



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS DO NÚCLEO  
DE MEDICINA TROPICAL**

**CLIVIA MARIA MORAES DE OLIVEIRA CARNEIRO**

**Imunomarcção tecidual para o fator XIIIa+ em  
dendrócitos dérmicos de lesões cutâneas com Doença de  
Jorge Lobo**

**BELÉM  
2010**

**Clivia Maria Moraes de Oliveira Carneiro**

**Imunomarcção tecidual para o fator XIIIa+ em  
dendrócitos dérmicos de lesões cutâneas com Doença de  
Jorge Lobo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de Mestre.  
Área de concentração: Clínica das doenças tropicais  
Orientador: Prof. Dr. Arival Cardoso De Brito.

**BELÉM  
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)-  
Biblioteca do Núcleo de Medicina Tropical**

---

Carneiro, Clivia Maria Moraes de Oliveira

Imunomarcção tecidual para o fator XIIIa+ em  
dendrócitos dérmicos de lesões cutâneas com Doença de  
Jorge Lobo / Clivia Maria Moraes de Oliveira Carneiro;  
orientador, Arival Cardoso de Brito.- 2010.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará.  
Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação  
em Doenças Tropicais. Belém, 2010.

1. Lobomicrose. II. Imunologia I. Brito, Arival Cardoso  
de, orient. II. TítuloCDD: 20.ed. 616.969

---

**Ficha catalográfica elaborada por Valdenira de Jesus NMT/UFPA**

Clivia Maria Moraes de Oliveira Carneiro

## Imunomarcaco tecidual para o fator XIIIa+ em dendrócitos dérmicos de lesões cutâneas com Doença de Jorge Lobo

Dissertao apresentada ao Programa de Pós-Graduao em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para obteno do grau de Mestre.

rea de concentrao: Clínica das doenças tropicais

Orientador: Prof. Dr. Arival Cardoso De Brito.

Data de aprovao:

Banca examinadora:

---

Arival Cardoso De Brito – Orientador

Livre docente

Universidade Federal do Pará

---

Edna Aoba Yassui Ishikawa

Professor Doutor

Universidade Federal do Pará

---

Francisca Regina de Oliveira Carneiro

Professor Doutor

Universidade Estadual do Pará

---

Marília Brasil Xavier

Professor Doutor

Universidade Federal do Pará/Universidade Estadual do Pará

“Qualquer que seja a postura do corpo, a alma deve estar de joelhos”.

Vitor Hugo

Aos meus filhos João Victor e Maria Fernanda, tesouros divinos que encantam a  
minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tantos motivos...

Aos meus pais, dos quais muito me orgulho; Evandro Antônio Bentes de Oliveira, meu xodó amado, pela abundância de carinho, paciência e espiritualidade que o fazem um exemplo de pai amigo e presente, e Maria de Nazaré Moraes de Oliveira, minha doce Veva, pela dedicação incondicional, conduta moral e estímulo à cultura que a tornam meu grande exemplo e principal incentivadora na busca de conhecimentos.

Aos meus filhos João Victor e Maria Fernanda Oliveira Carneiro, que mesmo sendo tão pequeninos tiveram que entender os vários períodos de ausência materna, mas compensaram com extrema alegria nos momentos de folga.

Ao meu amado Fernando Augusto Ribeiro Carneiro, companheiro e amigo, que realizou meu sonho de ter uma família feliz, com um marido dedicado e filhos frutos de amor.

Ao meu orientador, Prof Dr Arival Cardoso de Brito, admirável mestre, exemplo profissional, a quem muito me orgulho em poder chamar de “amigo”, pela extrema dedicação, pelo constante incentivo, pelos valiosos ensinamentos e por acreditar no meu trabalho.

Ao Dr Juarez Antônio Simões Quaresma, pela grande parceria na execução dos exames de imuno-histoquímica e auxílio com seus vastos conhecimentos.

À minha irmã Maria do Socorro Oliveira Portella, amiga amada, que mesmo morando distante tem constata presença na minha vida, por sua competência profissional, sua superação frente aos desafios, seu equilíbrio emocional e motivo de muita admiração.

Ao meu irmão Evandro Antônio Bentes de Oliveira Junior, por ser exemplo de seriedade, pelo seu empenho na busca de conhecimentos e por todo carinho que a mim dedica.

À minha mais que amiga Deborah Aben-Athar Unger, uma irmã amada, confidente e parceira que tenho a sorte em ter como companhia na vida pessoal e profissional.

Aos meus primos-irmãos Thaís, Melissa, Larissa, Antônio Carlos Filho e Victor que fazem a minha família ser maior em tamanho e felicidade e invadem minha vida com juventude e bons exemplos.

A todos os funcionários do Núcleo de Medicina Tropical, em especial a secretária Socorro, que me auxiliaram na elaboração deste trabalho.

Aos pacientes desconhecidos que fizeram parte da nossa investigação, pelo auxílio na busca de conhecimentos.



## RESUMO

A doença de Jorge Lobo (DJL) é uma infecção fúngica profunda, causada pelo *Lacazia loboi*, que acomete preferencialmente homens agricultores, com forma clínica queloidiana e localização nos membros inferiores. A maior incidência é encontrada na Amazônia brasileira. Há poucos relatos sobre a resposta imune tecidual nas lesões dos pacientes. Este estudo objetiva avaliar uma possível participação na patogenia da doença, dos dendrócitos dérmicos fator XIIIa (DD FXIIIa) em lesões cutâneas, através da técnica da imuno-histoquímica. Foram analisados 33 biopsias cutâneas de pacientes com DJL. O grupo controle foi representado por 10 biopsias de pele normal procedente de pacientes sem doenças dermatológicas e por 61 biopsias de pacientes com paracoccidioidomicose (PCM). Os resultados obtidos com a análise dos prontuários revelaram que a DJL acomete principalmente homens (84,8%), agricultores (72,7%), com 46-65 anos (51,5%), procedentes da região nordeste do estado do Pará (51,5%), com forma clínica queloidiana (81,8%) e localização preponderante das lesões nos membros inferiores (45,5). Os valores da contagem de DD FXIIIa nas lesões cutâneas de DJL não foram influenciados pelas variantes de gênero, idade, profissão, procedência, forma clínica e localização das lesões. A quantidade de DD FXIIIa nos pacientes com DJL foi maior do que a encontrada no grupo controle de pacientes com pele sã e no grupo de pacientes com PCM, tanto no aspecto histopatológico de granuloma frouxo (GF), como granuloma bem organizado (GBO). Em virtude dos DD FXIIIa serem considerados precursores das células de Langerhans (CLs), pode-se sugerir que o aumento deles na DJL represente um reservatório dérmico para as CLs epidérmicas e se transformariam nelas continuamente, não permitindo sua diminuição. Já foi demonstrado o aumento de citocinas do perfil Th2 (TGF- $\beta$ ) na DJL e o aumento de DD FXIIIa que é capaz de secretar o fator de TNF- $\alpha$ , observado neste estudo, mostra um predomínio do perfil Th1. Quando há uma coexpressão de citocinas de ambos os perfis na mesma doença, sugere-se a existência de padrões mistos. Então, os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a DJL é uma doença espectral, com pólos de resistência e suscetibilidade. O que talvez explique a existência de casos localizados mesmo com longa evolução da doença e casos disseminados como manifestação precoce da DJL.

Palavras chaves: Doença de Jorge Lobo, dendrócito dérmico, fator XIIIa, imunologia.

## ABSTRACT

Jorge Lobo's disease (DJL) is a deep fungal infection caused by *Lacazia loboi* which mainly affects males farmers, with the clinical form keloid and location of the lower limbs. The highest incidence is found in the Brazilian Amazonia. There are few reports on immune tissue lesions of patients. This study aims to evaluate a possible role in the pathogenesis of the disease by factor XIIIa dermal dendrocytes (FXIIIa DD) in skin lesions, using the technique of immunohistochemistry. 33 skin biopsies were analyzed from patients with DJL. The control group consisted of 10 normal skin biopsies originating from patients without dermatological diseases and 61 biopsies from patients with paracoccidioidomycosis (PCM). The results obtained by records analyzing patients' revealed that DJL affects mainly men (84.8%), farmers (72.7%) with 46-65 years old (51.5%), coming from the northeastern Pará state (51.5%) with clinical form keloid (81.8%) and predominant location of lesions in the lower limbs (45.5). The values of the count of FXIIIa DD in skin lesions of DJL were not affected by variations in gender, age, occupation, origin, clinical manifestation and localization of lesions. The amount of FXIIIa DD in patients with DJL was higher than that found in the control group of patients with healthy skin and in the group of patients with PCM to both the histopathology of loose granuloma (GF) and organized granuloma (GBO). Because of FXIIIa DD be considered precursors of Langerhans cells (LCs) can be suggested that their increase in DJL reflects a reservoir for the LCs and transform them time and again, don't allowing their decrease. It has been demonstrated the increase in the levels of Th2 cytokines (TGF- $\beta$ ) in the DJL, and the increase of FXIIIa DD that is able to secrete the factor TNF- $\alpha$ , observed in this study, shows a dominance of Th1. Whereas there is a co expression of cytokine profiles of both, the study suggests the existence of mixed patterns. So, the results obtained in this work suggest that DJL is a spectral disease, with a tendency of resistance or susceptibility. What might explain the existence of focal cases even with long duration of disease and disseminated cases like early manifestation of DJL.

Keywords: Jorge Lobo's disease, dermal dendrocytes, XIIIa factor, immunology.

## LISTA DE ABREVIATURAS

Am	Amazonas
Ig	Imunoglobulina
Pa	Pará
Pe	Pernambuco

## LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
APC	Célula apresentadora de antígeno
BSA	Soro-albumina-bovina
CD	Célula dendrítica
CGM	Célula gigante multinucleada
CL	Célula de Langerhans
DD	Dendrócito dérmico
DF-BE	Diacetato de fluoresceína e brometo de etídeo
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DNCB	Dinitroclorobenzeno
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
EIA	Eritroimunoadsorção por captura e detecção de Ac.
EUA	Estados Unidos da América
FXIIIa	Fator XIII a da coagulação
HE	Hematoxilina-eosina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Human leucocyte antigen
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IL	Interleucina
INF- $\gamma$	Interferon-gama
JDE	Junção dermo-epidérmica
LILACS	Literatura Latino-americana em Ciências de Saúde
mAb	Monoclonal antibody
MHC	Major histocompatibility complex
MID	Membro superior direito
MIE	Membro inferior esquerdo
MMII	Membros inferiores
MSD	Membro superior direito
MSE	Membro superior esquerdo
MMSS	Membros superiores

NI	Não identificado
NK	Natural killer
PAS	Ácido periódico de Schiff
PCM	Paracoccidiodomicose
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RNA	Ácido ribonucléico
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TGF	Fator de crescimento tumoral
UFPA	Universidade Federal do Pará

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> – Infiltrado granulomatoso com abundantes fungos em macrófagos e células multinucleadas (HE- 400x).....	54
<b>Figura 02</b> – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto ao gênero.....	60
<b>Figura 03</b> – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à faixa etária.....	60
<b>Figura 04</b> – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à profissão .....	61
<b>Figura 05</b> – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à procedência .....	61
<b>Figura 06</b> – Forma clínica queloidiana da Doença de Jorge Lobo .....	62
<b>Figura 07</b> – Forma clínica verrucosa da Doença de Jorge Lobo.....	62
<b>Figura 08</b> – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à forma clínica.....	63
<b>Figura 09</b> – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à localização das lesões .....	64
<b>Figura 10</b> – Padrão de imunomarcção para FXIIIa em lesões cutâneas com Doença de Jorge Lobo. Notar positividade para reação localizada na derme, apresentando células positivas que se dispõem principalmente ao redor de vasos na derme, em meio ao infiltrado histiocitário característico dessas lesões (400 x).....	64
<b>Figura 11</b> – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a idade dos 33 pacientes estudados .....	65
<b>Figura 12</b> – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e o gênero dos 33 pacientes estudados .....	69
<b>Figura 13</b> – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a profissão dos 33 pacientes estudados.....	71
<b>Figura 14</b> – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a procedência dos 33 pacientes estudados.....	72
<b>Figura 15</b> – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a forma clínica das lesões nos 33 pacientes estudados .....	73

<b>Figura 16</b> – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a localização das lesões nos 33 pacientes estudados .....	74
<b>Figura 17</b> – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA /DT nos grupos de pacientes estudados .....	76

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto ao gênero, faixa-etária, profissão e procedência.....	59
<b>Tabela 02</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à forma clínica e localização das lesões.....	63
<b>Tabela 03</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à quantidade de FXIIIa por UA/DT.....	66
<b>Tabela 04</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à idade .....	67
<b>Tabela 05</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto ao gênero.....	69
<b>Tabela 06</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à profissão .....	70
<b>Tabela 07</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à procedência .....	72
<b>Tabela 08</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à forma clínica das lesões...	73
<b>Tabela 09</b> – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à localização das lesões. ....	74
<b>Tabela 10</b> – Distribuição descritiva dos valores de DD FXIIIa nos grupos estudados. ....	75



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
2.1 GERAL.....	22
2.2 ESPECÍFICOS.....	22
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>23</b>
3.1 DOENÇA DE JORGE LOBO.....	23
3.1.1 Conceito.....	23
3.1.2 Sinonímia.....	23
3.1.3 Aspectos Históricos.....	24
3.1.4 Agente Etiológico.....	25
3.1.5 Epidemiologia.....	27
3.1.6 Patogenia.....	29
3.1.7 Clínica .....	30
3.1.8 Diagnóstico Diferencial .....	32
3.1.9 Diagnóstico Laboratorial.....	33
3.1.10 Imunologia.....	37
3.1.11 Terapêutica .....	38
3.1.12 Prognóstico .....	39
3.2 CÉLULAS DENDRÍTICAS .....	39
3.3 DENDRÓCITOS DÉRMICOS .....	40
3.4 FATOR XIIIa.....	46
3.5 IMUNOLOGIA DAS MICOSES PROFUNDAS .....	47
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>53</b>
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	53
4.2 DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO.....	53
4.3 PARECER DE ÉTICA .....	53
4.4 PROCESSO PARA OBTENÇÃO DOS DADOS .....	54
4.5 SELEÇÃO DE PACIENTES .....	55
4.6 CONTROLES .....	55
4.7 TÉCNICA DE IMUNOMARCAÇÃO NO TECIDO .....	56
4.8 ANÁLISE QUANTITATIVA.....	56
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	56
4.10 DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA.....	57
4.11 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	58
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>59</b>
5.1 RESULTADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS.....	59
5.2 RESULTADOS IMUNOHISTOQUÍMICOS .....	64
5.3 RESULTADOS COMPARATIVOS .....	66
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>77</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>84</b>

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>85</b>
<b>APENDICE A .....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>102</b>
<b>ANEXO 2 .....</b>	<b>103</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença de Jorge Lobo (DJL) é uma infecção fúngica profunda, de longa evolução, granulomatosa, causada pelo fungo *Lacazia loboi*, com prognóstico bom quanto à vida do paciente, porém reservado quanto a regressões das lesões (SILVA, 1994a).

Diferentes denominações podem ser encontradas na literatura como Lacaziose, Mal de Jorge Lobo, Lobomicose, Blastomicose queloidiana, dentre outras (BARUZZI, 1984).

O relato pioneiro de Jorge Lobo em 1931 na cidade de Recife-Pe, sobre um paciente procedente da Amazônia motivou vários trabalhos e investigações que culminaram com o surgimento desta nova entidade mórbida, a qual leva seu nome (LEITE, 1967).

Após a descrição de Taborda et al. (1999), o agente etiológico da enfermidade passou a ser chamado de *Lacazia loboi*. Anteriormente já recebera várias nomenclaturas como *Glenosporella loboi*, *Paracoccidioides loboi*, *Loboa loboi* e outras (HERR, 2001).

O *Lacazia loboi* é um fungo imperfeito e apresenta-se nas lesões cutâneas sob forma arredondada, com parede refringente de duplo contorno. Sua reprodução ocorre através da gemulação simples e frequentemente as células fúngicas encontram-se agrupadas formando cadeias com 2 a 8 células (DIAS et al., 1970).

No Brasil, apesar do predomínio amazônico, merece destaque à alta prevalência entre os índios Caiabi. Há registros da doença nas áreas amazônicas de países limítrofes, como Colômbia, Venezuela, Guiana Francesa, Peru, Costa Rica e Suriname. Há ainda relatos no México, Honduras e Panamá, um único relato nos EUA, Canadá e outro na Europa (VILANI-MORENO, 2002).

A DJL tem distribuição geográfica contida nas regiões de clima tropical e subtropical. É descrita nos diversos grupos étnicos, sobretudo nos indivíduos de área rural. O sexo masculino e a faixa etária entre 21 e 45 anos são preponderantes (BARUZZI et al., 1979; OPROMOLLA et al. 2000b).

