

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

FACULDADE DE MEDICINA

**ASSOCIAÇÃO DE CROMOBLASTOMICOSE E
LUPUS ERITEMATOSO CUTÂNEO SUBAGUDO:
RELATO DE CASO.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

NATÁLIA NUNES

São Luís, Maranhão.

2016

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

*Associação de Cromoblastomicose e Lupus Cutâneo Subagudo:
Relato de Caso.*

NATÁLIA NUNES

A apresentação desse trabalho é exigência da Universidade Federal do Maranhão para a conclusão da graduação no curso de Medicina.

Orientadora: **CONCEIÇÃO DE MARIA PEDROZO E SILVA DE AZEVEDO**

São Luís, Maranhão.

2016

NATÁLIA NUNES

**ASSOCIAÇÃO DE CROMOBLASTOMICOSE E LUPUS CUTÂNEO
SUBAGUDO: RELATO DE CASO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado na Universidade Federal do Maranhão como pré-requisito para a graduação no curso de Medicina.

São Luís, 03 de novembro de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Professora Doutora Conceição de Maria Pedrozo e Silva de Azevedo
(Orientadora – Universidade Federal do Maranhão – Departamento de Medicina I)

Professora Doutora Ana Cristina Rodrigues
(Examinadora – Universidade Federal do Maranhão – Departamento de Patologia)

Professora Doutora Maria dos Remédios Freitas Carvalho Branco
(Examinadora – Universidade Federal do Maranhão – Departamento de Patologia)

Professora Doutora Flavia Helen Furtado Loureiro
(Examinadora – Universidade Federal do Maranhão – Departamento de Medicina I)

AGRADECIMENTOS

Esse é um momento ímpar em minha vida, depois deste longo caminho de 16 anos até aqui, sem dúvida, são muitos os agradecimentos. À UFMA, que, ao abrir suas portas, me recebeu para realização de um sonho de criança e proporcionou o encontro com mestres inspiradores. Dentre tantos que influenciaram e influenciam minha caminhada, à professora Conceição, que tem aberto portas desde 2013, me proporcionando cultura médica de alta qualidade e, principalmente, me inspirando como ser humano. É ela o maior nome de Cromoblastomicose do nordeste brasileiro e, além de proporcionar conhecer a fundo esta doença, me colocou em contato com os maiores estudiosos desse tema no Brasil e no mundo. Professora, tens minha admiração, minha gratidão e um lugar garantido no meu coração.

À turma 93. Meus colegas, companheiros dessa jornada, que aguentaram minhas chatices por ser mais velha, minha super sinceridade e por terem me ajudado a ser uma pessoa melhor. Sem dúvida, um imenso obrigada pelas caronas, por me buscarem em casa e me tirar da “vida de ônibus”, especialmente no internato: Tiago, Jade, Renata, Alexandre, Alex (com o Rodrigo que está sempre junto) e Rennanzinho. Eles também já me esqueceram em casa, acreditem. Renatinho por ter sido parceiro de reflexões, publicação e piadas sem graça. Lucas (Kikito) pela companhia nos cafés, longos bate-papos e reflexões sobre futuro e vida. Jade e Renata por me ensinarem sobre cachos e falar das mais variadas coisas no dia a dia. Sandrim, pelas imitações. Vocês irão comigo no meu coração.

À minha família, minha casa, minha rocha. Meus irmãos, Cristiano, Carlos Eduardo e Fabrício, três grandes homens de quem me orgulho; minhas cunhadas, Dani e Lili, por terem me feito tia das crianças mais lindas do mundo, meus amores: Marthina, Maria Eduarda e Thales. Minha irmã, Marina, que dividiu o útero e hoje sonhos, anseios, medos, e é a companhia mais próxima, apesar da distância MA-RS, é meu orgulho e é minha melhor amiga.

Aos meus pais, Salete e José, que são meu maior incentivo, minha maior inspiração, minha maior relíquia. Sem vocês, meus “véios” eu não seria nada, não teria chegado até aqui. Obrigada por nunca desistirem de mim,

obrigada por estarem do meu lado por todo o caminho, por me educarem e respeitarem minhas escolhas e por me ajudarem a não esquecer quem sou e de onde vim. Por terem me ensinado sobre ser ética nesse mundo torto. Por me ensinarem a pensar no próximo. Ensinos, esses, fundamentais para a prática médica, mesmo em mundos tão distantes da medicina. Obrigada por abdicarem dos próprios sonhos. Por todo milagre econômico que a professora e o eletricista conseguiram fazer para formar uma filha médica, outra nutricionista/doutora, um advogado, um gestor de processos e, no próximo ano, um tecnólogo em sistemas de internet. Todos os obrigados do mundo serão insuficientes. Amo vocês!

Ao meu namorado, Gabriel, por todos os cheiros, cores e sabores. Por ter me emprestado seus amigos. Por ter me dado uma família maranhense: Regina, Oswaldo, Israel, Raphael, Lucas e Danilo. Por me proporcionar os almoços em família, nos sábados em sua casa. Por ser meu companheiro desde a metade da faculdade e alegrar meus dias, com atenção e amor. Por ter me lembrado diariamente que não posso perder a fé, em Deus, nas pessoas e acima de tudo, em mim mesma. Independente do que esteja reservado para nós, fostes um grande presente nesta terra distante.

À Deus, por tudo!

RESUMO

Introdução: A cromoblastomicose (CBM) é uma doença fúngica que acomete a pele e o subcutâneo, tem caráter crônico, de difícil terapêutica. Já o Lupus Eritematoso Cutâneo Subagudo (LECS) caracteriza-se por lesões eritematosas papuloescamosas ou anulares, localizadas principalmente em regiões de pele foto-expostas. Ambas as doenças não possuem consenso quanto ao tratamento. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente com associação de CBM e LECS e avaliar a resposta inflamatória apresentada por ele, utilizando a dosagem de citocinas no seu sangue. **Materiais e Métodos:** Descrição do quadro apresentado pelo paciente com realização de biópsia e coleta de sangue. A partir da amostra biopsiada da pele, realizou-se: exame direto, cultura histopatológico e sequenciamento genético do fungo para confirmação do agente etiológico. No sangue, foram dosadas as citocinas IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ e IL-17A através do *kit* CBA (BDBiosciences) e placa de poços em U. **Resultados:** Masculino, 52 anos com diagnóstico de LECS e em tratamento há 5 anos, em uso de cloroquina e metotrexate e doença sob controle. Apresenta lesão de CBM grave, com área cicatricial interna e borda elevada e intensa descamação, impedindo a deambulação e a correta extensão do membro inferior direito. Na amostra biopsiada encontrou-se exame direto evidenciou os corpos muriformes característicos da doença; cultura positiva com morfologia para *Fonsecaea pedrosoi* no microcultivo; intensa fibrose e granulomas no anatomopatológico, e o sequenciamento genético confirmou ser o *Fonsecaea pedrosoi* o agente causador da CBM. Na avaliação da resposta inflamatória no soro, foi detectável, apenas, a IL-6. **Conclusão:** É o primeiro estudo de relato da associação entre a CBM e o LECS que se tem conhecimento. A CBM do paciente tem baixa resposta terapêutica, como esperado para a doença grave. O agente causador encontrado é *Fonsecaea spp.* e é o fungo com maior relato no estado do Maranhão. A detecção da IL-6 é compatível com a presença de doença autoimune, já estabelecido na literatura para Lúpus e outras doenças e indica intensa resposta inflamatória, apesar da imunossupressão induzida pela terapêutica oral.

Descritores: Cromoblastomicose; Lupus cutâneo subagudo; *Fonsecaea spp.*; citocinas.

ABSTRACT

Introduction: Chromoblastomycosis (CBM) is a fungal disease that affects the skin and subcutaneous tissue, has chronic character, difficult therapy. Already Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus (SCLE) is characterized by erythematous lesions or annular papulosquamous, located mainly in photo-exposed skin regions. Both diseases have no consensus on treatment. **Objective:** To report the case of a patient with CBM and SECL association and evaluate the inflammatory response by him, using the dosage of cytokines in their blood. **Materials and Methods:** Description of the picture presented by the patient with a biopsy and blood collection. From the biopsied skin sample was held: direct examination, histopathologic culture and genetic sequencing of the fungus to confirm the etiologic agent. In the blood were measured cytokines IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ and IL-17A through CBA kit and wells plate U. **Results:** Male, 52 years old diagnosed with SECL and treatment for five years, using chloroquine and methotrexate and disease under control. CBM presents serious injury, internal scar area and border high and intense desquamation, preventing ambulation and the correct extension of the right lower limb. In biopsied sample was found direct examination showed the characteristic muriformes bodies of the disease; positive culture with morphology to *Fonsecaea pedrosoi* in microculture; intense fibrosis and granulomas in the pathology and genetic sequencing confirmed that the *Fonsecaea pedrosoi* the causative agent of CBM. In the evaluation of the inflammatory response in serum it was detectable only IL-6. **Conclusion:** It is the first association study report between CBM and the SECL which are known. The patient CBM has low therapeutic response, as expected for severe disease. The causative agent is found *Fonsecaea* spp. and the fungus is more reporting in the state of Maranhao. Detection of IL-6 is consistent with the presence of autoimmune disease, already established in the literature for lupus and other diseases and indicates intense inflammatory response in spite of immunosuppression induced by oral therapy.

