection. *Vaccine.* 2009;27:606-13.
 65. de Bastos Ascenço Soares R, Gomez FJ, de Almeida Soares CM, Deepe GS Jr. Vaccination with heat shock protein 60 induces a protective immune response against experimental *Paracoccidioides brasiliensis* pulmonary infection. *Infect Immun.* 2008;76:4214-21.
 66. Travassos LR, Rodrigues EG, Iwai LK, Taborda CP. Attempts at a peptide vaccine against paracoccidioidomycosis, adjuvant to chemotherapy. *Mycopathologia.* 2008;165:341-52.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA / MAILING ADDRESS:

Hélio Amante Miot
Departamento de Dermatologia – SN
Campus Universitário
18618-000 Botucatu – SP
Tel.: (14) 9671-5656
E-mail: heliomiot@fmb.unesp.br

Como citar este artigo/How to cite this article: Parise-Fortes MR, Miot HA, Kurokawa CS, Marques MEA, Marques AS. Imunologia da paracoccidioidomycose. *An Bras Dermatol.* 2011;86(3):516-25.