A constatação de uma patogenia pouco esclarecida pode ser melhor entendida quando lembramos que o agente etiológico nunca foi cultivado e que as tentativas de inoculação em animais ainda não mostram resultados consistentes (BRITO; QUARESMA, 2007).

A pele parece ser a porta de entrada do fungo através de traumatismos por vegetais ou picadas de insetos. O período de incubação é variável, porém tem média de 1 a 2 anos. Não há relatos comprovando a transmissão inter-humana da doença, no entanto, há casos descritos de transmissão experimental e acidental desta enfermidade (MARCOS, 2001).

Do ponto de vista clínico, a DJL é representada por um polimorfismo lesional e a forma queloidiana é a mais frequente (OPROMOLLA et al., 1999b, 2000b).

As regiões anatômicas mais acometidas, nesta enfermidade, são os membros inferiores, seguidos do pavilhão auricular e membros superiores (CÁRCERES, 1991; SILVA; BRITO, 1994b).

A resposta do hospedeiro à infecção causada pelo *L. loboi* varia entre pacientes. Há casos localizados de longa evolução e casos disseminados como manifestação precoce da doença. Supõe-se que o desenvolvimento clínico da lesão decorra de condições da injúria tecidual ou imunodeficiência. Os mecanismos que favorecem a disseminação e como ela ocorre, são desconhecidos (PECHER; FUCHS, 1988).

O diagnóstico diferencial da DJL com base na morfologia lesional, deve ser feito com hanseníase, leishmaniose tegumentar, cromomicose, esporotricose, dermatofibrossarcoma, queloides, dentre outros (LACAZ et al. 1986).

O exame micológico direto é um recurso simples e de baixo custo que pode diagnosticar a doença. Apesar da grande quantidade de fungos presentes nas lesões dos pacientes, as técnicas de culturas atuais ainda não são capazes de isolá-los (MIRANDA; SILVA, 2005; VILELA et al., 2005).

Do ponto de vista histopatológico, há difusa reação histiocitária com aglomerados de células gigantes tipo corpo estranho e tipo Langhans e abundância de fungos dentro ou não dessas células. Há intensa fibrose e em menor quantidade plasmócitos, linfócitos e neutrófilos. A epiderme pode ter aspecto variado com atrofia, hipertrofia e normalidade numa mesma lesão (VILANI-MORENO et al., 2005).

À microscopia eletrônica observam-se, no *L. Lobo*, vários núcleos e no citoplasma mitocôndrias, retículo endoplasmático, vesículas, ribossomos e gotas de lipídios (VILANI-MORENO, 2002).

Na DJL, os estudos abordando os aspectos imunológicos são raros, provavelmente pelo *L. lobo* ainda não ter sido cultivado. Nos poucos trabalhos sobre o assunto, a grande maioria dos casos emprega antígenos do *P. brasiliensis* e às vezes do *Histoplasma capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis* (LANDMAN, 1988; VILANI-MORENO, 2002).

Drogas como clofazimina, sulfas, imidazólicos, anfotericina e 5-fluorocitosina foram experimentadas, com respostas a desejar. Há a possibilidade de se obter a cura definitiva da doença através da remoção cirúrgica precoce (ROSA, 1997). Embora os recursos terapêuticos sejam decepcionantes, a doença não tem êxito letal, pois não compromete o estado geral do paciente (TALHARI, 1981).

Em relação à imunidade celular, os estudos feitos por Pecher et al. (1979) verificaram uma redução parcial de resposta imune celular dos 14 pacientes portadores da DJL avaliados. Aspectos ratificados nos relatos de Pecher e Fuchs (1988).

Apesar de todos esses relatos, ainda pouco se sabe quanto a imunologia da enfermidade em questão. O sistema imune tem como principal função proteger o hospedeiro contra infecções microbianas, portanto é muito importante a descoberta de como ele age nesta doença (VILANI-MORENO, 2002).

A análise do sistema imunológico pode ser obtida através da avaliação da imunidade celular e humoral. A imunidade celular, por sua vez, pode ser avaliada, dentre outras maneiras, através das células apresentadoras de antígenos (APC) (ABBAS, 2005).

O principal tipo de APC envolvido no processo de iniciar a resposta das células T é a célula dendrítica (CD). Ela é fundamental para a imunofisiopatologia das doenças inflamatórias e infecciosas, faz parte do sistema imune inato e pode ser encontrada em todos os tecidos humanos (ABBAS, 2005).

Os dendrócitos dérmicos (DD), células dendríticas presentes na derme normal que são identificados pela positividade ao fator de coagulação XIIIa, são considerados como macrófagos apresentadores de antígenos e fazem parte do sistema fagocítico-macrofágico. Podem estar aumentados nas doenças inflamatórias e tumorais (HOYO, 1993; NESTLE, 1999).

Pela escassez de conhecimentos imunológicos na DJL, a investigação dos dendrócitos dérmicos nos pacientes portadores desta doença pode incorporar novos paradigmas na evolução desta doença.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL:

Avaliar a imunoexpressão tecidual para dendrócito dérmico (DD) marcado com fator XIIIa nas lesões cutâneas dos pacientes estudados com DJL.

### 2.2 ESPECÍFICOS:

- a) Quantificar a imunomarcção para DD marcado com fator XIIIa em amostras teciduais oriundas de lesões de pacientes com DJL.
- b) Quantificar a imunomarcção para DD marcado com fator XIIIa em amostras teciduais oriundas de pele normal provenientes de pacientes sem doenças dermatológicas e pele acometida por PCM.
- c) Fazer o levantamento dos dados clínicos e epidemiológicos dos casos estudados, correlacionando com o padrão observado na literatura.
- d) Comparar os resultados obtidos da quantidade de DD FXIIIa nas lesões cutâneas dos pacientes estudados com DJL conforme a idade, gênero, profissão, procedência, forma clínica e localização das lesões nos 33 pacientes estudados.
- e) Comparar os resultados imuno-histoquímicos das lesões cutâneas dos pacientes estudados com DJL, com amostras de pele normal provenientes de pacientes sem doenças dermatológicas e com pele acometida por outra micose profunda, a PCM, visando uma melhor compreensão da imunologia desta infecção.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 DOENÇA DE JORGE LOBO

##### 3.1.1 Conceito

A DJL é uma micose profunda granulomatosa, de evolução crônica, causada por um fungo patogênico obrigatório, *Lacazia loboi*, a qual se manifesta usualmente por lesões cutâneas queloidianas, localizadas predominantemente no pavilhão auricular e membros inferiores e superiores de humanos. Há casos descritos em vários países da América Latina, porém na Amazônia brasileira encontra-se o maior número de casos (TABORDA et al., 1999a; OPROMOLLA, 2003; MARCOS et al., 2005; VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997).

##### 3.1.2 Sinonímia:

Diversas nomenclaturas têm sido usadas para esta doença, como: Micose de Jorge Lobo, Mal de Jorge Lobo, Doença de Jorge Lobo, Enfermidade de Jorge Lobo, Blastomicose queloidiana, Blastomicose queloidiforme de Lobo, Blastomicose amazônica, Dermatite blastomicótica queloidiana, Lobomicose, Blastomicose tipo Jorge Lobo, Blastomicose Amazônica, Granulomatose blastomicóide, Granuloma micótico de Lobo, “miraip” e “piraip”, estes dois últimos termos utilizados na língua Tupi, Lepra dos Caiabi, falsa lepra e mais recentemente Lacaziose (RODRIGUEZ-TORO, 1989, 1993; PRADINAUD; TALHARI, 1996; TALHARI; NEVES, 1995; OPROMOLLA; BARUZZI, 2005).



### 3.1.3 Aspectos Históricos:

Jorge de Oliveira Lobo, médico do Recife-Pe (Brasil), em 1931 observou um paciente do sexo masculino, 52 anos, natural do estado do Amazonas, o qual corresponde ao 1º caso da DJL. Este paciente apresentava nódulos e placas de aspecto queloidiano, localizados na região lombossacral, estendendo-se às regiões glúteas com 19 anos de evolução (RODRIGUEZ-TORO, 1989, 1993; PRADINAUD; TALHARI, 1996; BRITO; QUARESMA, 2007).

O segundo caso foi publicado pelo patologista Amadeu Fialho (1938 apud RODRIGUEZ-TORO, 1993), em paciente masculino de 55 anos, também natural do estado do Amazonas, apresentando lesões queloidianas no pavilhão auricular, com 12 anos de evolução. Nesta publicação firmou-se o 1º uso do termo “Lobo’s disease”.

Posteriormente outros casos brasileiros foram diagnosticados, e Trejos e Romero (1953), na Costa Rica, descreveram o 1º caso fora do Brasil, correspondendo ao 11º caso mundial. Em seguida, novas descobertas fora do território brasileiro foram sendo reportadas pela 1ª vez: Herrera (1955), no Panamá; Campo-Aasen (1958), na Venezuela; Henao Pelaio (1958), na Colômbia; Fontan (1960), na Guiana Francesa; Veersema e Niemel (1965), no Suriname; Rivas (1972), no Peru; Bhawan (1976), na Guiana Inglesa; Zavala e Perez (1978), no México, e Recaceochea (1982), na Bolívia. Lacaz, Baruzzi e Rosa (1986) citaram casos em Honduras e no Equador (PRADINAUD; TALHARI, 1996; TALHARI; NEVES, 1995; BRITO; QUARESMA, 2007).

O primeiro caso descrito nos Estados Unidos foi em 2000, em paciente residente na Geórgia, com antecedente de visita a Venezuela. Há ainda um relato de caso no Canadá (BURNS, 2000).

O conceito da DJL como sendo uma doença latino-americana, perdeu a validade em 1971, quando foi demonstrada pela 1ª vez em golfinho (*Tursiops truncatus*) capturado na costa da Flórida, por Migaki et al. (1971), quadro praticamente idêntico ao da DJL (WOODARD, 1972; TABORDA et al., 1999a).

No total, oito golfinhos, sendo sete da espécie *T. truncatus* e um *Sotalia guianensis*, contaminados com DJL foram observados na costa da Espanha, Flórida, Suriname e Brasil. Há relato de dois casos em humanos contaminados por contato com golfinho na Europa (HERR, 2001).

### 3.1.4 Agente Etiológico

O agente etiológico da DJL é um fungo que “*in vivo*” apresenta-se sob a forma globosa, unicelular, com espessa parede de duplo contorno, refringente, tipo leveduriforme, com ou sem ramificações de cadeias, com três ou mais células conectadas por pequenos e estreitos túbulos, conferindo aspecto de colar de contas ou rosário. Essa configuração catenular é uma marca micológica da DJL. Apresenta também, com certa frequência, as formas em halteres (HERR, 2001; AZULAY; AZULAY, 2006).

As células fúngicas medem de 5 a 12  $\mu\text{m}$  de diâmetro, são detectadas em vários corantes fúngicos e podem ser realçadas pelos métodos histoquímicos de ácido de Schiff (PAS) e pela prata-metenamina (Grocott-Gomori) (HERR, 2001; TABORDA et al., 1999a).

Em virtude do agente etiológico nunca ter sido cultivado, a identificação taxonômica do fungo tem sido controversa. Muitas nomenclaturas já foram utilizadas como *Glenosporella lobo* (FONSECA FILHO; ÁREA LEÃO, 1940), *Blastomyces brasiliensis* (CONANT; HOWELL, 1941), *Glenosporopsis amazonica* (FONSECA FILHO, 1943), *Paracoccidioides lobo* (ALMEIDA; LACAZ, 1949), *Blastomyces lobo* (LANGERON; VANBREUSEGHEM, 1952), *Loboa lobo* (CIFERRI; AZEVEDO; CAMPOS; CARNEIRO, 1956), *Lobomyces lobo* (BORELLI, 1958) (LACAZ et al., 1994; PRADINAUD; TALHARI, 1996; HERR, 2001).

Taborda e McGinnis (1999b) propuseram a designação *Lacazia lobo*, a qual é utilizada na atualidade.

Baseados na morfologia leveduriforme e em estudos utilizando sondas de DNA, podemos dizer que o *L. lobo* faz parte do reino *Fungi*. Conforme recentes estudos de biologia molecular, o agente da DJL se assemelha filogeneticamente e antigenicamente ao *P. brasiliensis*, e ambos pertencem à ordem *Onygenales* juntamente com outros fungos dimórficos patogênicos, como *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* e var. *duboisii* (HERR, 2001).

A parede celular do fungo é fibrilar, tem 1 µm de espessura e possui três camadas, onde se observa a presença de melanina constitutiva, pigmento não observado no *P. brasiliensis* e ascomicetos, fungos filogeneticamente relacionados da família *Onygenaceae* (TABORDA et al., 1999a; DINIZ, 2001). Há relatos de presença de hifas filamentosas nos exames de pacientes com DJL (DIAS et al., 1970).

Admite-se que o fungo viva como saprófita no solo, em vegetais e na água (SAMPAIO; RIVITTI, 2000). O processo de inoculação ainda é obscuro, acreditando-se que a pele seja a porta de entrada do fungo e a penetração ocorra por traumatismos com fragmentos vegetais contaminados. A transmissão inter-humana do agente etiológico foi observada de modo acidental e experimental, e restringe-se a casos isolados (TALHARI; NEVES, 1995).

Através da inoculação do fungo, lesões localizadas já foram obtidas em testículo de rato branco, quelônio e tatu (AZULAY; AZULAY, 2006). Ainda não há um modelo animal aceito como ideal para a reprodução experimental dessa micose, pois se trata de fungo pouco patogênico (VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997). No entanto, para alguns autores, os camundongos BALB/c parecem constituir um bom modelo experimental, principalmente para as pesquisas terapêuticas (MADEIRA et al., 2000).

### 3.1.5 Epidemiologia

Provavelmente o habitat natural do *Lacazia loboi* está nas áreas de florestas tropicais e subtropicais, com clima quente e úmido, alto índice pluviométrico (mais de 2.000 mm/ anuais) e temperatura em torno de 24° C, com relevo de floresta densa entrecortada por rios caudalosos. Condições climáticas encontradas na Amazônia brasileira, a qual detém o maior número de casos. (BARUZZI, 2005; OPROMOLLA; TALHARI, 1988).

Coleções aquáticas também parecem ser seu habitat, em virtude da contaminação de golfinhos e de pessoas que moram próximo a rios (RODRIGUEZ-TORO, 1993; TELLEZ, 1992; SILVA, 1996).

A doença não distingue grupo populacional humano, predomina no sexo masculino (90% dos casos), entre os que exercem atividades no meio rural como seringueiros, garimpeiros, agricultores, caçadores, mateiros, indígenas, entre outros, pois há maior exposição aos fatores de risco (PRADINAUD; TALHARI, 1996).

Entre os índios Caiabi, no Brasil, há um predomínio feminino em 32% dos casos, pois as atividades agrícolas das mulheres na floresta são comuns nesta tribo (PRADINAUD; TALHARI, 1996).

A faixa etária predominante é entre 20 e 40 anos, apesar de haver relatos na 5ª década de vida e poucos em crianças (MARCOS et al., 2005).

Marcos, em 2001, sugeriu a primeira associação entre antígenos de histocompatibilidade na DJL, porém estudos mais recentes não confirmaram essa hipótese, no entanto, há uma diminuição da frequência do antígeno HLA-DR7 (MARCOS et al., 2005).

Em estudo realizado no ano 2004 com 13 pacientes portadores de DJL avaliando a distribuição dos grupos sanguíneos ABO e Lewis em relação à população em geral, não demonstrou resultado estatisticamente significativo (SILVA; FERASÇOLI, 2004).

A DJL é típica da região neotrópica, sendo a região amazônica a mais acometida. Segundo Brito e Quaresma (2007) é difícil estabelecer com exatidão o número de casos da doença, por não ser de notificação obrigatória, no entanto estima-se que há 490 casos relatados no mundo, sendo 318 encontrados no Brasil, incluindo os 61 índios da tribo Caiabi (OPROMOLLA, 1999b; MARCOS et al., 2005).

No Departamento de Dermatologia da Universidade Federal do Pará, no período de 1955 a 2005, foram registrados 109 casos de pacientes portadores da DJL, todos com comprovação por exame histopatológico e ou micológico (BRITO; QUARESMA, 2007).

No Brasil, além da Amazônia, merece destaque a região centro-oeste, onde viviam os índios Caiabi. Países como Colômbia, Suriname, Guiana Francesa, Venezuela, Panamá, Peru, Costa Rica, Bolívia, Equador, Honduras e México têm menor quantidade de casos. Os casos registrados fora das Américas adquiriram a doença durante a permanência neste continente ou por contato acidental com golfinho contaminado (RODRIGUEZ-TORO, 1993).