Keywords: Chromoblastomycosis; subacute cutaneous lupus; *Fonsecaea* spp.; cytokines.

LISTA DE SIGLAS

ANA (-): Anticorpo antinuclear negativo

ANA (+): Anticorpo antinuclear positivo

BT2: Beta 2 tubulina

CBA: *Cytometric Bead Array*

CBM: Cromoblastomicose

CBS: Banco de registro do DNA de fungos

CREDIP: Centro de Doenças Infecto-parasitárias

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

DNAr: Ácido desoxirribonucleico ribossomal

dNTPS: Desoxirribonucleosídeo- trifosfato

ELISA: *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

IFN- γ : Interferon gama

IgG: Imunoglobulina classe G

IL-10: Interleucina 10

IL-17A: Interleucina 17A

IL-2: Interleucina 2

IL-4: Interleucina 4

IL-6: Interleucina 6

ITS: Identificador do DNA ribossomal interno transcrito por espaçador

LE: Lupus Eritematoso

LEC: Lupus Eritematoso Cutâneo

LECA: Lupus Eritematoso Cutâneo Agudo

LECC: Lupus Eritematoso Cutâneo Crônico

LECS/ SCLE: Lupus Eritematoso Cutâneo Subagudo/ Subagudo
Cutaneous Lupus Erythematosus

LES: Lupus Eritematoso Sistêmico

LIF: Laboratório de Imunofisiologia

LSU: Grande unidade formadora

PPPG: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

RNAr: Ácido ribonucleico ribossomal

SAP: Fosfatase Alcalina de camarão

SGA: Ágar Glucose Sabouraud

SSU: Pequena unidade formadora

Th1: Célula T auxiliar/ *helper* tipo 1

Th2: Célula T auxiliar/ *helper* tipo 2

Th22: Célula T auxiliar/ *helper* tipo 22

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

UFMA: Universidade Federal do Maranhão

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ilustração da placa de 96 poços om fundo em U usada para a quantificação das citocinas.

Figura 2: Lesões cutâneas da Cromoblastomicose apresentadas pelo paciente na chegada ao ambulatório especializado, após a associação de Itraconazol oral e Imiquimode tópica e após a suspensão da terapia com Metotrexate para Lupus Cutâneo Subagudo.

Figura 3: Exame micológico direto e histopatológico.

Figura 4: Cultura para fungo em ágar dextrose Sabouraud

Figura 5: Árvore filogenética identificando a posição do fungo apresentado pelo paciente após o sequenciamento genético

Quadro 1: Descrição dos resultados dos exames de cultura, histopatológico e micológico direto.

Sumário

INTRODUÇÃO	11
MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
Imagens	13
Biópsia e exames.....	13
Isolamento do DNA, sequenciamento genético e análise filogenética	14
Quantificação das citocinas.....	15
Figura 1	16
RESULTADOS	17
Figura 2.....	17
Figura 3.....	18
Figura 4.....	18
Quadro 1:	19
Figura 5.....	20
DISCUSSÃO	21
CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

INTRODUÇÃO

A Cromoblastomicose (CBM) é uma doença que acomete a pele e o subcutâneo, de caráter crônico, com baixas respostas aos tratamentos atuais (BONIFAZ *et. al.*, 1997, 2004; ESTERRE & QUEIROZ-TELLES, 2006), e tem no fungo *Fonsecaea pedrosoi* o principal agente causador (SANTOS *et.al.*, 2007; TORRES-GUERRERO *et. al.*, 2012). No Brasil há casos detectados em todo o território, sendo endêmica no estado do Maranhão e especialmente predominante no Norte do país (AZEVEDO *et.al.*, 2012). O acometimento do sexo masculino, em idade adulta e trabalhadores de áreas rurais são as principais características epidemiológicas da CBM (PIRES *et. al.*, 2012).

A resposta imune nesta doença é pouco conhecida, mas já é comprovada a presença de hipersensibilidade tardia (MARQUES *et.al.*, 2008). Além disso, tem-se registro do desequilíbrio entre a resposta celular Th1 e Th2, sendo esta menos eficiente para o controle da doença (TORRES-GERRERO *et. al.*, 2012). Alguns estudos focaram a interação fungo-hospedeiro, mostrando um predomínio de resposta imune mediada por células, com macrófagos ativado envolvidos na fagocitose dos fungos (D'AVILA *et. al.*, 2003). Em 2008, Sousa *et.al.* (SOUSA, *et. al.*, 2008), observaram que a estimulação das células CD14 de pacientes com formas leves de infecção causa produção de TNF- α em níveis mais elevados do que pacientes com forma grave. Em contrapartida, as formas graves apresentavam níveis mais elevados de IL-10. Alguns estudos relacionam a produção de citocina com a doença e o prognóstico (HAYAKAWA *et.al.*, 2006) e a relação dos tipos celulares envolvidos com a resposta *in situ* (SOUSA *et.al.*, 2009; SILVA, *et.al.*, 2014; Wüthrich *et. al.*, 2015). A interleucina IL-17A é a que tem maior número de relatos na literatura relacionados à CBM. Em 2016, Leeyaphan e colaboradores (LEEYAPHAN, *et. al.*, 2016), investigaram a expressão do gene desta citocina, retrospectivamente, na amostra de tecido de 12 pacientes com diagnóstico de CBM ou Eumicetoma – ambos fungos negros – e encontraram uma amplificação na banda de 174bp. Em 2014, comprovou-se que a IL-17-A é a única citocina, entre as avaliadas no estudo de Silva *et.al.* (SILVA *et. al.*, 2014),

que apresentou expressão elevada em CBM *in situ* quando comparada a peles sadias.

As doenças autoimunes ocorrem quando há deficiência na capacidade de tolerância pelas imunidades natural e/ou adquirida (SOUZA, *et. al*, 2010), ou seja, o sistema perde a capacidade de reconhecer as células e/ou os tecidos próprios, desenvolvendo resposta inflamatória. O Lupus Eritematoso (LE) é uma destas doenças e a apresentação clínica tem ampla variação (ERRANTE *et. al.*, 2016). A forma cutânea (LEC) se subdivide em LE cutâneo crônico (LECC) - também chamado discoide - LE cutâneo subagudo (LECS) e LE cutâneo agudo (LECA) e podem ou não estar associadas a comprometimento sistêmico (LES) (ROTHFIELD, 2006). Ao contrário do que sugerem os nomes, essa classificação não é relativa ao tempo de doença, mas às características da morfologia clínica e histopatológica definidas por Sontheimer, Guillian e colaboradores em 1979 (in BERBET e MANTESE, 2005).

O LECS é caracterizado pela presença de lesões eritematosas papuloescamosas (psoriasiformes) ou anulares (placas policíclicas), localizadas principalmente em regiões foto-expostas. Aproximadamente 50% dos pacientes preenchem os critérios de classificação de LES (MARCANO *et. al.* 2004) pelo Colégio Americano de Reumatologia, entretanto, somente 10% a 15% evoluem para formas graves de comprometimento sistêmico (SONTHEIMER, 2005). As lesões tendem a desaparecer após o tratamento sem deixar cicatrizes profundas, mas produzem áreas de hipopigmentação, tipo vitiligo (ROTHFIELD, 2006). O tratamento para essa apresentação da doença ainda não é consensual, podendo ser local ou sistêmico e há relato do uso de antimaláricos, imunossupressores, fototerapia, corticosteroides, etc. (SONTHEIMER, 2005; RIBEIRO *et.al.*, 2008; OKON e WERTH, 2013).

O paciente do estudo é portador de CBM e LECS. Este trabalho visa relatar este caso e, avalia a resposta inflamatória sistêmica apresentada por ele pela dosagem de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ e IL-17A do sangue. Os conhecimentos correntes acerca das funções das citocinas e das comorbidades associadas, presentes nesse paciente, serão o subsídio para tal propósito.

MATERIAIS E MÉTODOS

Relato de caso de um paciente com associação de Cromoblastomicose (CBM) e Lupus Cutâneo Subagudo (LECS) e avaliação da resposta inflamatória apresentado por meio da dosagem de citocinas no sangue. A coleta dos dados foi realizada no Ambulatório Especializado em Cromoblastomicose do Centro de Referência em Doenças Infectoparasitárias (CREDIP) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). O paciente com diagnóstico de Lupus Eritematoso Cutâneo Subagudo, é acompanhado neste ambulatório e foi convidado a participar da pesquisa **CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E DA RESPOSTA IMUNE CELULAR E GENÉTICA EM PACIENTES PORTADORES DE CROMOBLASTOMICOSE NO ESTADO DO MARANHÃO**, aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa, sob o nº 1 276.342, e parte do projeto de iniciação científica da Pro Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFMA, edital nº 18 de 2015. Após esclarecimento dos procedimentos e sanadas as dúvidas acerca do estudo, assinou o termo de consentimento livre e esclarecido.

Imagens

Solicitou-se autorização do paciente para fotografar a área acometida em três momentos, inicial, após associação da terapia com imiquimode tópico e no quadro atual, com a piora da lesão. A foto foi realizada com câmera comum, com o paciente em decúbito dorsal sobre a maca de atendimento. A privacidade do paciente foi respeitada, bem como sua identidade preservada.

As imagens do histopatológico e exame direto foram feitas na microscopia.

Biópsia e exames

Realizou-se biópsia incisional da lesão de CBM, sob anestesia local e assepsia adequada, com *punch* descartável 6mm e duas amostras foram coletadas e reservadas em tubo com soro fisiológico, para exame direto e cultura e, em formol a 10% para o anatomopatológico. As amostras de tecido foram encaminhadas ao serviço de microbiologia e patologia laboratório Cedro, onde procedeu-se o exame direto, cultura e histopatológico por profissionais

experientes. Cultura: material colocado em meio de cultivo, ágar glucose Sabouraud, até que o crescimento das colônias seja evidenciado e, após, realizado microcultivo em ágar batata para posterior microscopia óptica com aumento de 100 e 400 vezes evidenciando as características morfológicas da espécie do fungo. Histopatológico: lâmina corada com hematoxilina-eosina e analisado via microscopia com aumento de 100 e 400 vezes.

Isolamento do DNA, sequenciamento genético e análise filogenética

Das colônias de fungo, cultivadas em ágar glucose Sabouraud (SGA), procedeu-se extração de DNA genômico utilizando o kit UltraClean de DNA microbiano (MO Bio, Carlsbad, CA, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. A grande subunidade (LSU) do gene de RNAr nuclear foi amplificado utilizando iniciadores NL1 e LR5. Três regiões dos genes foram escolhidas para delimitar as espécies: DNA ribossomal (DNAr) na região espaçadora intergênica (ITS), gene da divisão parcial celular do ciclo (CDC42), e β -tubulina (BT2). Os *amplicons* da ITS foram geradas com os iniciadores V9G e LS266 e sequenciados com iniciadores ITS1 e ITS4. A amplificação do CDC42 e o sequenciamento deste foram feitos com cdc42w e cdc42f e a amplificação e sequenciamento de BT2 com Bt-2a e T2. A mistura de reação de amplificação tinha um volume total de 12,5 μ l, que era composto de um tampão de PCR, 2,0mM MgCl₂, 25 μ M de deoxinucleosídeo-trifosfato (dNTPs), 0,5 μ M (cada) de iniciador *forward* e reverso, 1U de DNA polimerase do BioTaq e 10ng de DNA genômico. A amplificação da mistura foi realizada em termociclador ABIPrism 2720 (Applied Biosystems, Foster City, EUA), com 35 ciclos, da seguinte forma: 95°C durante 4 minutos, 95°C durante 45s, 52°C durante 30s, e 72°C durante 2 min, e um atraso de 72°C durante 7 min. As temperaturas de *annealing* foram alteradas para 52°C, 55°C, e 58°C, para a região ITS, CDC42 e BT2. Executou-se a lavagem dos *amplicons* com exonuclease I e fosfatase alcalina de camarão (SAP) de acordo com as instruções do fabricante. A seguir, realizou-se o sequenciamento com *kit* BigDye Terminator do ciclo v.3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) de acordo com as instruções do fabricante, e as misturas da reação foram purificadas com coluna de Sephadex G-50 fino (GE Healthcare Bio-Sciences,

Uppsala, Suécia). As sequências foram analisadas no sequenciador de DNA ABIPrism 3700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA).

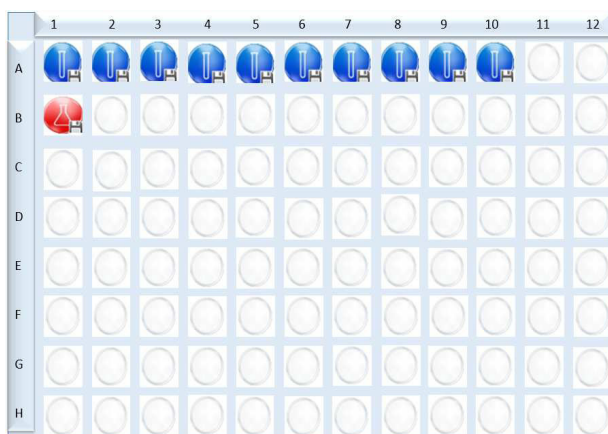
As sequências de consenso da região ITS, BT2, CDC42, e LSU foram inspecionadas visualmente utilizando software MEGA v.6. Os alinhamentos foram realizados utilizando a linha de interface MAFFT. As regiões ITS, BT2, CDC42 foram primeiramente analisadas em separado, e, em seguida, a análise filogenética dos multilocus foi utilizada para investigar as relações entre 99 cepas de *Cladophialophora* (n=37) e *Fonsecaea* (n=62), com *Cladophialophora arxsi* compreendendo o outro grupo. Dados conflitantes foram estimadas usando o teste de partição de homogeneidade disponível em PAUP*v. 4.Ob10. Análises da LSU foram feitas para avaliar a posição filogenética da espécie analisada neste estudo. A análise filogenética da pequena subunidade (SSU) e LSU, previamente reconhecida no *Herpotrichiellaceae*, já descritos por de Hoog *et al.* (2011), por Feng *et al.* (2014) e por Vicente *et al.* (2014), foi tomada como base para delimitação do clado. As árvores foram construídas com 1.000 réplicas do cadastro usando a probabilidade máxima de função implementada em software v.6 mega, e o melhor modelo evolutivo que corresponde ao conjunto dos dados foi utilizado. Valores correspondentes ao banco, igual ou superior a 80%, foram os considerados como estatisticamente significativos. Essa etapa da pesquisa foi realizada no laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Paraná.

Quantificação das citocinas

O paciente teve o sangue coletado por punção periférica em tubo com gel separador. A amostra foi identificada e acondicionada sob congelamento, a -20°C. O plasma foi centrifugado a 1500rcf por 10min para precipitação de debris. Realizou-se, então, a quantificação das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α e IL-17A, pela técnica de CBA, ensaio citométrico de esferas ordenadas. Todos os reagentes utilizados foram provenientes do *Kit (Human Th1/Th2/Th17 cytokine Kit)* obtidos da Becton Dickinson Biosciences (San Jose, CA, USA). O *Kit* CBA mescla as tecnologias do ELISA com a citometria de fluxo. Na placa de 96 poços, fundo em U, foram adicionados 25 μ L da amostra padrão fornecida pelo fabricante ou dos plasmas a serem testados.

Em seguida receberam 25 μ L de cada reagente *cytokine beads* para marcar a produção de cada citocina e 25 μ L de anticorpo conjugado ao fluorocromo PE (Figura 1).

Figura 1 – Desenho ilustrativo da placa de 96 poços com fundo em U, experimental, para a quantificação das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ e IL -17 pela técnica de CBA no plasma de pacientes portadores CBM.



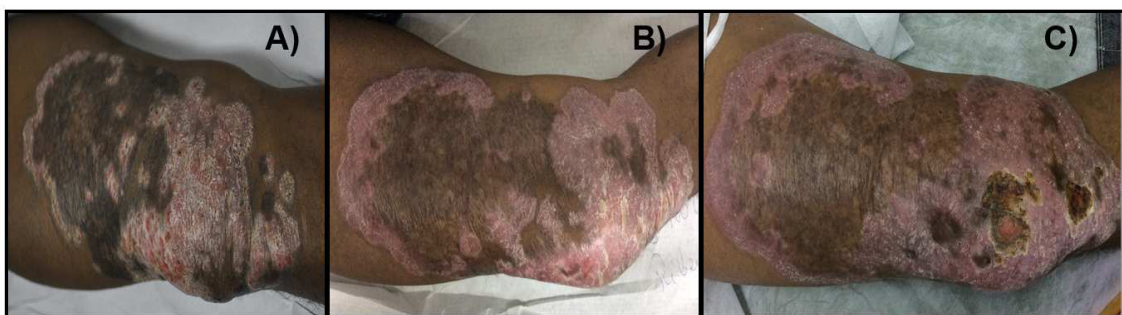
Azul: amostras padrões fornecidas pelo fabricante; **Vermelho:** amostra do paciente com CBM e LECS.

Os poços foram homogêneos e incubados à temperatura ambiente por 3 horas protegidos da luz. Após o período de incubação as amostras foram ressuspensas com 300 μ L de solução tampão. A placa foi centrifugada por 10 minutos à 453rcf e o sobrenadante foi descartado. As amostras foram então ressuspensas em 150 μ L de solução tampão para leitura no citômetro de fluxo FACScalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Após a leitura dos padrões e da amostra, os dados foram analisados no software FCAP ARRAY Versão 3.0 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA), onde os valores foram expressos em pg/mL para cada citocina. Essa etapa do procedimento foi realizada no Laboratório de Imunofisiologia (LiF) da UFMA.