Até 1998 havia 61 casos de DJL descritos entre os índios da tribo Caiabi, quando habitavam o estado de Mato Grosso, sem esclarecimento da predisposição. Conforme Baruzzi e Marcopito (1994 apud OPRMOLLA; BARUZZI, 2000b), os casos dessa tribo já representaram 20% da casuística nacional. Foi sugerida uma elevada exposição a áreas endêmicas, além de uma combinação genética restrita em uma reduzida população, originando um genótipo suscetível à DJL para justificar a alta incidência. Após a mudança dessa tribo para o Parque do Xingu, entre 1950 e 1970, não houve casos novos, enaltecendo o fator ambiental (BARUZZI et al., 1979, 1984; MARCOS et al., 2005; BRITO; QUARESMA, 2007).

Para a epidemiologia ainda não está esclarecida a contaminação de golfinhos, único animal que desenvolveu a doença naturalmente, uma vez que há uma grande diferença da fisiologia e habitat entre humanos e esses mamíferos aquáticos. Os aspectos clínicos das lesões e o exame micológico direto revelaram achados no animal, similares aos encontrados em humanos (WOODARD, 1972; CALDWELL et al., 1975; OPRMOLLA et al., 1999a).

Na histopatologia, os aspectos encontrados foram de granuloma histiocitário com células xantocrômicas e o tamanho do parasita parece ser duas vezes maior no homem do que no golfinho. Na microscopia eletrônica, o mecanismo de desintegração das células, no golfinho, ocorre por uma descamação na sua parede celular e no homem pela formação de poros. Em nenhum animal foi observado comprometimento visceral ou linfático (WOODARD, 1972; CALDWELL et al., 1975; OPROMOLLA et al., 1999a).

Em 1999, primatas *Aotus sp* capturados nas matas do Peru, apresentaram alterações sistêmicas causadas por fungos leveduriformes ainda não classificados, com grande similaridade à microscopia ótica e eletrônica ao *L. lobo*, ressaltando aspectos ainda desconhecidos da enfermidade (MILLER; OWENS, 1999).

### 3.1.6 Patogenia

A patogenia da DJL ainda é obscura, vide o não cultivo do agente em laboratório e os experimentos em animais ainda não terem resultados consistentes (BRITO; QUARESMA, 2007).

É muito variável a resposta individual do paciente frente às agressões causadas pelo *L. lobo*. Há indivíduos que em um curto período, as lesões evoluem para uma forma mais extensa e disseminada e outros que por muitos anos persistem com a forma localizada da doença (OPROMOLLA; BARUZZI, 2005).

Admite-se que a pele seja a porta de entrada para o fungo através de solução de continuidade por traumatismos com fragmentos vegetais, picadas de insetos ou de cobra. O período de incubação é incerto, em média de um a dois anos (LACAZ et al., 1986). Há um relato com período de incubação de três meses e, em outro extremo, relato de sete anos (OPROMOLLA et al., 1999a).

Muitos pacientes relacionam o surgimento das lesões, sobretudo as localizadas no pavilhão auricular, com a picada de artrópodes, carrapatos do grupo

ixodídeos, que poderiam ser um tipo de vetor (SILVA, 1996). Há também suposições relacionando o aparecimento da doença com acidente ofídico, descarga de pólvora saída pela culatra de arma de fogo e outras, que devem ser avaliadas com reserva (BRUN, 1999; BRITO; QUARESMA, 2007).

O *L. loboi* parece manter-se viável em materiais diversos como vegetais solo e água. Transmissão inter-humana não está comprovada, inclusive nos casos com convívio íntimo e prolongado da mesma família (OPROMOLLA, 1999b).

É descrita a disseminação das lesões por contiguidade, por auto-inoculação, e por via linfática, especialmente quando há comprometimento dos membros inferiores. Para alguns autores, pode ocorrer a infecção sem manifestação clínica, como acontece em outras micoses, a citar a PCM, porém sem confirmação diagnóstica, como a reação intradérmica de paracoccidina positiva (VILANI-MORENO, 2002).

### **3.1.7 Clínica**

Clinicamente a lesão inicial é de uma pápula que conflui dando origem à placa ou nódulo. O quadro clínico clássico é de lesão queloidiana, dura, lisa, semi-esférica, cor castanho-amarronzado, isolada ou confluyente, formando massas multilobulares, recobertas de pele íntegra, lisa, brilhante, com telangiectasias e nítida delimitação com a pele sã. Outros aspectos observados são lesões verrucosas, ulceradas, gomosas, esclerodermiformes, maculares e infiltrativas (FUCHS et al., 1990; OPROMOLLA, 1999b).

O polimorfismo lesional é o mais encontrado no exame clínico, principalmente nos casos de longa evolução. Pode haver pontos enegrecidos na superfície das lesões, correspondendo à eliminação transepitelial do fungo como ocorre em outras micoses profundas, a exemplo da cromoblastomicose (LEITE, 1967; FUCHS et al., 1990; OPROMOLLA, 1999b).

As lesões localizam-se em ordem de frequência nos membros inferiores, pavilhão auricular e membros superiores. Nos membros inferiores ocorrem principalmente lesões polimórficas e sua alta incidência talvez decorra da maior exposição às injúrias. Nas orelhas observamos infiltração difusa, nódulos, telangiectasias e até deformidades (LOUREIRO et al., 1971).

Apesar da DJL poder acometer qualquer local do tegumento, é rara no lábio e não há relatos no couro cabeludo ou mucosas (LOUREIRO et al., 1971; BRITO; QUARESMA, 2007).

Alguns autores acreditam que o *L. lobo* tem tropismo pelas áreas mais frias do corpo, como orelhas e extremidades dos membros, e os nódulos da doença são mais frios que a pele vizinha, apesar de não haver provas por mensuração (AZULAY, 1976; AZULAY; AZULAY, 2006).

As lesões são geralmente assimétricas, assintomáticas, de crescimento lento e localizadas, motivos que retardam a procura médica e o diagnóstico precoce. Pode haver disseminação por contiguidade, por via linfática ou hematogênica. Os gânglios linfáticos regionais quando acometidos são duros e sem flutuação. Não há comprometimento sistêmico e o estado geral é conservado (OPROMOLLA, 2003; AZULAY, 1976; AZULAY; AZULAY, 2006).

Os tipos clínicos podem ser classificados em monomórficos e polimórficos. As lesões cutâneas podem ser localizadas, multifocais ou disseminadas. Avaliando as lesões podemos classificá-las como brandas (menores de 5 cm), moderadas (entre 6 e 15 cm) e severas (maiores de 16 cm) ou a combinação desses tipos de lesão (BRITO, 2006).

Várias classificações clínicas foram sugeridas; Machado propôs dois grupos polares: hiperérgico (máculas e gomas) e hipoérgico (queloidiforme); Baruzzi et al., (1979) e Lacaz et al., (1986) propuseram classificações conforme distribuição em formas isoladas ou localizadas e formas disseminadas (BRITO; QUARESMA, 2007).



Apesar do envolvimento de órgãos internos não ser frequente, há um caso descrito na Costa Rica, com comprometimento testicular e linfangite secundária, após 47 anos de doença (CÁCERES; TORO, 1991).

Não há relatos de comprometimento no estado geral do paciente, exceto nos casos de lesões ulceradas que sofrem infecção secundária e nos que ocorre degeneração carcinomatosa. Geralmente o quadro é assintomático, porém por vezes há queixas de ardor, prurido e anestesia local (CÁCERES; TORO, 1991; PRADINAUD, 1998).

Algumas enfermidades já foram descritas na literatura em associação com a DJL como hanseníase tuberculoide, cromoblastomicose, PCM, tuberculose ganglionar, leishmaniose, vitiligo, neurofibromatose, dermatofitose e, mais recentemente, a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) (TALHARI, 1981; BRITO; QUARESMA, 2007).

### **3.1.8 Diagnóstico Diferencial**

O diagnóstico diferencial é bastante variado em virtude do polimorfismo lesional que a doença pode adquirir. Devemos considerar Leishmaniose tegumentar e anérgica, Hanseníase em todas as formas, Sarcoidose, PCM, Cromoblastomicose, Esporotricose, Feo-hifomicose, Histoplasmose, Micetoma, Tuberculose cutânea, Sarcoma de Kaposi, Molusco contagioso (sobretudo no HIV-positivo), Histiocitoses cutâneas não-Langerhansianas (FUCHS et al., 1990, PRADINAUD, 1998).

Melanoma, cânceres de pele não melanoma, dermatofibrossarcoma, metástases cutâneas e neoplasias benignas como queloides, dermatofibromas, neurofibromas, lipomas, angiomas, leiomiomas, cistos entre outros também devem ser considerados (NALOVIC; PRADINAUD, 1996; FUCHS et al., 1990, PRADINAUD, 1998; BRITO; QUARESMA, 2007).

### 3.1.9 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico pode ser realizado pelo exame micológico direto, em material obtido de lesões cutâneas por escarificação, raspagem, curetagem ou uso da fita gomada (método de Porto), colocando o material sobre lâmina com solução clarificadora de hidróxido de potássio (KOH), associada, ou não, ao dimetil-sulfóxido (KOH-DMSO). São encontrados corpos leveduriformes, isolados, aos pares ou em cadeias de formas catenulares com comunicação por pontes tubulares, dando aspecto de rosário. Apesar da abundância de parasitas, o fungo ainda não foi cultivado (PRADINAUD, 1998; DINIZ, 2001; MIRANDA; SILVA, 2005; BRITO; QUARESMA, 2007).

Habitualmente, na histopatologia, observa-se atrofia da epiderme e nos casos vegetante- verrucosos, hiperplasia epitelial e hiperkeratose. No entanto a epiderme pode estar normal, com aplainamento das cristas interpapilares ou ulcerada. A membrana basal está espessada (BRITO; QUARESMA, 2007).

Na derme observam-se vasos dilatados e infiltrado inflamatório granulomatoso, nodular e difuso, rico em histiócitos (muitos xantomizados devido a polissacarídeos e/ou lipídios intracelulares), além de linfócitos, células epitelioides, células gigantes tipo Langhans e tipo corpo estranho com citoplasma repleto de parasitos e, em menor quantidade, eosinófilos e plasmócitos. Neutrófilos e necrose são raros. As estruturas nervosas estão íntegras nos interstícios do conjuntivo e no granuloma (OPROMOLLA et al., 1999a; BRITO; QUARESMA, 2007).

Assim como ocorre na cromoblastomicose, há casos onde observamos a eliminação transepidérmica do fungo, isto é, presença no estrato córneo entre as escamas e escamocroscas do *L. loboi*, representados clinicamente por pontos negros na pele que recobre as lesões (FUCHS et al., 1990; BRITO; QUARESMA, 2007).

Nos estudos sobre DJL há vários relatos de macrófagos com citoplasma de aspecto espumoso ou granular, semelhantes às células de Gaucher, possivelmente resultante do acúmulo de fragmentos do fungo, que após ser

endocitado, sofre ação das enzimas lisossomais dos macrófagos. Na microscopia ótica esses macrófagos adquirem um aspecto espumoso (SESSO, 1988).

Corpos asteroides foram relatados no infiltrado granulomatoso nas células multinucleadas tipo Langhans, como é observado em outras doenças granulomatosas (MICHALANY, 1995; BRITO; QUARESMA, 2007).

Na coloração de hematoxilina-eosina (HE) observa-se um grande número de células fúngicas isoladas ou em cadeia, intra ou extracelulares, com aspecto semelhante ao já descrito no item agente etiológico. Aspectos morfológicos pouco encontrados como pseudo-hifas já foram observados (SESSO et al., 1993).

O conteúdo intracitoplasmático das células fúngicas é variável, pode ser representado por farto material, por algumas partículas ou ser completamente vazio, representativo de fungos inviáveis. O fungo pode ser corado de azul-celeste na coloração especial de trypan-blue (SAMPAIO et al., 1971).

Na coloração de Grocott (prata metenamina) observa-se o fungo sobre uma cor de fundo que pode ser o verde-luz, a suframina, Van Gieson ou a própria HE. Nesta técnica os fungos têm tonalidades que variam do negro ao marrom mais claro, além de alguns apresentarem a parede corada de tom amarelado e o restante vazio, sem cor ou em locais aparentemente sem fungos há quantidades variáveis de uma substância granulosa com tonalidade marrom escura (SESSO; BARUZZI, 1988; SESSO et al., 1993; OPROMOLLA et al., 1999a).

O material granuloso presente em locais sem fungos, e os fungos com cápsulas vazias que eram considerados um simples precipitado do corante durante o procedimento da técnica de coloração, atualmente é analisado como material relacionado ao fungo. Segundo Chander et al (1980 apud OPROMOLLA et al., 1999a) esse material granuloso corresponderia à digestão do fungo, isto é, a sua própria destruição. Por isso, onde há maior quantidade de fungos com cápsulas vazias, haveria maior quantidade dessa substância correspondente aos restos do parasita destruído no interior de macrófagos.

A coloração da suspensão de *L. loboi* pelo diacetato de fluoresceína associado ao brometo de etídeo (DF-BE) constitui o melhor método para avaliar a

viabilidade deste fungo e revela percentuais baixos de positividade nas amostras analisadas, possivelmente devido ao número de cápsulas vazias observadas nos cortes de HE. É considerado que os fungos mais escuros e com material no seu interior são os viáveis e os mais claros são mais deteriorados e inviáveis (VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997).

Opromolla et al. (1999a) compararam as alterações observadas na coloração do *L. lobo* utilizando o método de Grocott com os resultados obtidos na coloração DF-BE, estudando a natureza do material granuloso encontrado (VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997; VILANI-MORENO, 2003). Foi considerada a possibilidade de análise da viabilidade do *L. lobo* e concluído que o material granular do interior de macrófagos se trata de restos deste fungo (OPROMOLLA et al., 1999a).

O tecido celular subcutâneo é pouco encontrado nas amostras de pele, no entanto quando presente revela que o infiltrado inflamatório granulomatoso é escasso. Não se observa frequentemente alteração na cartilagem, mesmo nos casos localizados no pavilhão auricular. Leite (1967 apud BRITO; QUARESMA, 2007) descreveu um caso da enfermidade com invasão do infiltrado granulomatoso da derme ao músculo subjacente.

Conforme Vilani-Moreno et al. (2004), na histopatologia da DJL há predomínio de histiócitos, células gigantes multinucleadas (CGM) e muitos fungos, alguns deles com aspecto de inviabilidade. Os linfócitos são esparsos e os neutrófilos raros, configurando o granuloma do tipo corpo estranho. Não há um arranjo celular característico, mas os linfócitos estão próximos de histiócitos e CGM formando pequenos focos ou agrupados ao redor de vasos. Independente da clínica ser localizada ou não, o padrão histopatológico é similar, tanto no tipo quanto na distribuição das células.

Na técnica de coloração histoquímica de Fontana-Masson, o *L. lobo* apresenta melanina constitutiva na sua parede celular, semelhante ao *Cryptococcus neoformans* e diferente do *P. brasiliensis*. A melanina fúngica é um pigmento marrom escuro, que parece conferir resistência aos oxidantes produzidos por macrófagos e

as células melanizadas tem maior resistência a fungicidas e fungistáticos em relação às células não melanizadas (VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997).

Os fungos melanizados são mais resistentes às alterações causadas pela luz ultravioleta (irradiações, raios-X, dessecação e temperaturas elevadas). A produção deste pigmento tem sido associada à virulência fúngica, à resistência ao ataque microbiano e à sobrevivência acentuada em ambiente de estresse (VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997).

Na microscopia eletrônica observou-se que as células macrofágicas estavam repletas de um material eletrondenso, que corresponderia à parede do fungo, em cujo citoplasma havia mitocôndrias, ribossomas, retículo endoplasmático granular e vacúolos (OPROMOLLA et al., 1999a; BRITO, 1999; DINIZ, 2001).

Os estudos moleculares para obtenção genômica do *L. loboi* têm enfrentado grandes dificuldades, sobretudo pelo fato de mais de cinquenta por cento das células fúngicas leveduriformes com infectividade tissular estarem mortas (VILELA, 2005).

A dificuldade em obter êxito com a inoculação em animais de laboratório pode ocorrer em virtude da pequena quantidade de *L. loboi* viáveis inoculados (SILVA, 1996; VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997). Os camundongos BALB/c parecem constituir um bom modelo experimental, diferentemente da bolsa jugal de hamster que não favorece a proliferação deste fungo (MADEIRA, 2000; OPROMOLLA; NOGUEIRA, 2000a).

Inoculação em ser humano voluntário realizado por Borelli conseguiu produzir nódulo de crescimento lento com tamanho de 3,0 cm após quatro anos de evolução, porém retirado material para inoculação em animais não foi possível reproduzir a enfermidade (OPROMOLLA, 1999b; BRITO; QUARESMA, 2007).

Conforme citação de Brito e Quaresma (2007), o médico Leite, em 1967, realizou auto-inoculação, por via intradérmica, na face anterior do antebraço esquerdo, com material de paciente portador da DJL. Somente após 19 meses, surgiu no local do inoculo, lesão do tamanho da cabeça de alfinete, que evoluiu progressivamente em forma de nódulo queloidiano, até atingir 4 x 3,5 cm. Após 22

anos de acompanhamento, a lesão apresentou sinais de involução possivelmente pelo uso prolongado de cloridrato de prazosina.