RESULTADOS

R.N.R, masculino, 52 anos, negro, lavrador, natural e residente em Nina Rodrigues – MA, católico. Paciente é encaminhado, em novembro de 2013, ao ambulatório especializado em CBM do CREDIP-UFMA pelo serviço de Dermatologia do HUUFMA, onde realizava tratamento para LECS desde 1999 (em uso de Cloroquina + Metotrexate no momento da primeira consulta). Apresentava lesão de CBM grave, do tipo placa infiltrativa, com centro cicatricial, bordas circinadas, em membro inferior direito, aspecto descamativo e pruriginosa há aproximadamente 10 anos (Figura 2A). Apresentava áreas extensas de fibrose na área cicatricial, impedindo a extensão completa do membro e causando dificuldade à deambulação.

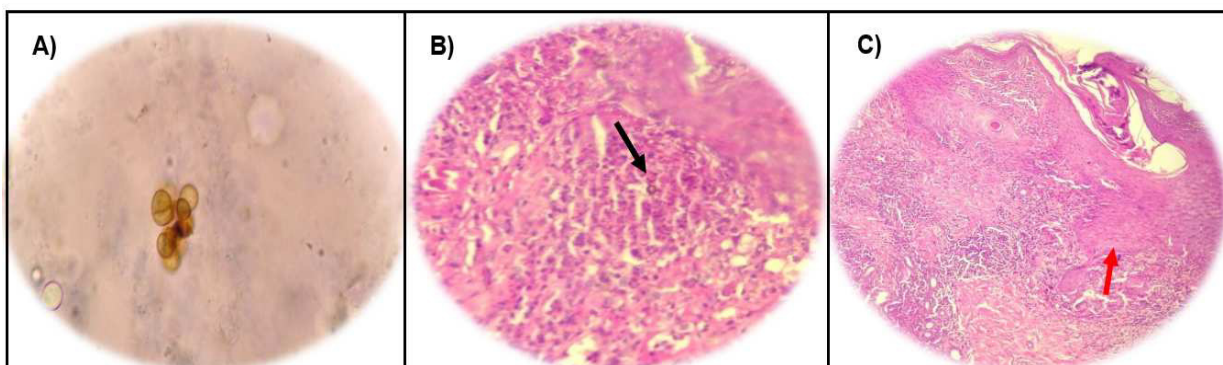
Figura 2 – Evolução das lesões de CBM apresentadas pelo paciente.



A) Lesão apresentada pelo paciente no momento da primeira consulta no CREDIP-UFMA. **B)** Melhora do quadro após associação da terapêutica de Itraconazol oral + Imiquimode tópico: desaparecimento dos pontos negros, característicos da doença, bordas com menor elevação e granulação da pele na área da lesão. **C)** Aumento da área acometida, palidez da pele acometida pelo fungo, elevação das bordas e intensa descamação na porção distal da lesão.

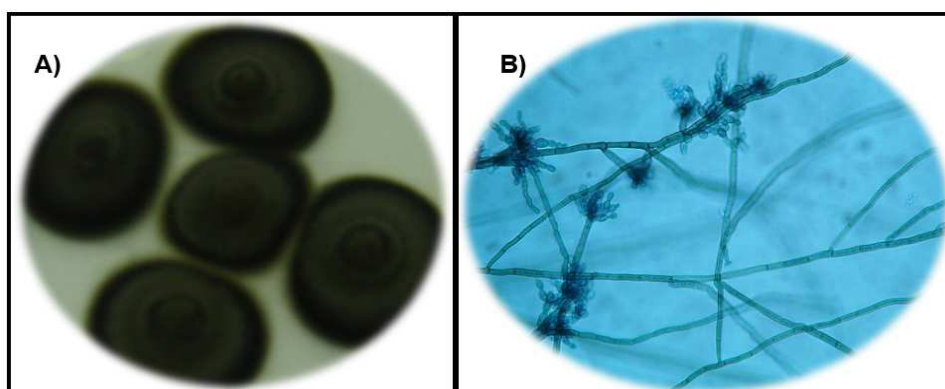
Trazia resultado de anatomopatológico do serviço de origem que evidenciava a presença dos corpúsculos muriformes na amostra. Realizou-se coleta de sangue e biópsia das lesões. Foi iniciado o tratamento com Itraconazol 400mg/dia, em duas doses. O material coletado foi enviado para realização de exame micológico direto, histopatológico (Figura 3) e cultura (Figura 4), com resultados descritos no quadro abaixo.

Figura 3 – Resultado dos exames direto e histopatológico.



A) Presença os corpúsculos muriformes; **B)** Seta preta indicando a visualização dos corpúsculos nas células do tecido do paciente, em aumento de 400 vezes; **C)** Seta vermelha indicando a presença das células gigantes de Langerhans, em aumento de 100 vezes.

Figura 4 – Cultura para fungo, com crescimento do *Fonsecae pedrosoi*.



Crescimento do cultivo após 15 dias de incubação a 28°C. **A)** Formação dos conídios primários e secundários; **B)** Hifas multisseptadas, em pouca quantidade de filamentos.

Quadro 1: Descrição dos resultados dos exames direto, histopatológico e cultura.

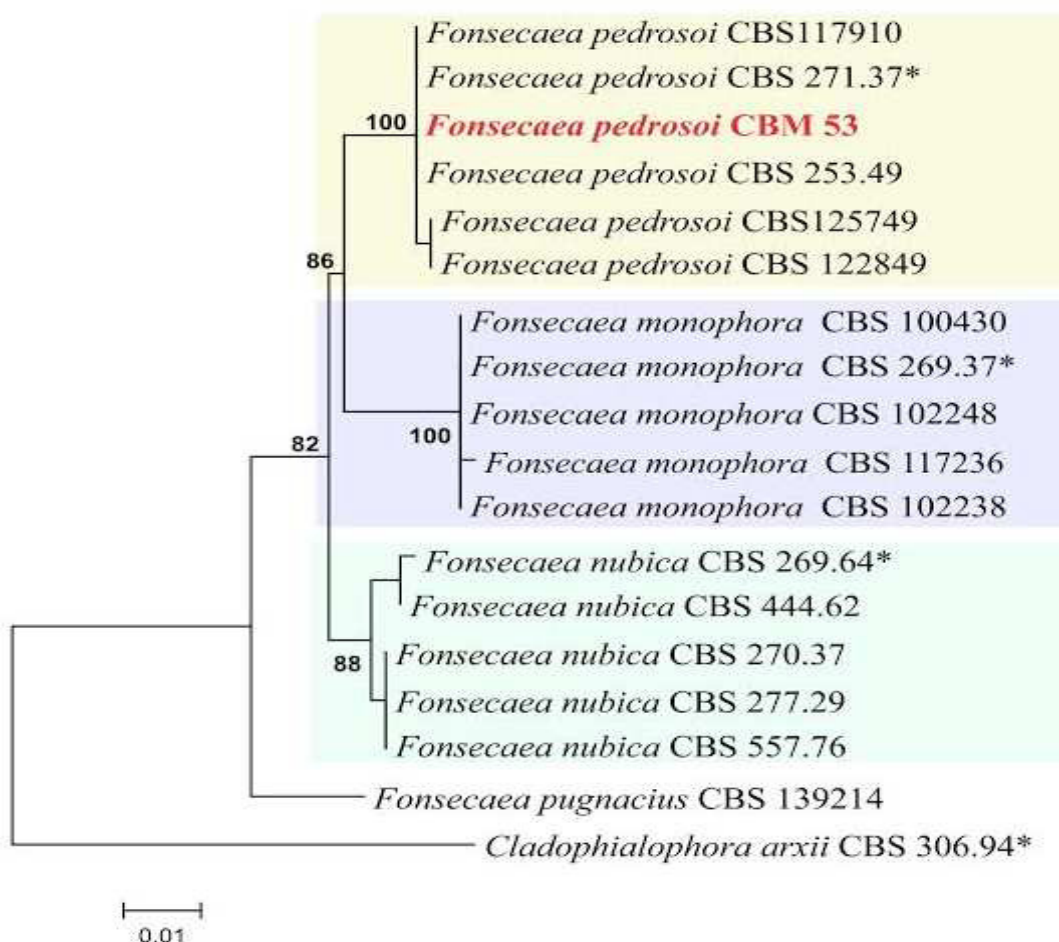
EXAME	RESULTADO
Exame micológico direto	Visualização dos corpúsculos muriformes/ escleróticos com septação em múltiplos planos
Histopatológico	<p>Em aumento de 100 vezes: epiderme com hiperplasia irregular e hiperqueratose; derme superior e média com infiltrado epitelial misto difuso, constituído por células gigantes tipo Langhans abundantes, e presença de linfócitos plasmócitos e neutrófilos.</p> <p>Em aumento de 400 vezes: infiltrado granulomatoso epitelial associado /a denso infiltrado de neutrófilos circundando estrutura ovoide única, cm reforço de membrana de coloração marrom dourada</p>
Cultura	Formação de conídios primários e secundários. Colônias de <i>Fonsecaea pedrosoi</i> , caracterizado por poucos filamentos de hifas e presença de multisseptação filamentar.