### 3.1.10 Imunologia

São poucos os relatos sobre a imunidade na DJL. Apesar das lesões serem ricas em macrófagos e células gigantes, que fagocitam grande quantidade de fungos, há uma deficiência parcial da imunidade celular, com reação de dinitroclorobenzeno (DNCB) negativa e aumento no tempo de rejeição ao enxerto cutâneo, mas o teste tuberculínico é positivo (PECHER, 1994).

A associação à imunodeficiência celular grave, como em pacientes HIV-AIDS, não altera o curso da doença (XAVIER et al., 2006).

Brito e Quaresma (2007), em recente relato, fizeram a análise imuno-histoquímica de lesões cutâneas de 25 casos da DJL do Departamento de dermatologia da Universidade Federal do Pará (UFPA) e observaram positividade para CD68 e intensa marcação para TGF- $\beta$ . Observaram também inibição da expressão de óxido nítrico e IFN- $\gamma$ , induzindo fibrinogênese e apoptose de algumas células.

O marcador de atividade de macrófagos CD68 mostrou reatividade menor que a esperada em virtude da grande quantidade das células de linhagem macrofágicas que compõe o infiltrado, podendo traduzir uma menor atividade metabólica microbicida dessas células (BRITO; QUARESMA, 2007; XAVIER et al., 2008).

A citocina TGF- $\beta$  inibe fortemente a atividade microbicida dos macrófagos, que pode explicar em parte a fraca reatividade para o CD68 encontrada na DJL, além de induzir fibrose, justificando as extensas áreas colágenas e a ausência de granulomas bem formados observadas nas lesões, que poderiam retratar o aspecto

clínico queloidiano observado na maioria dos casos (BRITO; QUARESMA, 2007; XAVIER et al., 2008).

O TGF- $\beta$  induz a apoptose de células imunes e inibe a resposta imunológica celular, levando a suscetibilidade a infecções crônicas e agudas como acontece na hanseníase, febre amarela e hepatites crônicas (XAVIER et al., 2008).

Vilani-Moreno et al 2004 quantificou as citocinas em sobrenadante de cultura de células de pacientes com DJL, e detectou uma diminuição de IL-2 e aumento de IL-4 e IL-6. Esse predomínio no perfil Th2, conforme a autora poderia alterar a capacidade de regulação dos mecanismos responsáveis pela contenção do agente etiológico na DJL.

### **3.1.11 Terapêutica**

Várias drogas empregadas no tratamento da DJL, como anfotericina B, sulfas, cetoconazol, itraconazol, e 5-fluorocitosina, não tiveram resultados satisfatórios. A cirurgia nas lesões recentes de pequeno porte oferece melhor possibilidade de cura, no entanto a recidiva é frequente, possivelmente pela permanência de macrófagos parasitados ao redor e à distância da lesão, que se disseminam principalmente por via linfática (FUCHS et al., 1990; PRADINAUD, 1998).

Há relatos de resultados favoráveis com a clofazimina, 100-200 mg/dia por 1-2 anos, tornando as lesões menos túrgidas, com tendência a ulcerações. Em julho de 2006, Bravo empregou o posoconazol em um único paciente, na dose de 400mg/dia com redução do volume da lesão na orelha esquerda (CÁCERES; TORO, 1991; CUCÉ et al., 1980; FUCHS et al., 1990; PRADINAUD, 1998; BRITO; QUARESMA, 2007).

### 3.1.12 Prognóstico

O prognóstico é bom quanto à vida, pois não afeta o estado geral, no entanto é frustrante na terapêutica (RODRIGUEZ-TORO, 1993; PRADINAUD, 1998).

Já foram relatados dois casos com evolução de 40 anos de doença, em índios Caiabi, associados a carcinoma espinocelular como complicação da DJL, um caso necessitou de amputação do membro afetado e outro faleceu com metástase pulmonar (BARUZZI, 1989; RODRIGUEZ-TORO, 1989).

## 3.2 CÉLULA DENDRÍTICA (CD)

O termo CD foi originalmente empregado por Steinman e Cohn (1973) para descrever um novo tipo de célula que estava presente no fígado e linfonodos normais de ratos (SUEKI et al., 1995).

As CDs são consideradas células acessórias imunes, que se originam na medula óssea. Expressam antígenos do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) classe II, mostram relativa ausência de atividade fagocítica e apresentam uma potente função no processamento e apresentação de antígenos (ABBAS, 2005; SUEKI et al., 1993).

Para alguns autores, são as células apresentadoras de antígenos (APC) mais potentes conhecidas e agem como sentinelas na iniciação de respostas de linfócitos T a antígenos proteicos, e na rejeição de órgãos transplantados, pois sua função é a captura de antígenos estranhos e seu transporte para os órgãos linfoides periféricos (NESTLE; BURG, 1999).



Na sequência dos acontecimentos, as CDs são capazes de captar o antígeno, processá-lo, movê-lo para linfonodos adjacentes e apresentar o respectivo peptídeo antigênico em um contexto de moléculas do MHC para os linfócitos T, os quais carregam um receptor de células T apropriado (ABBAS, 2005; NESTLE, 1993; NESTLE; BURG, 1999).

Distingue-se de outras células mononucleares por quatro principais características: pela morfologia, caracterizada por múltiplas projeções, granularidade e tamanho característicos que lhes atribuem propriedade peculiar na citometria de fluxo; pela motilidade, que as capacitam a carregar o antígeno “*in vivo*” para os linfonodos; pela não aderência ao plástico; e pela ausência de marcadores para células T, B e NK (NESTLE; NICKOLOFF, 1995).

Estão presentes em órgãos linfóides, nos epitélios da pele e nos tratos respiratórios e gastrointestinais, bem como na maioria dos órgãos parenquimatosos (NESTLE; NICKOLOFF, 1995; NESTLE, 1994).

A CD é o principal tipo de APC envolvida no processo de iniciar as respostas das células T e o melhor estudo de APC na pele é a célula de Langerhans (CL) epidérmica, apesar de uma população de CD, mais recentemente, também ter sido identificada na derme humana, chamada de dendrócito dérmico (ABBAS, 2005; NESTLE; NICKOLOFF, 1995).

### 3.3 DENDRÓCITO DÉRMICO (DD)

Os DDs representam uma população de células dendríticas residentes no tecido conjuntivo dérmico, originada na medula óssea, identificada por um marcador relativamente específico, o fator de coagulação XIIIa (FXIIIa) (SUEKI et al., 1995).

A descoberta de CD expressando o FXIIIa remonta a 1984, quando Fear e colaboradores constataram através de técnica de imunoperoxidase, a presença citoplasmática desta enzima nas células do tecido conjuntivo, que esses autores

havam interpretado como fibroblastos. O termo DD foi primeiramente empregado por Headington (1986) para descrever células polidendríticas na derme humana, que foram diferenciadas dos fibroblastos dérmicos, como eram descritas anteriormente, através de técnicas imunoenzimáticas em virtude de sua atividade oxidativa (HOYO et al., 1993).

Os DDs representam macrófagos apresentadores de antígenos, que fazem parte do sistema monocítico-macrofágico, são CD-1a e proteína S-100 negativas e expressam altos níveis de moléculas MCH classe II (SUEKI et al., 1995; NESTLE; NICKOLOFF, 1995).

No estudo de Nestle (1993), observou-se que as CD dérmicas exibem achados típicos como a morfologia, forte reatividade para antígenos do MHC classe II e a ausência de marcadores para células T, B e NK. A imunotipagem positiva para marcadores HLE-1 e CD34 confirma sua origem na medula óssea, além de partilhar alguns antígenos de superfície celular com um sub-tipo de monócitos-macrofágicos, que se presume serem originários da medula óssea (HOYO et al., 1993).

Têm características histoenzimáticas (estearase+, lisozima+, quimotripsina+) e imuno-histoquímicas (OKM1+, S22+, S100-, OKT6-) que demonstram suas diferenças com relação às CL e fibroblastos (PAGLIARI, 2002b).

Podem agir como macrófagos, APCs ou participar na homeostasia de macromoléculas da derme. Na microscopia ótica se apresentam como fibroblastos, com quem já foram confundidos. Figuram entre as células mais dendríticas dos tecidos humanos. Sua morfologia varia ligeiramente em função da localização, na derme papilar são mais volumosas, na derme profunda, são mais estreitas e fusiformes (HOYO et al., 1993).

Na pele normal, os DDs estão concentrados em três extratos dérmicos definidos: diretamente abaixo da junção dermo-epidérmica (JDE), ao redor de vasos sanguíneos superficiais dérmicos (dendrócitos perivasculares) e difusos na derme profunda (dendrócitos dérmicos reticulares) (SUEKI et al., 1995).

Na derme média e profunda os DDs são observados no tecido conjuntivo mole, envolvendo anexos cutâneos como glândulas sudoríparas e folículos pilosos.

Foram também encontrados no interior de filamentos nervosos dérmicos, entre as fibras de colágeno e no septo conjuntivo interlobular do tecido adiposo. Na papila dérmica do folículo capilar há uma população de DDs que aumenta na fase anágena precoce do ciclo capilar (HOYO et al., 1993).

A proporção numérica de DDs parece ser maior no feto, na criança e nos indivíduos com sinais de fotoenvelhecimento cutâneo, em relação às áreas fotoprotegidas do adulto (HOYO et al., 1993).

Os DDs parecem ter extensiva função fagocítica a qual lhes permite ingerir pigmentos como melanina, carvão e hemossiderina. Como APCs, ocupam lugar estratégico ao redor de vasos sanguíneos na derme papilar e entre as células endoteliais, podendo agir como uma unidade funcional para supervisionar a chegada de antígenos provenientes da epiderme ou derme (HEADINGTON; CERIO, 1990; HOYO et al., 1993).

Esse novo membro da família das CDs apresentadoras de antígenos parece, para a maioria dos autores, ser um possível precursor dérmico das CLs epidérmicas, diferenciando-se nelas após uma migração intra-epidérmica e tem um grande papel na resposta imune celular. No entanto, em outras publicações, cientistas discordam dessa suposição. Os DDs em algumas situações têm correlação inversa entre sua densidade e as das CLs (HOYO et al., 1993; NESTLE; NICKOLOFF, 1995).

Nestle (1998) evidenciou que os DDs são tão eficientes quanto as CLs e mais potentes do que os monócitos na internalização, processamento e apresentação de antígenos proteicos solúveis, como o toxoide tetânico

Alguns fatores devem ser levados em consideração no mecanismo de ação sobre os DDs. Em relação aos raios ultravioletas (UV), foi observada uma diminuição na quantidade de DD na pele não exposta de pessoas idosas em relação às pessoas jovens, diferentes das áreas fotoexpostas de idosos que tem quantidade semelhante aos jovens. Esse fato sugere que, em oposição ao que ocorre com as CLs, os raios UV agem como fator estimulante aos DD. A PUVA-terapia (psoraleno + UVA) parece induzir a alterações similares (HOYO et al., 1993).

Agentes farmacológicos como o ácido retinoico tópico induzem uma hiperplasia do DD na derme papilar, possivelmente pela inflamação resultante de sua aplicação. Em contra partida, os corticoides tópicos induzem a uma diminuição do tamanho e dos processos dendríticos dos DDs na derme papilar. Algumas citocinas como a IL-1 levam a elevação do número, do volume e da dendricidade dos DD e o IFN- $\gamma$  aumenta a expressão dos antígenos HLA-DR. Finalmente agressões mecânicas podem também agir sobre os DD de diversas maneiras (HOYO et al., 1993).

A expressão de FXIIIa em condições linfoproliferativas e em tumores de células fusiformes varia, conforme observaram alguns autores; segundo Cério em 1993, as lesões de cicatrizes e queloides são completamente negativas para FXIIIa, porém Derrick et al., (1993) informaram que nas cicatrizes, queloides e morfeia, as células FXIIIa são mais numerosas na borda da lesão e ausentes nas regiões escleróticas centrais.

No histiocitoma cútis, pápula fibrosa do nariz, angiofibromas faciais da doença de Bourneville, angioceratomas digitais, xantogranulomas juvenis e fibroxantomas atípicos observa-se intensa marcação para FXIIIa (CERIO et al., 1990a).

O dermatofibroma é rico em DDs, sobretudo, nas formas jovens. Sua composição celular sugere uma participação de células monocíticas-macrofágicas HLA-DR positivas, CD1a negativas, portanto, diferentes das CLs, fato responsável pela criação do termo “dendrocitoma” para nomear o tumor em questão. O seu equivalente maligno, histiocitoma maligno e sua variedade superficial, o fibroxantoma atípico, contém igualmente numerosas células FXIIIa positivas (HOYO et al., 1993).

Outros tumores como dermatofibrosarcomas, leiomiossarcoma, neurilemoma e schwannoma maligno quase nunca apresentam células FXIIIa positivas. O xantogranuloma juvenil e os xantomas disseminados possuem porcentagem considerável (20 a 70%) de DD FXIIIa, enquanto que as células de histiocitose Langerhansiana são FXIIIa negativas (HOYO et al., 1993).

A hipótese de que o DD poderia ser a célula de origem das células fusiformes do sarcoma de Kaposi (SK) associado à AIDS, não foi confirmada. Parece que o DD é um componente do infiltrado reacional peritumoral, cuja densidade está diminuída no SK com imunodepressão, como na AIDS e nos transplantes de órgãos, em relação ao SK clássico. Sugerindo que os DDs ou seus precursores medulares estão submetidos à ação inibitória dos fatores imunossupressores medicamentosos ou virais, como as células imunocompetentes do organismo (HOYO et al., 1993).

Em tumores melânicos benignos como nevo de Spitz e malignos como o melanoma, os DDs apresentam uma distribuição difusa ou na periferia do tumor, que parece depender do modo de crescimento da lesão e não de sua natureza (benigna ou maligna). Em linfomas cutâneos, principalmente na micose fungóide, os DDs foram observados no infiltrado dérmico e na epiderme (HOYO et al., 1993).

As células FXIIIa estão em grande número no granuloma piogênico, ausentes nas radiodermatites crônicas, e no carcinoma basocelular há variação no número, na maioria está ausente ou raro. A hiperplasia dessa população celular pode ser considerada como um achado associado à hiperplasia vascular, independente da doença onde isso ocorra. A população celular se torna hiperplásica quando ocorre uma angiogênese proeminente e ela desaparece no estágio tardio de fibrose e esclerose, como na morfeia e carcinoma basocelular (ARRESE; PIERARD, 1990).

Essas células aumentam em alguns tumores cutâneos e estão envolvidas em dermatoses inflamatórias onde agem através da produção de citocinas (HOYO et al., 1993).

Nas dermatoses crônicas eritemato-escamosas como psoríase, eczema atópico e eczema de contato, há aumento no número dos DDs perivasculares (CERIO, 1993)

Nestle (1993) sugere que o estímulo original para o surgimento das lesões de psoríase parece começar com a ativação dos DDs que podem subsequentemente iniciar a cascata de eventos que resulta no estabelecimento do sistema de citocinas em ambos os compartimentos cutâneos; epiderme e derme.

A maioria do infiltrado de células T na psoríase é localizado na derme com distribuição perivascular, exatamente onde o maior número de DD pode ser detectado pelo imunoestadiamento. Como são as APCs que dirigem as respostas celular T, um papel fundamental desses DDs talvez ocorra (NESTLE; BURG, 1999).

Alguns trabalhos sugerem que na psoríase, o DD estimulado por fatores exógenos ou endógenos pouco conhecidos, produz TNF- $\alpha$ , em quantidade bem maior que os mastócitos e as CLs, o qual age nos ceratinócitos induzindo um estado hiperproliferante. Foi demonstrado *in vitro* que na psoríase os DDs induzem linfócitos T a produzirem IFN- $\gamma$  e IL-2 (HOYO et al., 1993; PAGLIARI; SOTTO, 2002a).

Streilein (1989) evidenciou que em circunstâncias fisiológicas a indução da hipersensibilidade de contato por aplicação de haptenos epicutâneos conta primariamente com a capacidade de APC da epiderme (CL) e da derme (DD).

Alguns autores sugerem que os DDs poderiam ser infectados com o HIV no decorrer da AIDS, pois foi observado em pacientes HIV-positivos, que as células FXIIIa + de lesões de psoríase e SK continham unidades transcritas de HIV, evidenciadas por hibridização *in situ*. Foi sugerido que o HIV poderia agir sobre os DDs como um estímulo endógeno (HOYO et al., 1993).

Recentemente, um segundo tipo de célula dendrítica dérmica, denominada por alguns de “dendrócito dérmico II” (por oposição ao “dendrócito dérmico I”, objeto do presente trabalho), foi identificado. Essa célula se distingue do DD pela ausência da expressão do FXIIIa e pela expressão do antígeno das células de origem hematopoiéticas CD34, presentes na pele normal e patológica, numa distribuição particular, diferente do DD (HOYO et al., 1993).

O significado dos DDs não está completamente estabelecido, mas sugere-se que há grande papel na resposta imune cutânea, na reparação de feridas e na proliferação de fibroblastos (DERRICK, 1993).

A presença de DDs no adventício perivascular ressalta a função na homeostase cutânea. É possível que os DDs perivasculares sejam importantes no abastecimento local da transglutamina necessária para a estabilização do coágulo e

para a formação de fibronectina ligada, o que facilita a cicatrização. O papel dessas células não se limita, provavelmente, à pele (CERIO, 1993).

### 3.4 FATOR XIII (FXIII)

FXIII é um fator de coagulação sanguínea existente no plasma e plaquetas como um complexo tetramérico com dois tipos de subunidades; a e b, que correspondem a duas cadeias de proteínas. A atividade catalítica do FXIII como uma transglutaminase reside no componente a, o qual se torna ativo após a clivagem do componente b por sua exposição à trombina e íons cálcio. A catálise da ligação isopeptídica do FXIIIa está envolvida com a estabilização da coagulação de fibrina (MUSBZEK et al., 1985; CERIO; JONES, 1990b).

Há duas formas de transglutaminases; FXIII plasmático ou extracelular e FXIII intracelular. A porção extracelular é um tetrâmero que consiste no *dímero* da subunidade ativa a (FXIIIa) aderida ao dímero da proteína carreadora. A porção intracelular é o *dímero* da proteína isolada, sem a carreadora. A subunidade a de ambas as formas é idêntica (CERIO; JONES, 1990b).

Cério, Spaul e Jones (1988 apud CERIO et al., 1989) encontraram um anticorpo policlonal de coelho para FXIIIa que é excelente marcador para fixar células do tecido conectivo dérmico na pele normal. Essas células teriam aparência de fibroblastos, mas provavelmente representam um reservatório intrínseco de fagócitos mononucleares, as quais, por Headington foram denominadas de DDs. Outras células dendríticas residentes da derme como as células de Schwann, mastócitos ou células endoteliais são FXIIIa negativas (CERIO; JONES, 1990b).

Outros estudos indicaram que o FXIIIa e macrófagos marcados com MAC 387 coram-se separadamente, possibilitando uma não sobreposição da população celular na pele normal do adulto e em várias condições patológicas (CERIO et al., 1990a; PENNEYS, 1990).

O padrão das células FXIIIa positivas é similar em ambos os sexos e ao longo da vida, ultraestruturalmente tem um característico núcleo dobrado e membrana celular ondulada. O citoplasma aparece relativamente escuro, contém mitocôndrias e lisossomos e não contém grânulos de Birbeck, é CD1a negativa e tem atividade fagocítica (SUVARNA; COTTON, 1993).

A concentração de FXIIIa encontra-se elevada em condições nas quais a síntese de proteína hepática é acentuada, como na síndrome nefrótica e hipertrigliceridemias e baixa quando a síntese de proteína hepática está prejudicada como na doença hepática crônica. (FEAR et al., 1984).

O FXIIIa é uma proenzima presente no plasma e plaquetas que faz parte do caminho final da coagulação sanguínea comum, na qual se formam coágulos pela junção da fibrina à proteína. Sugere-se que fique armazenado nas células que rodeiam vasos superficiais para serem liberados extracelularmente, após injúria local, da seguinte maneira; o FXIII liga o coágulo de fibrina à proteína estrutural, estabilizando a coagulação e auxiliando na garantia da cicatrização (PENNEYS, 1990).

Para alguns autores, o DD FXIIIa corresponde a uma população pluripotencial capaz de em circunstâncias diversas, ter função efetora de macrófagos, auxiliar na cicatrização de feridas, função de APC e talvez na diferenciação em CLs com posterior migração para epiderme (HOYO et al., 1993; ADANY et al., 1988)

### 3.5 IMUNOLOGIA DAS MICOSES PROFUNDAS

A patogenia da PCM depende, sobretudo, da resistência do hospedeiro e da virulência e patogenia do fungo. Muitas pessoas são expostas ao fungo, mas um pequeno número desenvolve a doença, sugerindo uma resistência adquirida e inata. A imunidade mediada por células é a preponderante, e macrófagos ativados parecem providenciar uma maior linha de defesa. A resistência inicial a este



patógeno é governada por genes autossômicos dominantes ativando macrófagos e controlando a habilidade fagocítica e microbicida dessas células (CALICH et al., 1998).

Nas formas severas de PCM há perda gradual da imunidade celular, altos títulos de anticorpos específicos, com intenso envolvimento de vários órgãos e progressivas lesões que podem levar à morte. A forma mais branda da doença, com poucas lesões localizadas, conserva uma resposta imune celular e baixos níveis de anticorpos específicos. Indivíduos expostos a este fungo usualmente desenvolvem infecção assintomática, provavelmente refletindo um bom balanço e eficaz resposta imune anti-*P. brasiliensis*, indicando que eles têm resistência ao hospedeiro (CALICH et al., 1998; BERNARD et al., 2001, FORNARI et al., 2001).

Semelhante a outras doenças, na PCM, muitos fatores regulam a resistência e suscetibilidade como a dose do antígeno, APCs e microenvolvimento coestimulatório, os quais auxiliam na determinação da resposta imune preferencial a ser ativada (ALMEIDA; LOPES, 2001).

Indivíduos que desenvolvem a PCM na forma aguda ou crônica têm redução na atividade microbicida, na apresentação de antígenos e formação de granuloma. Na PCM, o granuloma reflete o sistema imune do hospedeiro tentando destruir e conter o patógeno (CALICH et al., 1998; BERNARD et al., 2001).

Conforme estudos de Almeida e Lopes (2001), em modelos experimentais com PCM, ratos resistentes direcionam resposta imune para ativação Th1 ativando predominantemente a secreção de INF- $\gamma$  e IL-2, levando à resolução da doença. Diferentemente, ratos suscetíveis ativam Th2 com baixos níveis de INF- $\gamma$  e secreção precoce de altos níveis de IL-5 e IL-10, levando à doença progressiva, além do aumento de IgE, IgG4, IgA e eosinofilia, que é um marcador de pior prognóstico em micoses endêmicas (ALMEIDA; LOPES, 2001).

Muitos relatos têm demonstrado que a resistência da infecção ao *P. brasiliensis* está ligada a produção de INF- $\gamma$ . Estudos *in vitro* mostram que macrófagos ativados por INF- $\gamma$  têm ação fungicida para *P. brasiliensis*. Os macrófagos não ativados, por outro lado, são destruídos após infecção, permitindo a

liberação de leveduras (BRUMMER et al., 1988; ALMEIDA; LOPES, 2001; GIMENES et al 2006; PAGLIARI, 2002b).

Altas concentrações de TNF- $\alpha$  foram demonstradas em pacientes com PCM. TNF- $\alpha$  age na ativação de macrófagos, células T independentes e produção de interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), o qual pode ativar macrófagos a secretar TNF- $\alpha$  e a inibir a replicação do *P. brasiliensis*. Essa observação sugere que o TNF- $\alpha$  liberado pelos macrófagos acentua e perpetua as suas próprias síntese e secreção, que levam a acumulação de macrófagos, diferenciação epitelióide e persistência de granuloma bem formado (PAGLIARI; SOTTO, 2002a).

Certos estudos experimentais supõem que em modelos de proteção de PMC, CLs, outras CDs e macrófagos podem ser as principais APCs, as quais favorecem a preservação da imunidade mediada por células que levam à doença benigna e cura espontânea. Nos modelos de exacerbação, mesmo que a presença de CLs seja encontrada na fase inicial, células B esplênicas dominam o caminho da ativação, favorecendo o desenvolvimento da sub-população tipo 2 e imunidade humoral, levando à doença severa (BERNARD et al., 2001).

Ratos com deficiência de células T mantém a habilidade de regular a população fúngica durante a fase precoce da doença, indicando um importante papel da imunidade inata da PCM (CALICH et al., 1998; BERNARD et al., 2001).

Gimenez et al., (1987) descreveram que o reduzido número de células de Langerhans encontrado em pacientes com PCM, talvez reflita a depressão da imunidade mediada por células secundárias à infecção pelo *P. brasiliensis*.

Conforme Figueiredo et al., (1993), a virulência e patogenicidade do fungo são correlacionadas com muitos componentes da sua parede celular.  $\alpha$ -glucana (polissacarídeo que existe somente no parasita leveduriforme, não há na forma miceliana) da parede celular parece ser relacionada com a virulência e a  $\beta$ -glucana da parede celular pode suscitar migração leucocitária e reação inflamatória granulomatosa.

Em relato feito por Puccia et al. (1986), utilizando o antígeno purificado do *P. brasiliensis*, a glicoproteína gp43, e a imunoprecipitação, foram reveladas reações

cruzadas em soros de pacientes com DJL. O mesmo achado foi obtido por Vidal et al. (1997), utilizando várias provas imunoquímicas. Landman et al., (1988) observaram antigenicidade cruzada entre *L. loboi* e *P. brasiliensis*, empregando método imunoenzimático com anticorpo policlonal de coelho anti-*P. brasiliensis* em lesões cutâneas de portadores de DJL.

Em condições inflamatórias, aumento do número de DD FXIIIa+ tem sido descrito, mas não em doenças granulomatosas como sarcoidose e tuberculose. Alguns estudos demonstraram que em lesões cutâneas de PCM os DDs aparecem hipertrofiados e hiperplásticos, e são encontrados com incomum frequência na derme superficial e reticular ao redor de granulomas. Alguns autores sugerem que essas alterações morfológicas ocorrem pela capacidade dos DDs em apresentar antígenos (PAGLIARI; SOTTO, 2002a).

Na Coccidioidomicose, similar a PCM, o desenvolvimento da doença está relacionado com a deficiência de IFN- $\gamma$ . A negativa correlação entre a secreção de IL2 ou IFN- $\gamma$  e a grande quantidade de anticorpos específicos produzidos por esses pacientes, sugere fortemente que a rede de citocinas influencie no tipo de resposta imune demonstrada pelo paciente (BERNARD et al., 2001).

Na Cromomicose, ocorre um predomínio de resposta imune celular, sendo que os macrófagos, as CLs e os DDs parecem funcionar como APCs. Nas formas severas há alta expressão de IL-10, baixos níveis de IFN- $\gamma$  e ineficiência na proliferação de células T (SOTTO et al em 2004; GIMENES et al., 2006).

A Cromomicose parece ser uma doença espectral bipolar, onde pacientes com resposta imune pobre encontram-se sem granulomas verdadeiros, com perfil fenotípico de células inflamatórias e expressão local de citocinas em especial a IL10, refletindo perfil de resposta imune TH2 e, no outro polo, pacientes com boa resposta imune encontram-se com granulomas bem formados, fenótipo celular e expressão local de citocinas, como IFN - $\gamma$ , compatíveis com o perfil de resposta imune TH1.

Na forma clínica verrucosa da Cromomicose, que corresponde à maioria dos casos, há granuloma supurativo, hiperplasia pseudoepiteliomatosa, microabscessos com numerosas formas fúngicas viáveis, muitos mastócitos, células

CD34+, grande proliferação capilar e fibrose que correspondem à expressão de IL10. Na forma clínica com atrofia, observamos granuloma tuberculóide, epiderme atrófica, granuloma de células epitelióides, CLs, linfócitos e ausência de microabscessos, além de pouca quantidade de mastócitos e células CD34+, os quais correspondem à expressão de IFN- $\gamma$  (D'ÁVILA et al., 2002; SOTTO et al., 2004).

A imunidade celular está parcialmente deprimida, mas a imunidade humoral não está afetada nos pacientes com DJL (PECHER; FUCHS, 1988; PECHER et al 1979).

Segundo Viani-Moreno et al., (2004), os monócitos de pacientes portadores de DJL são hábeis em fagocitar o *L. loboi*, à semelhança dos indivíduos saudáveis. A fagocitose do micro-organismo representa um mecanismo de defesa inespecífico de vital importância para o hospedeiro. Os macrófagos e monócitos são fagócitos profissionais, que podem neutralizar, deglutir e destruir partículas, incluindo agentes infecciosos, os quais possuem alto potencial fagocítico.

Em relação a DJL e PCM, alguns aspectos na morfologia fúngica e na histopatologia diferem, porém há similaridades químicas e antigênicas entre as espécies. A parede celular de ambos os agentes, quando marcadas com corantes, têm propriedades de formar complexos com alguns polissacarídeos ou oligossacarídeos que mostram similares propriedades de pigmentação, sugerindo algumas semelhanças das estruturas químicas superficiais. O *L. loboi* parece compartilhar antígenos com o *P. brasiliensis* (LANDMAN et al., 1988).

A imunologia da DJL é pouco conhecida sobretudo pelo agente etiológico ainda não ter sido cultivado *in vitro*, não havendo antígeno adequado para o teste sorológico. A estratégia para superar essa dificuldade consiste em usar anti-soros policlonais produzidos contra *P. brasiliensis*, pois estes soros têm a capacidade de reagir com os antígenos do *L. loboi* presentes no tecido das lesões cutâneas da DJL. Essas reações cruzadas podem ser demonstradas pela imunofluorescência e pelo método enzimático peroxidase-antiperoxidase (LANDMAN et al., 1988).

Camargo et al. (1998) relataram que soro de coelho contaminado com *P brasiliensis* reage com material histológico de biopsias de pacientes com DJL, e soro de pacientes com DJL reage com *P brasiliensis* nas culturas de imunofluorescência indireta. Entretanto não conseguiram definir os antígenos envolvidos nesta antigenicidade cruzada. ELISA e EIA identificaram que o gp43, antígeno maior do *P brasiliensis* foi reconhecido pelo soro da DJL, sugerindo representar o principal antígeno da reação cruzada ou que seria compartilhado entre os dois fungos. Esse assunto será melhor entendido quando se tornar possível a cultura in vitro do *L. Lobo*.

A diminuição da população de células de Langerhans em processos patológicos, como na hanseníase multibacilar, é descrita por vários autores. No entanto, Quaresma et al. (2010), observaram que as CLs estão presentes nas lesões cutâneas da DJL em quantidade similar àquelas encontradas na pele normal, sugerindo algum mecanismo de escape imunológico do agente ou do hospedeiro. Esses autores utilizaram a mesma amostra de pacientes do estudo que está sendo abordado.

Em relato descrito por Brito e Quaresma (2007), constatou-se que na DJL há positividade para CD68 e intensa marcação para TGF- $\beta$  que inibe a expressão de IFN- $\gamma$ . O marcador CD68 é responsável pela atividade metabólica microbicida celular e apesar de presente, mostrou-se em menor quantidade que a esperada. O aumento de TGF- $\beta$ , induz a fibrose, fato este que poderia retratar o aspecto clínico preponderante; a forma queloidiana, assim como a ausência de granulomas bem formados, padrão histopatológico freqüente nessa enfermidade.

Conforme relatos de Vilani-Moreno et al. (2004), pacientes com DJL apresentam alterações no perfil das citocinas, representadas por predomínio do perfil Th2, o que poderia alterar a capacidade de regulação dos mecanismos responsáveis pela contenção do *L. lobo*, no entanto futuras investigações poderão avaliar melhor a participação de citocinas na interação célula-fungo, para elucidar a patogênese da DJL.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 TIPO DE ESTUDO**

Trata-se de um estudo clínico-epidemiológico do tipo transversal, de caráter retrospectivo e prioritariamente descritivo.