No período de um ano (nov/2013 a nov/2014) houve baixa resposta ao tratamento antifúngico oral, com pouca melhora das lesões. Associou-se, então, o Imiquimode creme, de uso tópico, a 5%, 3 vezes por semana. Em três meses, fevereiro de 2015, com a associação da terapia, já foi possível perceber melhora do quadro cutâneo (Figura 2B), com diminuição da elevação das bordas, menor descamação e pele mais rosada. Em julho de 2016, após suspenso o imunossupressor oral pela dermatologia, o paciente apresenta piora do quadro cutâneo, com lesão que se caracteriza por aumento da área acometida e intensa descamação (Figura 2C).

O sequenciamento genético apresenta fungo conclui tratar-se de fungo dentro da espécie *Fonsecaea pedrosoi*, com diferenças genéticas que o identificam dentro da árvore filogenética com DNA específico (Figura 5). No

momento, efetua-se os procedimentos legais para registrá-lo no CBS, o banco de dados genéticos dos fungos, atualmente sob o número CBM 53. As citocinas dosadas foram IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- α e IL-17A, porém, apenas a IL-6 foi detectada no soro do paciente, num total de 3,47pg.

Figura 5 – Árvore filogenética



Sequenciamento genético do agente causador apresentado pelo paciente do estudo. Fungo da espécie *Fonsecaea pedrosoi* realçado em vermelho na figura, mostrando relação intrínseca com a família *Fonsecae*.

DISCUSSÃO

Sabe-se que a resposta terapêutica em CBM é um grande desafio, principalmente em quadros graves da doença assim como a apresentada pelo paciente que necessitou da associação de droga antifúngica e imunomodulador para apresentar alguma melhora lesional. As opções relatadas na literatura, são variadas, sendo o itraconazol e a terbinafina, antifúngicos sistêmicos, os mais amplamente utilizados (QUEIROZ-TELLES e SANTOS, 2013). Outros tratamentos, tanto para casos refratários como para opção em quadro inicial, incluem ação mecânica – imunomoduladores e novos antifúngicos: terapia fotodinâmica, crioterapia, imiquimode, posaconazol, entre outros (BONIFAZ, *et.al.*, 2001; LUPI, *et.al.*, 2005; NEGRONI, *et.al.*, 2005; SANTOS, *et. al.*, 2007; ANTONELLO, *et.al.*, 2010; LYON, *et. al.*, 2011; TORRES-GUERRERO, *et.al.*, 2012; SOUSA, *et. al.*, 2014). A associação com o Imiquimode tópico, embora uma opção recente, acarretou melhora nas lesões do paciente. Santos *et. al.*, em 2014, já haviam relatado a boa resposta terapêutica em CBM com o uso deste imunodulador, que estimula o sistema imune inato e adquirido. Isso explica a melhora do quadro cutâneo, pois, a associação medicamentosa promoveu aumento da resposta imunológica local pelo paciente.

Em geral, os diagnósticos dessa doença tendem a ser tardios, com doença já avançada. O paciente refere o quadro há 10 anos, com diversas terapêuticas, sem diagnóstico adequado. A clínica e a epidemiologia são fatores importantes: CBM: homem, adulto jovem, lavrador e de área endêmica – o Maranhão (AZEVEDO, 2014). O *Fonsecaea pedrosoi* evidenciado nos exames direto, cultura e histopatológico e confirmado com o sequenciamento genético está de acordo com a área geográfica, pois essa é espécie mais encontrada nas regiões tropicais (SANTOS, *et. al.* 2007).

Há pouca elucidação dos mecanismos de adaptação desenvolvidos pelo fungo, na patogenia da doença, em relação ao sistema imune humano (BURJACK *et.al.*, 2014), apesar de se saber que a produção de melanina, característica dos fungos dematiáceos, seja um fator importante na sobrevivência do *Fonsecaea pedrosoi* no hospedeiro (FERRAZ, 2011). No que tange a resposta inflamatória do paciente, as interleucinas já relacionadas à

CBM não foram detectadas, apesar da gravidade do quadro e, provavelmente, devido a imunossupressão induzida pela terapia medicamentosa oral. O TNF- α , por exemplo, está ativamente presente nas respostas imunes locais como apresentado por Wang *et.al.* (2013), em estudo experimental, logo aos 7 dias da inoculação do *Fonsecaea pedrosoi* e mantém-se elevada no 30º dia de tratamento. A IL-10, considerada uma citocina anti-inflamatória ou, ainda, imunossupressora, já foi evidenciada com papel importante em CBM (SOUSA, *et.al.*, 2008), e tem níveis mais elevados em pacientes com formas graves da doença (GIMENES *et. al.*, 2005). O IFN- γ , por sua vez, foi relatado no estudo de Gimenes *et.al.* (GIMENES, *et. al.*, 2006) relacionando a interleucina com a gravidade da doença. Esta citocina encontra-se mais elevada em pacientes com formas leves e moderadas da doença (SANTOS *et. al.*, 2007).

A principal marca do IFN- γ é sua característica de marcador de doença crônica e no soro deste paciente não foi detectado, apesar de ter a doença há 10 anos. A IL-17A é a que tem maior número de relatos na literatura quando se trata de CBM (SOUSA *et.al.*, 2008; SILVA *et.al.*, 2014; LEEYAPHAN *et.al.*, 2016), e sua principal função reside na indução de produção de citocinas pelas células epiteliais, justificando a elevação em doenças com acometimento cutâneo. Em 2014, Azevedo *et. al.* quantificaram anticorpos IgG e seus subtipos em pacientes com CBM evidenciando a presença desta imunoglobulina no soro de 100% dos pacientes da amostra, atividade intrinsecamente ligada a IL-6. Publicações relacionando a IL-6 à resposta inflamatória da CBM, ainda, são escassas, porém, apesar da imunossupressão, encontra-se presente em níveis elevados no soro deste paciente.

A IL-6 é uma das citocinas pró-inflamatórias mais potentes (STANLEY e LACY, 2010), atua na ativação de linfócitos, estimula a produção de células B na medula, induzindo, fortemente, a produção de anticorpos (MURAKAMI e HIRANO, 2012), além de produzir proteínas de fase aguda no fígado. Níveis elevados de IL-6 e polimorfismos do gene de IL-6 tem sido associados com frequência a doenças autoimunes, (SCHOTTE *et. al.*, 2001; HULKKONEN, 2001; ALEGRE-SANCHO *et.al.*, 2013; DURÄES *et.al.*, 2014.), bem como a exacerbação das manifestações clínicas e/ou piores prognósticos, inclusive na

transformação celular cancerígena (Qi *et. al.*, 2014). No que tange a essa interleucina e o Lupus, Jain *et. al.* (JAIN, *et. al.*, 2016), em estudo experimental, relacionaram níveis aumentados de IL-6 com maior mortalidade dos modelos LES-like. Na análise do seu papel no lúpus cutâneo, Maczynska *et. al.* (MACZYNSKA, *et. al.*, 2006), encontraram uma mediana de 4,6pg de IL-6 quando comparados pacientes LECS ANA (+) e ANA (-). O estudo de Mendéz-Flores *et. al.* (2016), que avaliou os efeitos das citocinas na fisiopatologia do LEC, encontrou uma quantidade mais elevada de células Th22 – subconjunto que se diferencia a partir da secreção de IL-6 e TNF- α - em pacientes com Lupus Cutâneo Discoide (também conhecido como LECC) e LECS do que em pessoas saudáveis. A IL-6, portanto, tem papel chave no desenvolvimento de auto-anticorpos e doenças autoimunes. E pode estar detectável neste paciente, apesar da imunossupressão induzida pelo metotrexate, pela própria doença autoimune, pela CBM, ou, ainda, pela associação de ambas as doenças, já que a relação da IL-6 com a CBM ainda é escassa.