### **4.2 DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO**

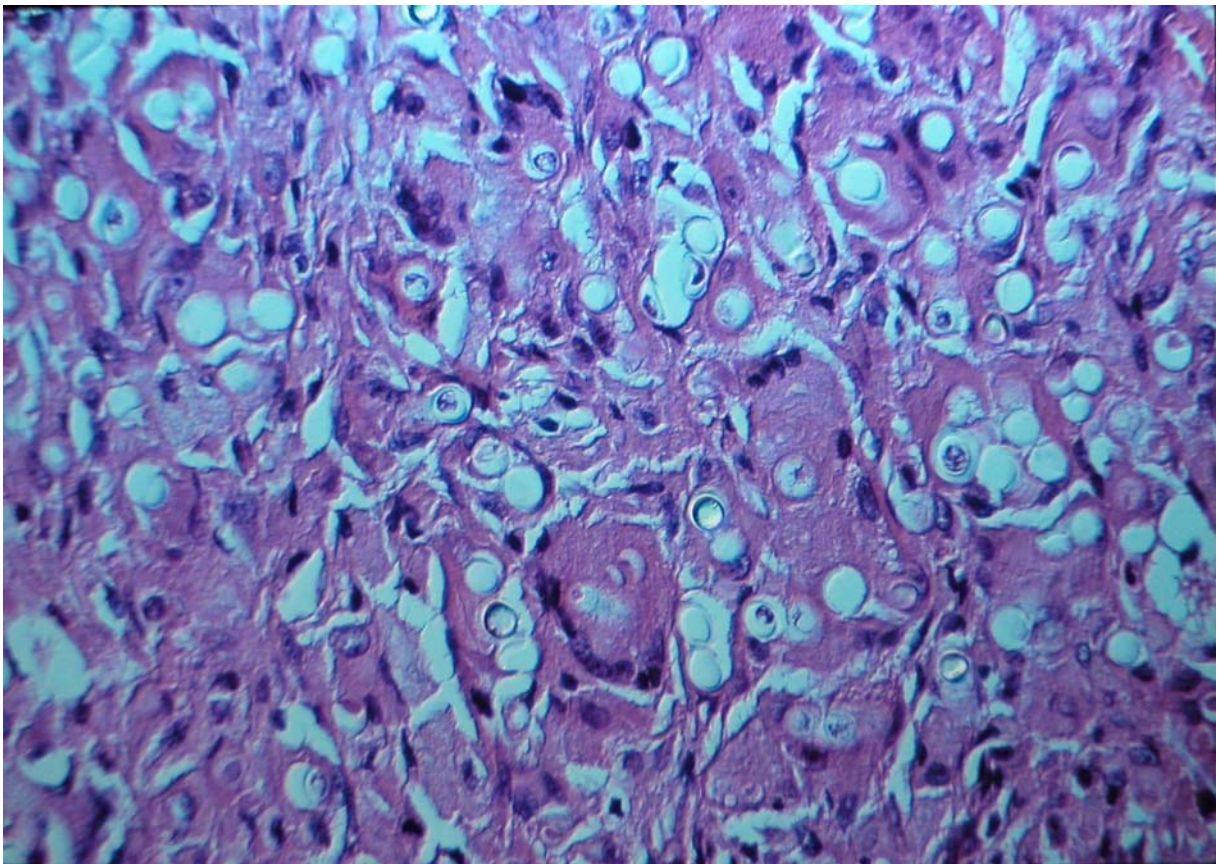
O estudo consiste na análise de fragmentos de pele parafinados, obtidos a partir de biopsias cutâneas de 33 pacientes portadores da Micose de Jorge Lobo, atendidos e diagnosticados no Departamento de Dermatologia do Hospital da Santa Casa de Misericórdia do Pará/ Universidade Federal do Pará no período de 1955 a 2005. A exceção de um caso do Acre e outro do Amazonas, os demais pacientes eram de várias localidades do estado do Pará, com idade variando entre 25 e 80 anos, sendo a maioria do sexo masculino (APÊNDICE A).

### **4.3 PARECER DE ÉTICA**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará apreciou este projeto de pesquisa através do Protocolo N. 034/2006- CEP/NMT, segundo as exigências da Resolução 196/96-CNS/MS e manifestou-se pela sua aprovação em reunião realizada em 04 de julho de 2006 (Anexo 1).

#### 4.4. PROCESSO PARA OBTENÇÃO DOS DADOS

Inicialmente, foram analisados os prontuários para obtenção dos dados no que diz respeito à idade, gênero, profissão, procedência, forma clínica e localização das lesões. Em seguida, foram analisados, os aspectos histopatológicos dos pacientes selecionados em lâminas coradas pela hematoxilina-eosina (HE), seguindo o protocolo estabelecido por Bancroft e Gamble (2007) (figura 1). Posteriormente foram analisados pelo mesmo observador os aspectos imuno-histoquímicos e realizadas as comparações entre ambas às análises. Finalmente os achados foram comparados com os obtidos em pele normal, oriundas de pacientes sem doenças dermatológicas e na pele acometida por PCM, em virtude das semelhanças antigênicas e filogenéticas entre os agentes dessas 2 micoses profundas.



**Figura 1** – Infiltrado granulomatoso com abundantes fungos em macrófagos e células multinucleadas (HE- 400x)  
Cortesia: Prof. Dr. Arival de Brito.

#### 4.5 SELEÇÃO DE PACIENTES

O material obtido no arquivo do Laboratório de Histopatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital da Santa Casa de Misericórdia do Pará/ Universidade Federal do Pará foi selecionado, de maneira aleatória, a partir de um conjunto de aproximadamente 100 blocos de parafina, seguindo os seguintes critérios:

##### **A- Critérios de Inclusão:**

1. Blocos de parafina obtidos por biopsias oriundas de pacientes com diagnóstico histológico de micose de Jorge Lobo.
2. Peças com melhor estado de conservação.
3. Quantidade adequada de fragmento cutâneo para análise.

##### **B- Critérios de Exclusão:**

1. Blocos de parafina obtidos por biopsias que após processamento mostraram-se inadequadas para análise.

#### 4.6 CONTROLES

Foram utilizados dois grupos controles. O primeiro constituído por 10 blocos de parafina com biopsias de pele provenientes de pacientes sem doenças dermatológicas. E o segundo constituído por 61 blocos parafinados oriundos de biopsias de lesões cutâneas de PCM, o qual foi dividido em 3 grupos, um grupo



formado por 20 blocos representando os que possuíam granulomas frouxos (GF), outro com 22 blocos representando os que apresentavam granulomas bem organizados (GBO) e outro formado por 19 blocos representando o padrão de resposta mista (GBO/GF).

#### 4.7 TÉCNICA DE IMUNOMARCAÇÃO NO TECIDO

Para a imunomarcação tecidual, o anticorpo primário utilizado foi o DD fator XIIIa+ e o protocolo utilizado foi o descrito por Hsu et al. (1981), com metodologia parcialmente modificada por Quaresma et al. (2006) (ANEXO B).

#### 4.8 ANÁLISE QUANTITATIVA

A quantifica o dos eventos histopatológicos e do padrão de imunomarca o foi feita pela contagem de células positivas para DD FXIIIa em cada 05 campos de grande aumento (400x) em grad culo graduado com 10 x 10 subdivisões e com 0,0625 mm<sup>2</sup> de área, com auxílio de microscópio óptico Nikon Eclipse E200. Obtendo-se o resultado do número de DD FXIIIa+ por unidade de área na derme total em lesões cutâneas de DJL.

#### 4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram estruturados em um banco de dados no programa Microsoft Excel 2007, no qual também foram confeccionadas tabelas e figuras para representa o dos dados. Posteriormente foram analisados no programa Bioestat 5.0 (AYRES, 2003), para a gera o de resultados estatísticos que

comprovassem a associação de variáveis pertinentes ao estudo, considerando o intervalo de confiança (IC) 95% e nível  $\alpha$  5% (  $p$ -valor  $\leq 0,05$ ), isto é, um achado será considerado estatisticamente significativo se valor de “ $p$ ” for menor ou igual a 0,05 e será considerado sem significância estatística se esse valor de “ $p$ ” for maior que 0,05. Para a confirmação da hipótese de nulidade ( $H_0$ ) considerou-se  $p > 0,05$  e para a rejeição,  $p \leq 0,05$ . Tendo-se a hipótese de nulidade aceita, significa dizer que as variáveis envolvidas no teste não estão associadas, ou seja, não exercem nenhuma influência uma sobre a outra. Caso a hipótese de nulidade seja rejeitada, opta-se pela hipótese alternativa ( $H_1$ ), a qual afirmará que as variáveis estão relacionadas entre si.

Nas variáveis quantitativas foram realizadas as medidas de tendência central, sendo calculado a média e a mediana com seus respectivos desvios padrões.

O teste do Qui-quadrado foi utilizado nas comparações de  $n$  amostras independentes, cujas proporções observadas nas diversas modalidades estão dispostas em tabelas de contingência  $l \times c$ , onde se determinou as proporções observadas nas diferentes categorias.

A correlação linear de Pearson foi utilizada para verificar a associação linear entre os níveis de FXIIIa e a idade dos pacientes (variáveis quantitativas) que foi medida através do grau e direção do coeficiente de correlação linear ( $r$ ). O coeficiente de correlação linear de Pearson pode variar de  $-1$  a  $+1$ , e quanto mais próximo desses valores, mais forte é a associação entre as variáveis estudadas. Um escore próximo ao valor zero, indica fraca associação, e quando se obtém o valor zero, indica ausência total de associação entre as variáveis em análise.

O teste  $t$  e o teste de Kruskal–Wallis foram utilizados para comparar os níveis de FXIIIa entre as amostras, rejeitando-se ou aceitando-se a hipótese de nulidade conforme os valores de “ $p$ ” obtidos.

#### 4.10 DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

As fotomicrografias foram obtidas através do sistema CARL ZEISS formado por microscópio binocular e por sistema automático de fotografia. A máquina fotográfica utilizada foi a *Canon power shot A620*.

As fotos clínicas foram cedidas pelo Prof. Dr Arival de Brito, que utilizou a câmera *Nikon Coolpix* de 5 megapixels.

#### 4.11 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão da literatura foi realizada pelos sistemas Medline (Index Medicus) e Literatura Latino-americana em Ciências de Saúde- LILACS, sendo os artigos periódicos não indexados ou livros-texto obtidos por busca direta.

## 5 RESULTADOS

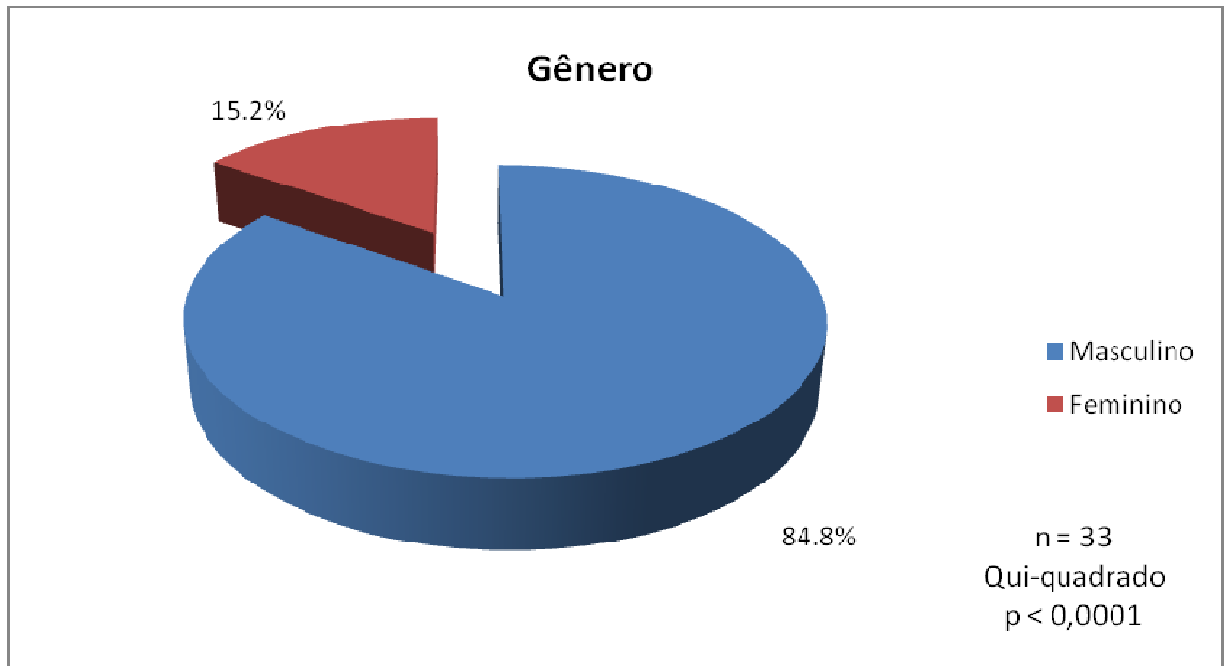
### 5.1 RESULTADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS

Os 33 pacientes portadores de DJL analisados eram de supremacia masculina (84,8%), agricultores (72,7%) continham principalmente a faixa etária entre 46 e 65 anos (51,5%) e eram procedentes em 51,5% do nordeste do estado do Pará (tabela 1, figuras 2, 3, 4 e 5).

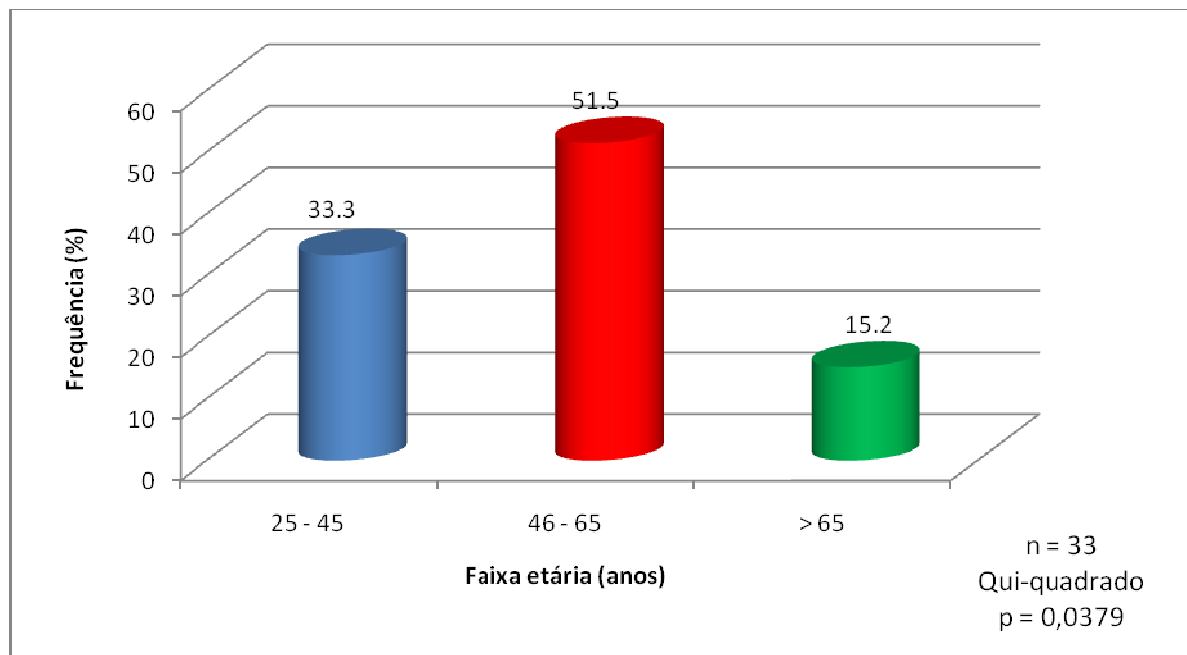
**Tabela 1** – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto ao gênero, faixa-etária, profissão e procedência.

Características epidemiológicas	n	%	Teste estatístico
<b>Gênero</b>			
Masculino	28	84,8	Qui-quadrado p < 0,0001
Feminino	5	15,2	
Total	33	100	
<b>Faixa etária (anos)</b>			
25 - 45	11	33,3	Qui-quadrado p = 0,0379
46 - 65	17	51,5	
> 65	5	15,2	
Total	33	100	
<b>Profissão</b>			
Agricultor	24	72,7	Qui-quadrado p < 0,0001
Do lar	4	12,1	
Trabalhador da construção civil	4	12,1	
Outros	1	3	
Total	33	100	
<b>Procedência</b>			
Região metropolitana de Belém	7	21,2	Qui-quadrado p < 0,0001
Nordeste	17	51,5	
Sudoeste	3	9,1	
Sudeste	2	6,1	
Marajó	2	6,1	
Outros estados	2	6,1	
Total	33	100	

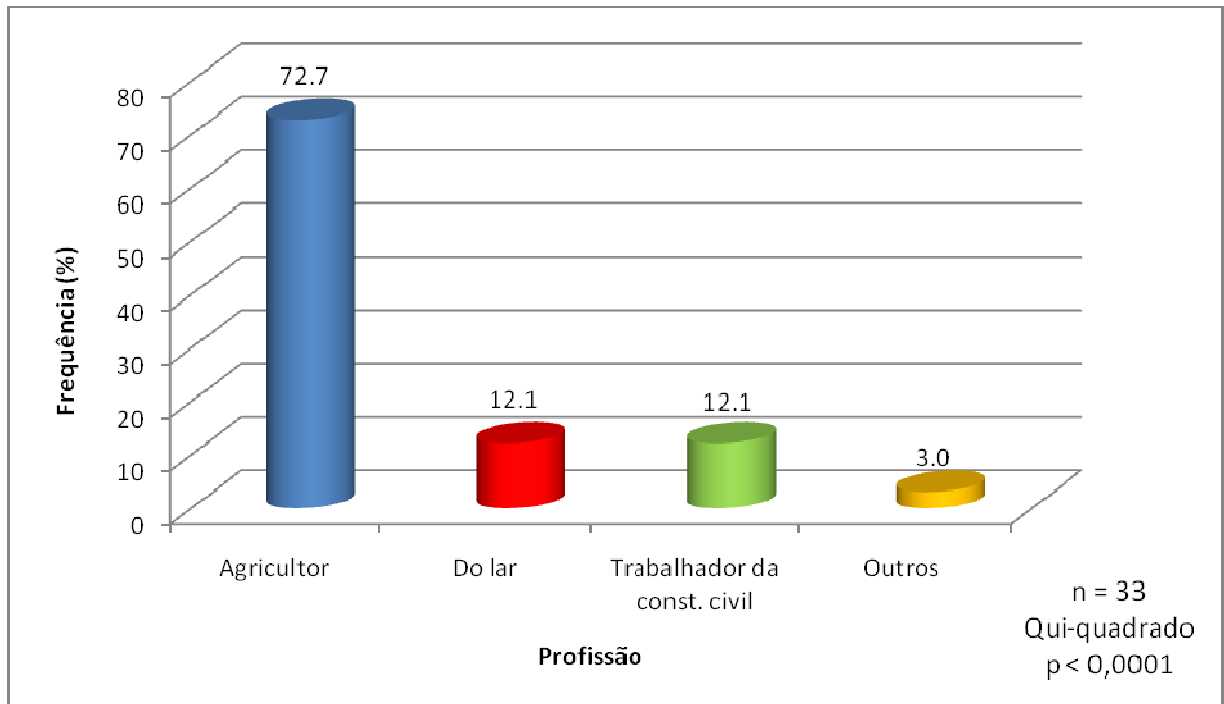
Fonte: Análise do estudo (2010)



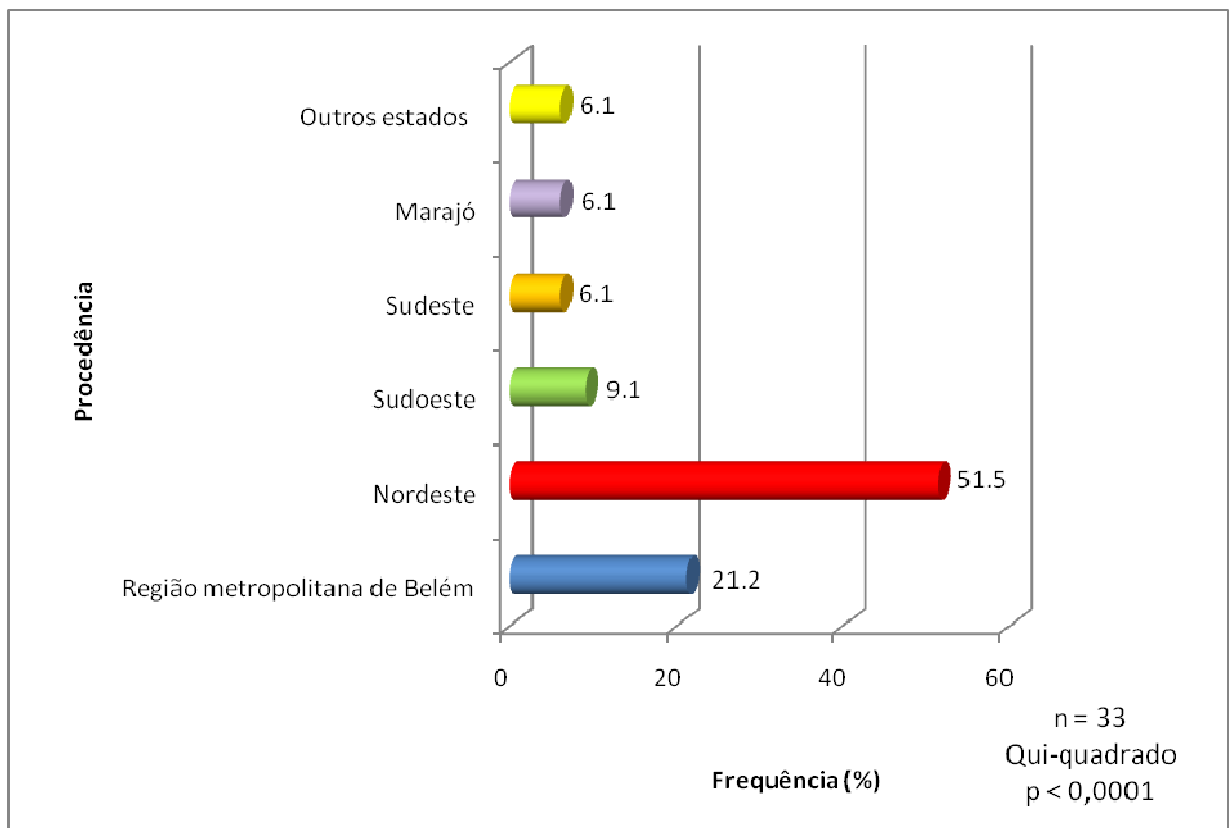
**Figura 2** – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto ao gênero  
Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 3** – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à faixa etária.  
Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 4** – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à profissão.  
Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 5** – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à procedência.  
Fonte: Análise do estudo (2010)

No que diz respeito à forma clínica desenvolvida pelo paciente, observou-se que a forma queloidiana (figura 6) foi predominante com 81,8%, contra apenas 18,2% dos casos com a forma verrucosa (figura 7) da doença (tabela 2, figura 8).



**Figura 6-** Forma clínica queloidiana da Doença de Jorge Lobo  
Cortesia: Prof. Dr. Arival de Brito



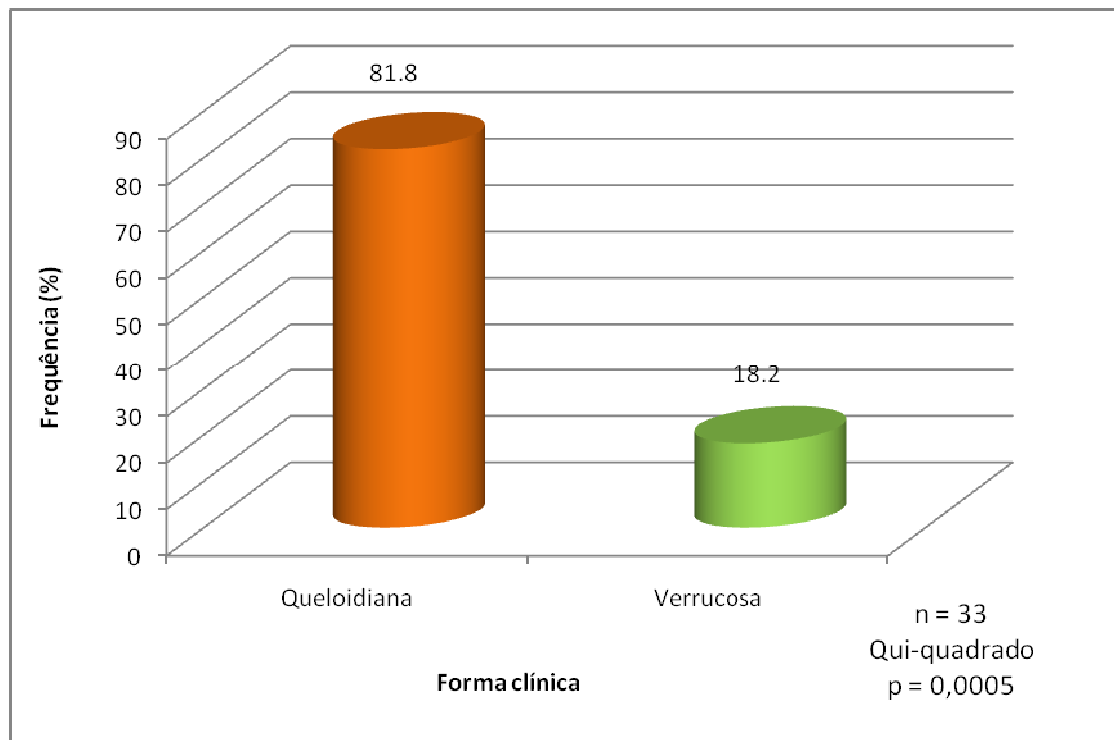
**Figura 7 -** Forma clínica verrucosa da Doença de Jorge Lobo  
Cortesia: Prof. Dr. Arival de Brito.

Com relação aos sítios das lesões, observou-se uma predominância nos membros inferiores (45,5%) e no pavilhão auricular (24,2%). Uma pequena parte dos pacientes apresentou lesões disseminadas, com 6,1% dos casos (tabela 2 e figura 9).

**Tabela 2** – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à forma clínica e localização das lesões.

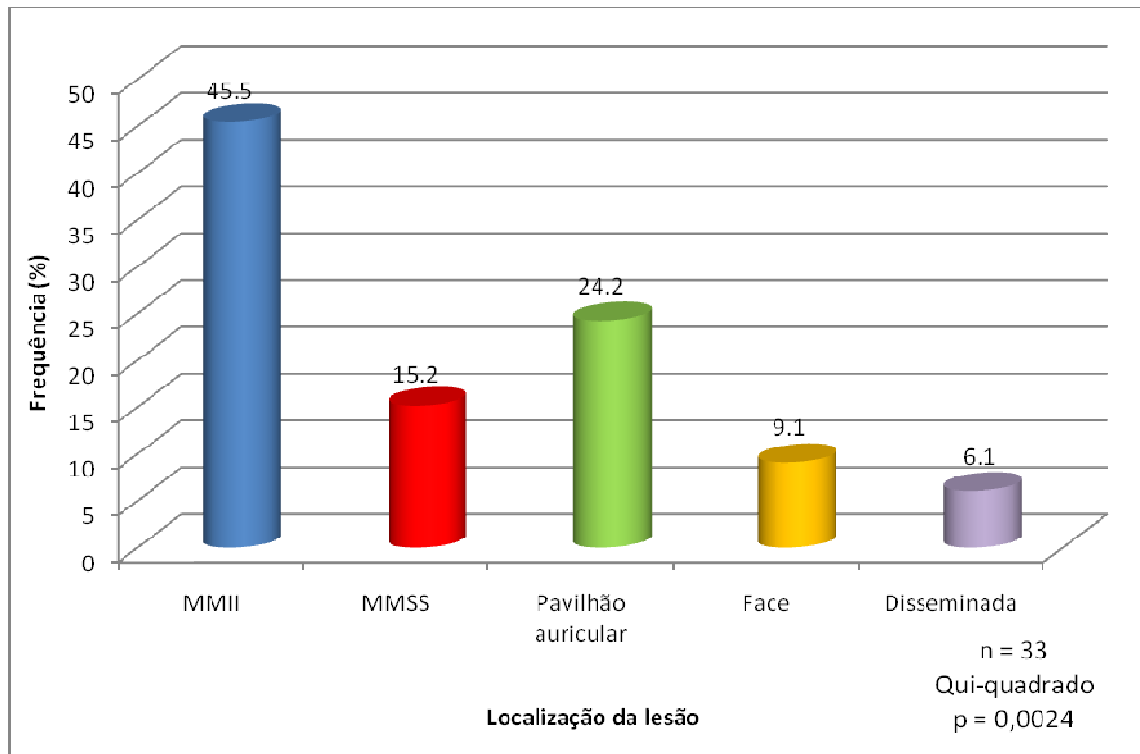
Características clínicas	n	%	Teste estatístico
<b>Forma Clínica</b>			
Queloidiana	27	81,8	Qui-quadrado p = 0,0005
Verrucosa	6	18,2	
Total	33	100,0	
<b>Localização</b>			
Membros inferiores	15	45,5	Qui-quadrado p = 0,0001
Membros superiores	5	15,2	
Pavilhão auricular	8	24,2	
Face	2	6,1	
Lábios	1	3,0	
Disseminada	2	6,1	
Total	33	100,0	

Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 8** – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à forma clínica.  
Fonte: Análise do estudo (2010)



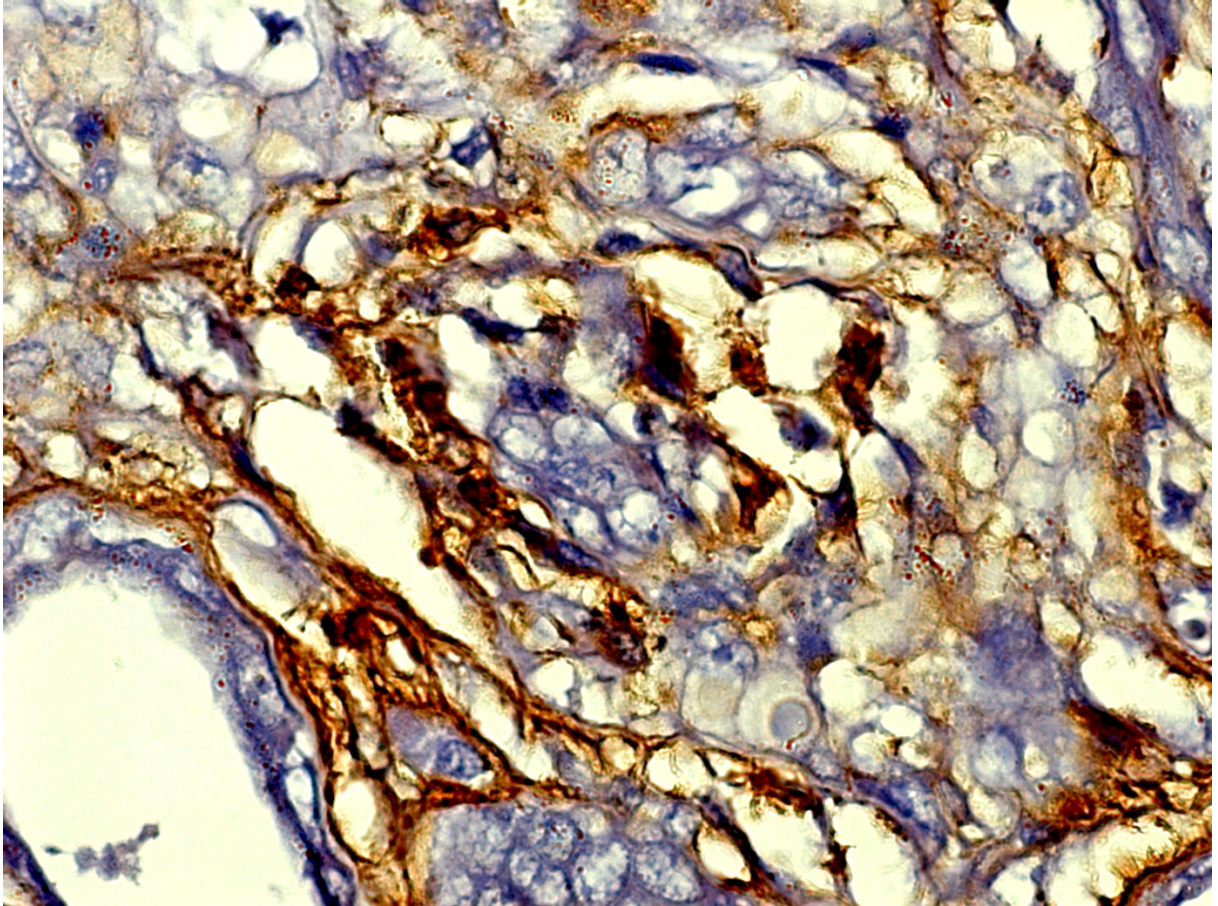


**Figura 9** – Distribuição dos 33 pacientes de DJL analisados, quanto à localização das lesões.

Fonte: Análise do estudo (2010).

## 5.2 RESULTADOS IMUNO-HISTOQUÍMICOS

Os 33 pacientes com DJL estudados foram avaliados pela imunexpressão tecidual para dendrócito dérmico (DD) marcado com fator XIIIa (figura 10). A análise realizada foi mensurada a partir da unidade de área por derme total (UA/DT).



**Figura 10-** Padrão de imunomarcção para FXIIIa em lesões cutâneas com Doença de Jorge Lobo. Notar positividade para reação localizada na derme, apresentando células positivas que se dispõem principalmente ao redor de vasos na derme, em meio ao infiltrado histiocitário característico dessas lesões (400 x).  
Cotesia: Prof Dr Juarez Quaresma.

Por meio da estatística descritiva, observou-se que o título mínimo de FXIIIa dentre os pacientes analisados foi 32 UA/DT e o máximo foi 224 UA/DT, perfazendo uma amplitude total de 192 UA/DT. Quanto às medidas de tendência central, obteve-se como média de 145,9 UADT e mediana de 160 UADT. O desvio padrão encontrado foi de 42,8 (tabela 3).

**Tabela 3** – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à quantidade de FXIIIa por UA/DT.

<b>Estatística descritiva</b>	<b>FXIIIa (UA/DT)</b>
Tamanho da amostra	33
Valor mínimo	32
Valor máximo	224
Variação	192
Média Aritmética	145,9
Mediana	160
Desvio Padrão	42,8

Fonte: Análise do estudo (2010)

### 5.3 RESULTADOS COMPARATIVOS

Os resultados obtidos da quantidade de DD FXIIIa por UA/DT nas lesões cutâneas de DJL foram comparados conforme a idade, gênero, profissão, procedência, forma clínica e localização das lesões nos 33 pacientes estudados.