Mundialmente, as infecções fúngicas tem aumentado sua frequência. Se por um lado temos um trânsito maior de pessoas nos mais variados países, por outro, temos uma crescente população imunossuprimida (FERNANDEZ-FLORES *et.al*, 2014) seja por condições sociais, seja por condições biológicas. As micoses subcutâneas tem distribuição universal, principalmente em regiões tropicais e subtropicais. Apesar de características bastante semelhantes, os agentes infecciosos são diversos (LA HOZ e BADDLEY, 2012). O paciente deste estudo apresenta cultura positiva para *Fonsecaea sp.*, fungos dematiáceo, melanizado. Essa classe (Dematiáceo ou *Herpotrichiellaceae*) de fungos possui amplo espectro de acometimentos, com maior virulência, e tem no gênero *Exophiala* variadas apresentações clínicas (HOFFMANN *et.al.*, 2011). A CBM tem sido relatada com fungos de gênero e espécie diferentes, como o *Phialophora richardsiae* (YOUNG-MIN *et.al.*, 2010), embora a maior parte seja por *Fonsecae pedrosoi* e *Phialophora verrucosa*. Atualmente, já é possível encontrar caso de CBM em países de clima de frio, como a Europa (PINDYCKA-PIASZCZYŃSKA *et.al*, 2014), de evolução crônica complicada da doença para carcinoma de células escamosas (TORRES *et. al.*, 2010;

AZEVEDO *et.al.*, 2015) e em paciente hansênico, imunossuprimido, associado a mucormicose (BASÍLIO *et.al.*, 2012).

As colagenoses, doenças autoimunes e imunodeficiências, causas de imunossupressão, tendem a favorecer infecções por fungos (HOFFMANN *et.al.*, 2011). Em pacientes com LES, as infecções são a maior causa de mortalidade e morbidade. Na associação com doenças fúngicas, temos relatos de LES com *Aspergillus fumigatus* (MACÊDO *et. al.*, 2009), *Microsporum gypseum* (MACÊDO *et.al.*, 2008), *Cladophialofora bantiana* (WERLINGER e MOORE, 2005) e *Exophiala jeanselmei* (MURAYAMA *et.al.*, 2003); de doença do colágeno com *Exophiala jeanselmei* (NOMURA *et.al.*, 2010) e na associação com HIV/AIDS uma imensa quantidade de fungos, que habitualmente podem ser inócuos, nesta condição, tendem a ser graves e, por vezes, letais (RIBEIRO *et.al.*,2009). Este paciente, apesar de referir ter percebido as lesões de CBM (há 10 anos) antes do diagnóstico de LECS (em tratamento há 5 anos), corrobora o conhecimento difundido de que a presença de doença autoimune é um fator de predisposição a infecções fúngicas.

O presente estudo é o primeiro, que sem tem conhecimento, a descrever um caso de CBM e LECS, embora haja um relato da comorbidade com LES (NEIVA, *et.al.*, 2002). Setenta por cento dos pacientes acometidos por LECS são do sexo feminino e brancas (ROMITI *et.al.*, 2004). O paciente foco deste estudo é negro e do sexo masculino. A associação entre as duas doenças que acometem a pele, por distintos mecanismos – autoimunidade e fungo - e com tamanha repercussão na qualidade de vida (TABORDA *et.al.*, 2010) dos e deste paciente é um desafio. A CBM é uma doença de difícil controle, com baixas respostas terapêuticas (QUEIROZ-TELLES, 2015) e que limita a atividade laboral do paciente interferindo na vida social e financeira. O LECS, por acometer áreas fotoexpostas, acarreta isolamento social, enquanto há doença ativa, além da perturbação causada pela possibilidade de acometimento sistêmico, que, embora baixa, existe (KUHN e LANDMANN, 2014).

CONCLUSÃO

Compartilhar os conhecimentos adquiridos com este estudo é imprescindível para que este e outros pacientes possam dispor de medicamentos e terapias alternativas que possibilitem não só a cura, mas fortaleçam a autoestima e permitam melhor qualidade de vida. Assim, estudos que permitam aprofundar conhecimentos e promover questionamentos relacionados a doenças, das mais simples as mais complexas, devem ser estimulados e propagados. A IL-6 já está estabelecida como importante para as doenças autoimunes, inclusive o Lúpus. Estar detectável no soro deste paciente, apesar da imunossupressão, é indicador de intensa resposta inflamatória. Estudos que relacionem a IL-6 à CBM serão de grande importância para aprofundar o entendimento da resposta imunológica em pacientes com associação à doença autoimune. A elucidação das funções das citocinas, relacionando-as às doenças em si, pode ser capaz de gerar terapêuticas mais específicas e adequadas, com melhores respostas do que os tratamentos atuais. Difundir estes estudos, portanto, é peça fundamental na compreensão dos mecanismos desenvolvidos tanto por agentes agressores quanto pelas doenças autoimunes.

REFERÊNCIAS

ALEGRE-SANCHO, J. J.; ROBUSTILLO-VILLARINO, M.; ZARAGOZA-GARCIA, J. M.; GIL-LATORRE, F.; CUBERO-TARIN, V.; FECED-OLMOS, V. V.; BARRIO, I. L. M.; YBAÑEZ-GARCIA, D.; VALLS-PASCUAL, E.; MARTINEZ-FERRER, A.; OLLER-RODRIGUEZ, J. E.; VICENS-BERNABEU, E.; RODILLA-SALA, E.; TUZON-SEGARRA, M. T. **Interleukin 6 and vascular disease in patients with systemic sclerosis.** Ann Rheum Dis. 72: A501 doi: 10.1136/annrheumdis-2013-eular.1505. 2013.

ANTONELLO, V.; S.; APPEL DA SILVA, M. C.; CAMBRUZZI, E.; KLIEMANN, D. A.; SANTOS, B. F.; QUEIROZ-TELLES, F. **Case report: Treatment of severe chromoblastomycosis with itraconazole and 5-flucytosine association.** Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 52(6):329-331, November-December, 2010.

AZEVEDO, C. M. P. S.; GOMES, R. R.; VICENTE, V. A.; SANTOS, D. W. C. L.; MARQUES, S. G.; NASCIMENTO, M. M. F.; ANDRADE, C. E. W.; SILVA, R. R.; QUEIROZ-TELLES, F.; HOOG, G. S. **Fonsecaea pugnacius, a Novel Agent of Disseminated Chromoblastomycosis.** Journal of Clinical Microbiology, Vol 53, Nº 8. August 2015.

AZEVEDO, C. M. P. S.; MARQUES, S. G.; SILVA, N. F.; SILVA, R. R.; SANTOS, D. W. C. L.; AZEVEDO, F. S.; STOIANOFF, M. A. R. **Twenty years of chromoblastomycosis in Maranhao.** Mycoses 55 (Suppl. 4), 95–338, 2012.

BASÍLIO, F. M. A.; HAMMERSCHMIDT, M.; MUKAI, M. M.; WERNER, B.; PINHEIRO, R. L.; MORITZ, S. **Mucormycosis and chromoblastomycosis occurring in a patient with leprosy type 2 reaction under prolonged corticosteroid and thalidomide therapy.** An Bras Dermatol. 87(5):767-71. 2012.

BERBERT, A. L. C. V. e MANTESE, S. A. O. **Lúpus eritematoso cutâneo.** Aspectos clínicos e laboratoriais - An Bras Dermatol. 80(2):119-31. 2005.

BONIFAZ, A.; CARRASCO-GERARD, E.; SAÚL, A. **Chromoblastomycosis: clinical and mycologic experience of 51 cases.** Mycoses 44, 1-7; 2001.

BONIFAZ, A.; MARTINEZ-SOTO, E.; CARRASCO-GERARD, E.; PENICHE, J. **Treatment of chromoblastomycosis with itraconazole, cryosurgery and combination of both.** Int J Dermatol 36:542–547, 1997.

BONIFAZ, A.; PAREDES-SOLIS, V.; SAUL, A. **Treating chromoblastomycosis with systemic antifungals.** Expert Opin Pharmacother 5: 247–254, 2004.

BRURJACK, J. R.; SANTANA-FILHO, A. P.; RUTHES, A. C. RITER2, D. C.; VICENTE, V. A.; ALVARENGA, L. M.; SASSAKI, G. L. **Glycan analysis**

of *Fonsecaea monophora* from clinical and environmental origins reveals diferente structural profile and human antigenic response. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Vol 4 - Article 153. October 2014.

D'AVILA, S. C.; PAGLIARI, C.; DUARTE, M. I. **The cell-mediated immune reactions in the cutaneous lesion of chromoblastomycosis and their correlation with diferente clinical forms of the disease.** *Mycopathologia* 156: 51–60, 2003.

DURÃES, C.; MOREIRA, C. S.; ALVELOS, I.; MENDES, A.; SANTOS, L. R.; MACHADO, J. C.; MELO, M.; ESTEVES, C. E.; NEVES, C.; SOBRINHO-SIMÕES, M.; SOARES, P. **Polymorphisms in the TNFA and IL6 Genes Represent Risk Factors for Autoimmune Thyroid Disease.** Vol 9. Issue 8; e105492. *PLOS one*. August 2014.

ERRANTE, P. R.; PERAZZIO, S. F.; FRAZÃO, J. B.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C. **Associação de imunodeficiência primária com lúpus eritematoso sistêmico: revisão da literatura e as lições aprendidas pela Divisão de Reumatologia de um hospital universitário terciário em São Paulo.** *Rev Bras Reumatol*. 56(1):58–68. Elsevier. 2016.

ESTERRE, P. e QUEIROZ-TELLES, F. - **Management of Chromoblastomycosis: novel perspectives.** *Curr Opin Infect Dis* 19: 148–152, 2006.

FENG, P.; LU, Q.; NAJAFZADEH, M. J.; GERRITS VAN DEN ENDE, A. H. G.; SUN, J.; LI, R.; XI, L.; VICENTE, V. A.; LAI, W.; LU, C.; HOOG, G. S. - ***Cyphellophora* and its relatives in *Phialophora*: biodiversity and possible role in human infection.** *Fungal Divers* - 65:17–45. 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-012-0194-5>

FERNANDEZ-FLORES, A.; SAEB-LIMA, M.; ARENAS-GUZMAN, R. **Morphological Findings of Deep Cutaneous Fungal Infections.** *Am J Dermatopathol*. Vol 36, Nº 7, July 2014.

FERRAZ, M. C. M. – **Caracterização do transcrito parcial do fungo patogênico *Fonsecaea pedrosoi*.** 2011. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília. 2011.

GIMENES, V. M. F.; CRIADO, P. R.; MARTINS, J. E. C.; ALMEIDA, S. R. **Cellular immune response of patients with chromoblastomycosis undergoing antifungal therapy.** *Mycopathologia*; 162: 97–101, 2006.

GIMENES, V. M. F.; SOUZA, M. G.; FERREIRA, K. S.; MARQUES, S. G.; GONÇALVES, A. G.; SANTOS, D. W. C. L.; SILVA, C. M. P.; ALMEIDA, S. R. **Cytokines and lymphocyte proliferation in patients with different clinical forms of chromoblastomycosis.** *Microbes and Infection* 7; 708–713. Elsevier, 2005.

HAYAKAWA, M.; GHOSH, E. E. B.; SOUSA, M. G. T.; FERREIRA, K. S.; ALMEIDA, S. R. **Phagocytosis, Production of Nitric Oxide and Pro-**

inflammatory Cytokines by Macrophages in the Presence of Dematiaceus Fungi that Causes Chromoblastomycosis. Scandinavian Journal of Immunology 64, 382–387, 2006.

HOFFMANN, C. C.; DANUCALOV, I. P.; PURIM, K. S. M.; QUEIROZ-TELLES, F. **Infecções causadas por fungos demácios e suas correlações anátomo-clínicas.** An Bras Dermatol. 86(1):138-41, 2011.

HOOG, G.S.; VICENTE, V.A.; NAJAFZADEH, M.J.; HARRAK, M.J.; SEYEDMOUSAVI, S. **Waterborne *Exophiala* species causing disease in coldblooded animals.** Persoonia. 27:46–72. 2011.
<http://dx.doi.org/10.3767/003158511X614258>

HULKKONEN, J.; PERTOVAARA, M.; ANTONEM, J.; PASTERNAK, A.; HURME, M. **Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene em primary Sjögren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease.** Rheumatology. 40:656-651. 2001.

JAIN, S.; PARK, P.; SPROULE, T. J.; CHRISTIANSON, G. J.; LEETH, C. M.; WANG, H.; ROOPENIAN, D. C.; MORSE, H.C. **Interleukin 6 Accelerates Mortality by Promoting the Progression of the Systemic Lupus Erythematosus-Like Disease of BXSB. Yaa Mice.** PLOS ONE - DOI:10.1371/journal.pone.0153059. April 6, 2016.

KUHN, A. e LANDMANN, A. **The classification and diagnosis of cutaneous lupus erythematosus.** Journal of Autoimmunity 48-49; 14e19. Elsevier, 2014.

LA HOZ, R.M & BADDLEY, J. W. **Subcutaneous Fungal Infections.** Curr Infect Dis Rep 14:530–539. 2012.

LEEYAPHAN, C.; HAU, C.; TAKEOKA, S.; TADA, Y.; BUNYARATAVEJ, S.; PATTANAPRICHAKUL, P.; SITTHINAMSUWAN, P.; CHAIPRASERT, A.; SASAJIMA, Y.; MAKIMURA, K.; WATANABE, S. **Immune response in human chromoblastomycosis and eumycetoma – focusing on human interleukin-17A, interferon-gamma, tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta and human beta-defensin-2.** Mycoses: Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases - doi:10.1111/myc.12526 – (1:6). 2016.

LUPI, O.; TYRING, S. K.; MCGINNIS, M. R. **Tropical dermatology: Fungal tropical diseases.** J Am Acad Dermatol, 931-951; December 2005.

LYON, J. P.; AZEVEDO, C. M. P. S.; MOREIRA, L. M.; LIMA, C. J.; RESENDE, M. A. **Photodynamic Antifungal Therapy Against Chromoblastomycosis.** Mycopathologia; 172:293–297. 2011.

MACÊDO, D. P. C.; NEVES, R. P.; LOPES, F. C. **Case report: disseminated dermatophytosis by *Microsporum gypseum* in a systemic lupus erythematosus patient.** Brazilian Journal of Microbiology 39:25-27. 2008.

MACÊDO, D. P. C.; SILVA-JÚNIOR, H. M.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MILAN, E. P.; NEVES, R. P. **Invasive aspergillosis associated with systemic lupus erythematosus and cardiac postoperative complication.** Brazilian Journal of Microbiology 40:180-183. 2009.

MACZYNSKA, I.; MILLO, B.; RATAJCZAK-STEFÁNSKA, V.; MALESZKA, R.; SZYCH, Z.; KURPISZ, M.; GIEDRYS-KALEMBA, S. **Proinflammatory cytokine (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18 and TNF- α) levels in sera of patients with subacute cutaneous lupus erythematosus (SCLE).** Immunology Letters 102; 79–82. Elsevier. 2006.

MARCANO, M. J.; MONAGAS, A. C.; RODRÍGUEZ, A. M.; RUOTOLO, A. J.; TERÁN, J. R., URBANEJA, D. C. - **Factores asociados con la respuesta inmunológica en el lupus cutáneo.** VITAE Academia Biomédica Digital. 1317-987X, iss20. 2004.

MARQUES, G. S.; SILVA DE AZEVEDO, C. M. P.; RESENDE, M. A.; SILVA, A. A. M.; CALDAS, A. J. M.; COSTA, J. M. L. **Detection of delayed hypersensitivity to *Fonsecaea pedrosoi* metabolic antigen (chromycin).** Jpn. J. Med. Mycol. Vol 49, 95-101, 2008.

MÉNDEZ-FLORES, S.; HERNÁNDEZ-MOLINA, G.; ENRÍQUEZ, A. B.; FAZ-MUÑOZ, D. ESQUIVEL, Y. **Cytokines and Effector/Regulatory Cells Characterization in the Physiopathology of Cutaneous Lupus Erythematosus: A Cross-Sectional Study.** Mediators of Inflammation. Article ID 7074829, 15 pages. Vol 2016.

MURAKAMI, M. e HIRANO, T. - **The Pathological and Physiological Roles of IL-6 Amplifier Activation.** International Journal of Biological Sciences; 8(9):1267-1280. doi: 10.7150/ijbs.4828. 2012.

MURAYAMA, N.; TAKIMOTO, R.; KAWAI, M.; HIRUMA, M.; TAKAMORI, K.; NISHIMURA, K. **A case of subcutaneous phaeohyphomycotic cyst due to *Exophiala jeanselmei* complicated with systemic lupus erythematosus.** Mycoses, 46, 145–148. 2003.

NEGRONI, R.; TOBÓN, A.; BUSTAMANTE, B.; SHIKANAI-YASUDA, M. A.; PATINO, H.; RESTREPO, A. - **Posaconazole treatment of refractory eumycetoma and chromoblastomycosis.** Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo 47(6):339-346, November-December, 2005.

NEIVA, C. L. S.; SOUZA, V. A.; FREITAS, R. M. C.; SANTIAGO, A. M. S. T.; RESENDE, M. A.; PÁDUA, P. M. **Cromomicose causada por *Fonsecaea pedrosoi* em paciente com lúpus eritematoso sistêmico / Chromomycosis caused by *Fonsecaea pedrosoi* in a patient with systemic lupus erythesatosus.** Rev. bras. reumatol;42(5):334-337, set.-out. 2002.

NOMURA, M.; MAEDA, M.; SEISHIMA, M. **CASE REPORT Subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Exophiala jeanselmei* in collagen disease patient.** Journal of Dermatology 37: 1046–1050. 2010.

OKON, L. G. e WERTH, V. P. **Cutaneous Lupus Erythematosus: Diagnosis and treatment.** Best Pract Res Clin Rheumatol. 27(3): 391–404. doi:10.1016/j.berh.2013.07.008. June 2013.

PINDYCKA-PIASZCZYNSKA, M.; KRZYŚCIAK, P.; PIASZCZYŃSKI, M.; CIEŚLIK, S.; JANUSZEWSKI, K.; IZDEBSKA-STRASZAK, G.; JARZĄB, J.; HOOG, S.; JAGIELSKI, T. - **Chromoblastomycosis as an endemic disease in temperate Europe: first confirmed case and review of the literature.** Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 33:391–398. 2014.

PIRES, C. A. A.; XAVIER, M. B.; QUARESMA, J. A. S.; MACEDO, G. M. M.; SOUSA, B. R. M.; BRITO, A. C. **Clinical, epidemiological and mycological report on 65 patients from the Eastern Amazon region with chromoblastomycosis.** An Bras Dermatol. 87(4):555-60. 2012.

QI, Y.; ZHANG, M.; LI, H.; FRANK, J. A.; DAI, L.; LIU, H.; ZHANG, Z.; WANG, C.; CHEN, G. **Autophagy Inhibition by Sustained Overproduction of IL6 Contributes to Arsenic Carcinogenesis.** Cancer Res; 74(14) July 15, 2014.

QUEIROZ-TELLES, F. **Chromoblastomycosis: a neglected tropical disease.** Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 57(Suppl. 19):46-50, September, 2015.

RIBEIRO, L. C.; HAHN, R. C.; FAVALESSA, O. C.; TADANO, T.; FONTES, C. J. F. **Micoses sistêmicas: fatores associados ao óbito em pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana em Cuiabá, Estado de Mato Grosso, 2005-2008.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 42(6):698-705, nov-dez, 2009.

RIBEIRO, L. H.; NUNES, M. J.; LOMONTE, A. B. V.; LATORRE, L. C. **Atualizações no Tratamento do Lúpus Cutâneo** - Rev Bras Reumatol, v. 48, n.5, p. 283-290, set/out, 2008.

ROMITI, N.; DINATO, S. L. M.; ALMEIDA, J. R. P.; LAPOLI, A.; SEMENTILLI, A. - **Lúpus eritematoso cutâneo subagudo apresentando-se como eritema anular centrífugo.** An bras Dermatol, Rio de Janeiro, 79(3):353-358, maio/jun. 2004.

ROTHFIELD, N.; SONTHEIMER, R. D., BERNSTEIN, M. **Lupus erythematosus: systemic and cutaneous manifestations.** Clinics in Dermatology. 24, 348– 362. Elsevier.2006.

SANTOS, A. L. S.; PALMEIRA, V. F.; ROZENTAL, S.; KNEIPP, L. F.; NIMRICHTER, L.; ALVIANO, D. S.; RODRIGUES, M. L.; ALVIANO, C. S. - **Biology and pathogenesis of *Fonsecaea pedrosoi*, the major etiologic agent of chromoblastomycosis.** FEMS Microbiol Ver. 31; 570–591; 2007.

SANTOS, A. L. S.; PALMEIRA, V. F.; ROZENTAL, S.; KNEIPP, L. F.; NIMRICHTER, L.; ALVIANO, D. S.; RODRIGUES, M. L.; ALVIANO, C. S. **Biology and pathogenesis of *Fonsecaea pedrosoi*, the major etiologic agent of chromoblastomycosis.** - FEMS Microbiol Rev 31, 570–591, 2007.

SCHOTTE, H.; SCHLÜTER, B.; RUST, S.; ASSMANN, G.; DOMSCHKE, W.; GAUBITZ, M. **Interleukin-6 promoter polymorphism (-174G/C) in Caucasian German with systemic lupus erythematosus.** Rheumatology 40:393-400, 2001.

SILVA DE AZEVEDO, C. M. P.; BRUÑA-ROMERO, O.; MARQUES, S. G.; NASCIMENTO, F. R. F.; PINTO, M. C.; SILVA, L. A.; BOUILLET, L. É. M. **Association of IgG immunoglobulin and subclasses level with the severity of chromoblastomycosis due to *Fonsecaea pedrosoi* and therapeutic response to itraconazole.** European Journal of Clinical - Microbiology & Infectious Diseases - Vol 33, nº 10, p.1791-1797. 2014.

SILVA, A. A. L.; CRIADO, P. R.; NUNES, R. S.; SILVA, W. R. F.; KANASHIRO-GALO, L.; DUARTE, M. I. S.; SOTTO, M. N.; PAGLIARI, C. **In Situ Immune Response in Human Chromoblastomycosis – A Possible Role for Regulatory and Th17 T Cells.** PLOS Neglected Tropical Diseases, Vol 8, Issue 9 - e3162. September, 2014.

SONTHEIMER, R. D. **Subacute cutaneous lupus erythematosus: 25-year evolution of a prototypic subset (subphenotype) of lupus erythematosus defined by characteristic cutaneous, pathological, immunological, and genetic findings.** Autoimmunity Reviews 4; 253– 263. Elsevier, 2005.

SOUSA, M. G. T.; BELDA JR, W.; SPINA, R.; LOTA, P. R.; VALENTE, N. S.; BROWN, G. D.; CRIADO, P. R.; BENARD, G. **Topical Application of Imiquimod as a Treatment for Chromoblastomycosis.** Brief Report - CID 58 (15 June), 2014.

SOUSA, M. G. T.; SILVA AZEVEDO, C. M. P.; NASCIMENTO, R. C.; GHOSN, E. E. B.; SANTIAGO, K. L.; NOAL, V.; BOMFIM, G. F., MARQUES, S. G.; GONÇALVES, A. G.; SANTOS, D. W. C. L.; ALMEIDA, S. R. ***Fonsecaea pedrosoi* infection induces differential modulation of costimulatory molecules and cytokines in monocytes from patients with severe and mild forms of chromoblastomycosis.** Journal of Leukocyte Biology Volume 84, September 2008.

SOUSA, M. G.; GHOSN, E. E. B.; NASCIMENTO, R. C.; BOMFIM, G. F.; NOAL, V.; SANTIAGO, K.; SILVA AZEVEDO, C. M. P.; MARQUES, S. G.; GONÇALVES, A. G.; SANTOS, D. W. C.; CRIADO, P. R.; MARTINS, J. E. C.; ALMEIDA, S.R. **Monocyte-derived dendritic cells from patients with severe forms of chromoblastomycosis induce CD4+ T cell activation in vitro.** British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology, 156: 117–125, 2009.

SOUZA, A. W. S.; MESQUITA JUNIOR, D.; ARAUJO J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; CRUVINEL, W. M.; ANDRADE, L. E. C.; SILVA, N. P. **Sistema Imunitário – Parte III - O delicado equilíbrio do sistema imunológico entre os polos de tolerância e autoimunidade.** Rev Bras Reumatol; 50(6):665-94. 2010.

STANLEY A. C. e LACY P. **Pathways for Cytokine Secretion.** *Physiology* 25:218-229, 2010.

TABORDA, M. L.; WEBER, M. B.; TEIXEIRA, K. A. M.; LISBOA, A. P.; WELTER, E. Q. **Avaliação da qualidade de vida e do sofrimento psíquico de pacientes com diferentes dermatoses em um centro de referência em dermatologia no sul do país.** *An Bras Dermatol.* 85(1):52-6, 2010.

TORRES, E.; BERISTAIN, J. G.; LIEVANOS, Z.; ARENAS, R. **Carcinoma Epidermoide como complicação letal de lesões crônicas de cromoblastomicose.** *An Bras Dermatol.* 85(2):267-70. 2010.

TORRES-GUERRERO, E.; ISA-ISA, R.; ISA, M.; ARENAS, R. **Chromoblastomycosis.** *Clinics in Dermatology.* 30, 403–408. Elsevier, 2012.

VICENTE, V. A.; NAJAFZADEH, M. J.; SUN, J.; GOMES, R. R.; ROBL, D.; MARQUES, S. G.; AZEVEDO, C. M. P. S.; HOOG, G. S. **Environmental siblings of black agents of human chromoblastomycosis.** *Fungal Divers* - 65:47–63. 2014 <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-013-0246-5>

WANG, H.; UM, W.; JÁ, Q.; ZHANG, M.; CHEN, R.; LV, G.; SHEN, Y.; LIU, W. **Cytokine Profile of a Self-Healing *Fonsecaea pedrosoi* Infection in Murine Model.** *Cell Biochem Biophys*; 67:599–605. 2013.

WERLINGER, K. D e MOORE, A. Y. **Eumycotic mycetoma caused by *Cladophialophora bantiana* in a patient with systemic lupus erythematosus.** *J Am Acad Dermatol*; 52:S114-7. 2005.

WÜTHRICH, M.; WANG, H.; LI, M.; LERKSUTHIRAT, T.; HARDISON, S. E.; BROWN, G. D.; KLEIN, B. ***Fonsecaea pedrosoi*-induced Th17-cell differentiation in mice is fostered by Dectin-2 and suppressed by Mincle recognition.** *Eur. J. Immunol.* 45: 2542–2552. 2015.

YOUNG-MIN, S.; KANG, H.; NA, S.; LEE, H.; BAEK, J.; LEE, J. R.; ROH, J.; SEO, Y. **Chromoblastomycosis Caused by *Phialophora richardsiae*.** *Ann Dermatol Vol.* 22, No. 3, 2010.