Foram comparados os resultados imuno-histoquímicos das lesões de DJL, com amostras de pele normal oriundas de pacientes sem doenças dermatológicas e com pele acometida por PCM, sob as formas histopatológicas de granulomas bem organizados (GBO), granuloma frouxo (GF) e padrão misto (GBO/GF)

Por meio da estatística descritiva, observou-se que a idade mínima dentre os pacientes analisados foi 25 anos e a máxima foi 80 anos, perfazendo uma amplitude total de 55 anos. Quanto às medidas de tendência central, obteve-se

como média de 53,5 anos e mediana de 55 anos. O desvio padrão encontrado foi de 13,2 (tabela 4).

---

**Tabela 4** – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à idade.

---

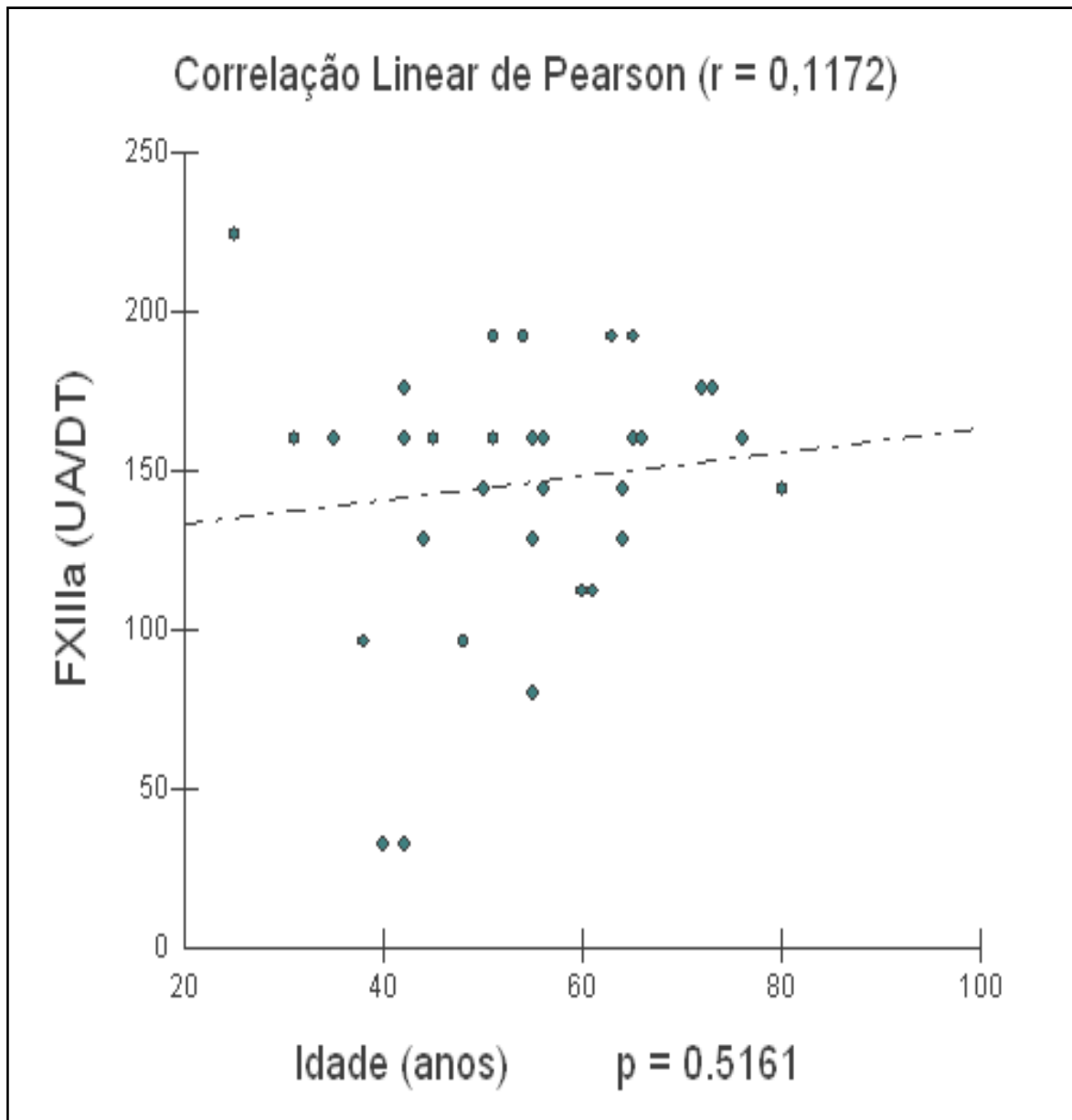
<b>Estatística descritiva</b>	<b>Idade</b>
Tamanho da amostra	33
Idade mínima	25
Idade máxima	80
Variação	55
Média Aritmética	53.5
Mediana	55
Desvio Padrão	13.2

---

Fonte: Análise do estudo (2010)

---

Através da Correlação Linear de Pearson verificou-se uma tendência ao aumento do DD FXIIIa com avançar da idade, porém houve uma dispersão considerável, não havendo caráter significativo nesta distribuição ( $p = 0,5161$ ). Observa-se também que o coeficiente de Pearson ( $r$ ) é um valor próximo de zero, atestando uma fraca associação entre essas variáveis estudadas. Isto é, apesar de se ter observado essa tendência descrita acima, não pode-se aceitar como verdade. Conclui-se, portanto, que não há relação significante entre os níveis do DD FXIIIa e a idade dos pacientes neste estudo, ou seja, independente da idade que o paciente apresente, nada se poderá inferir se o mesmo terá maior ou menor nível do DD FXIIIa (figura 11).



**Figura 11** – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a idade dos 33 pacientes estudados.

Fonte: Análise do estudo (2010)

A análise comparativa da descrição da contagem de DD FXIIIa entre pacientes do sexo masculino e pacientes do sexo feminino, não mostrou significância estatística (teste t,  $p = 0,7761$ ), obteve-se a média de 146,9 entre os homens e de 140,8 entre as mulheres, com valores mínimo e máximo de 32 e 192, respectivamente, para os pacientes pertencentes ao gênero masculino e de 32 e 224 para os pacientes do gênero feminino (tabela 5 e figura 12).

**Tabela 5** – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto ao gênero.

Estatística Descritiva	FXIIIa (UA/DT)	
	Masculino	Feminino
Tamanho da amostra	28	5
Mínimo	32	32
Máximo	192	224
Variação	160	192
Média Aritmética	146,9	140,8
Mediana	160	160
Desvio Padrão	37,9	70,1

Fonte: Análise do estudo (2010)

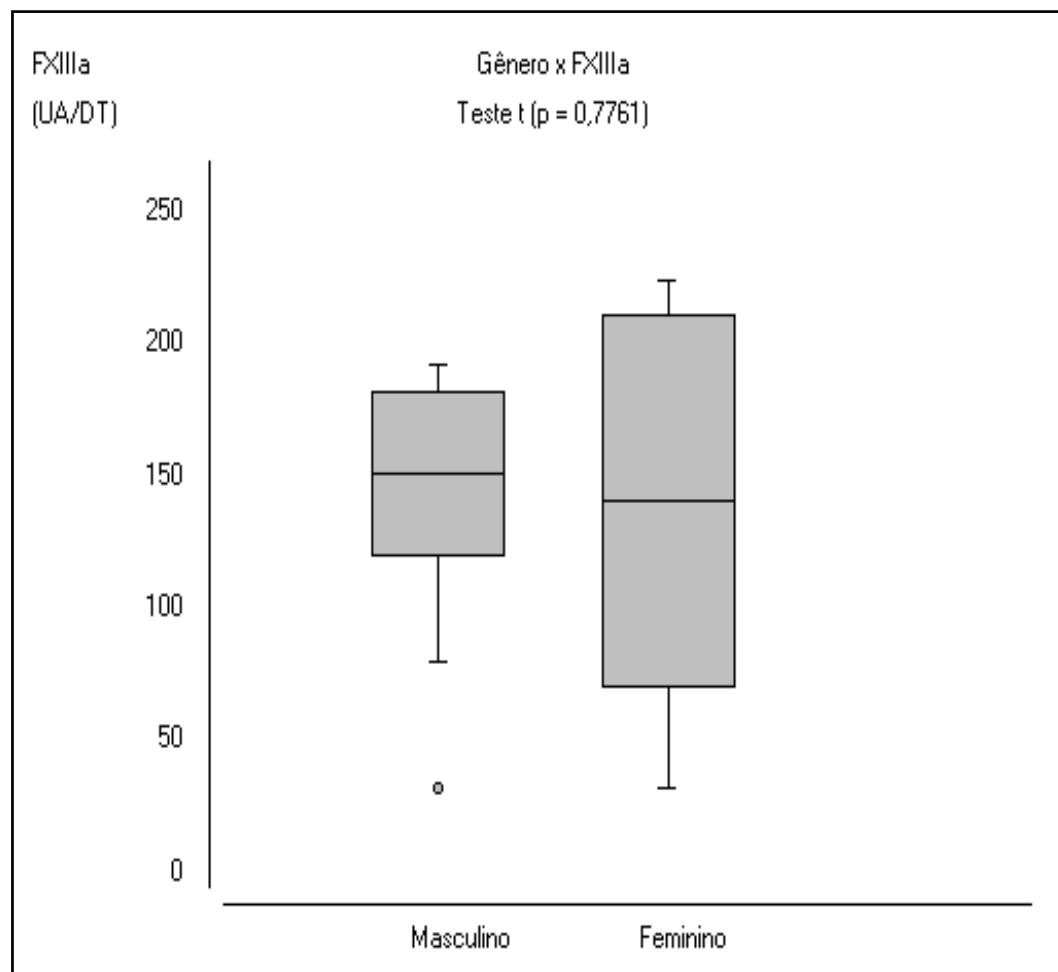


Figura 12: Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e o gênero dos 33 pacientes estudados.

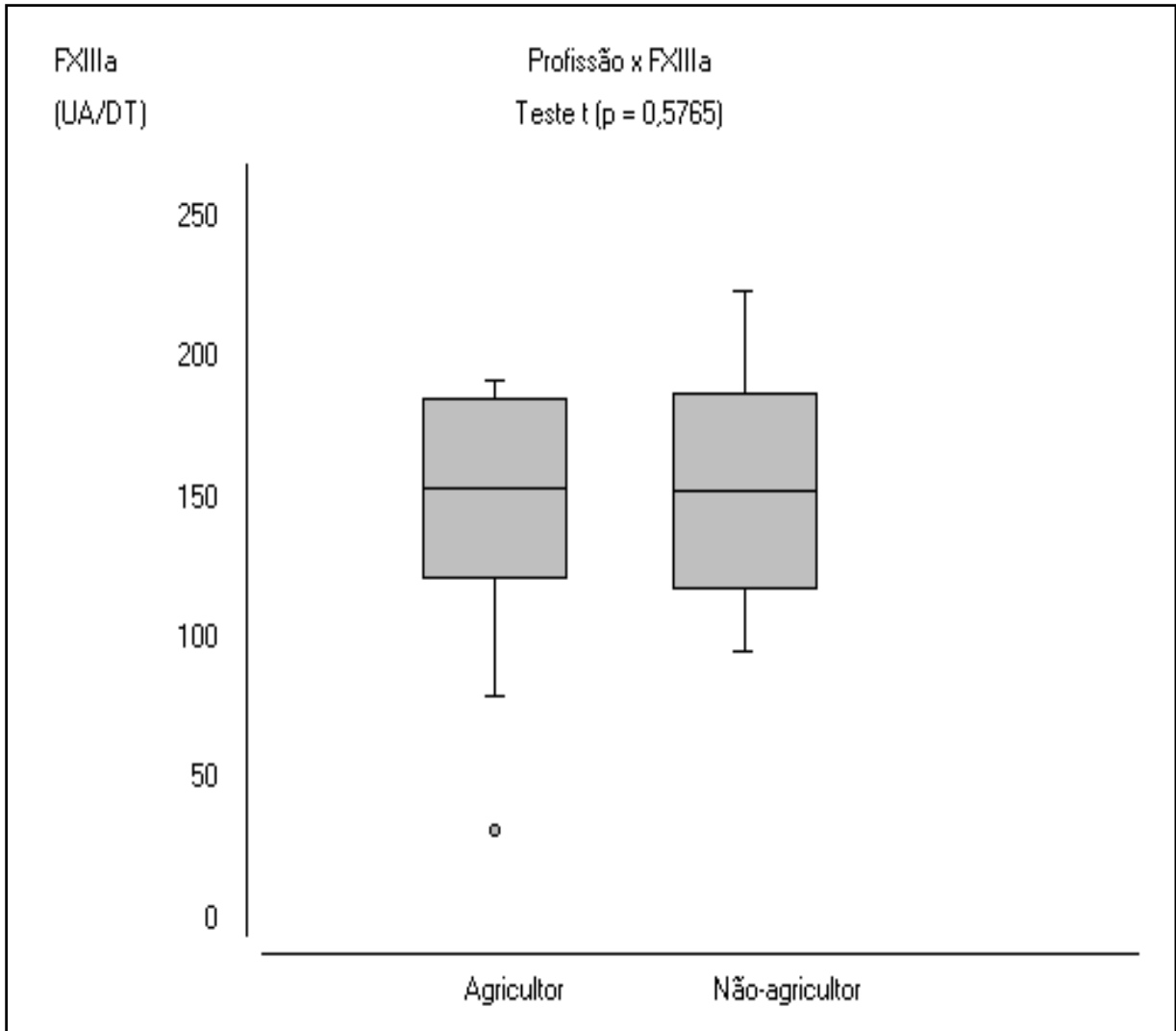
Fonte: Análise do estudo (2010)

A análise comparativa da descrição da contagem de DD FXIIIa entre pacientes com atividade laboral relacionado à agricultura e pacientes que exercem outras atividades, não mostrou significância estatística (Teste t,  $p = 0,5765$ ), obteve-se a média de 143,3 entre os pacientes com atividades relacionadas ao campo e de 152,9 entre os pacientes que exercem outras atividades, com valores mínimo e máximo de 32 e 192, respectivamente, para os pacientes que trabalham na agricultura e de 96 e 224 para os pacientes com outras atividades laborais (tabela 6 e figura 13).

**Tabela 6** - Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à profissão

Estatística Descritiva	FXIIIa (UA/DT)	
	Agricultor	Não agricultor
Tamanho da amostra	24	9
Mínimo	32	96
Máximo	192	224
Variação	160	128
Média Aritmética	143,3	152,9
Mediana	160	160
Desvio Padrão	45,9	34,9

Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 13** - Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a profissão dos 33 pacientes estudados.

Fonte: Análise do estudo (2010)

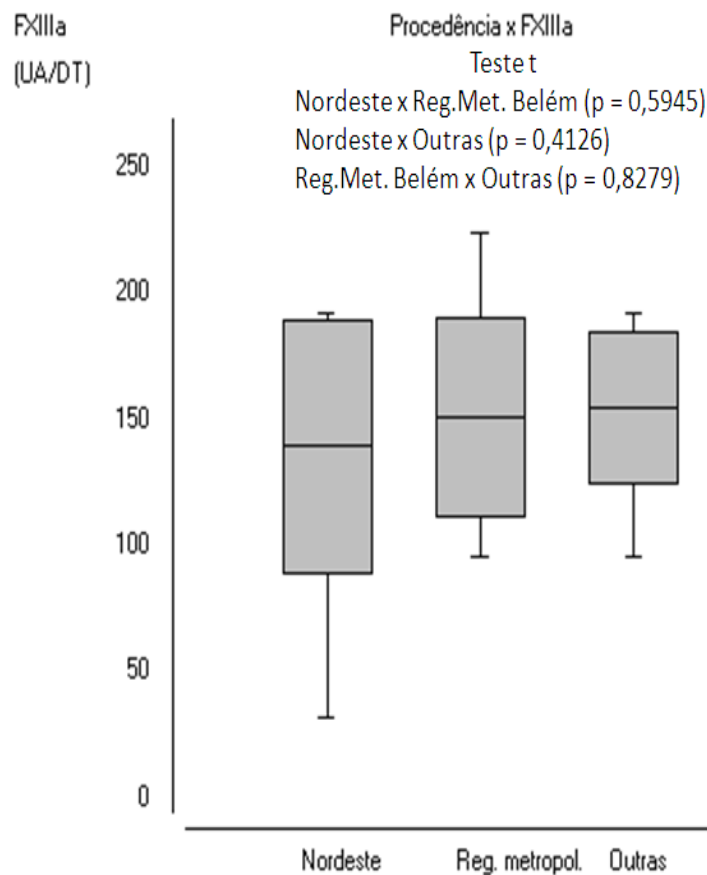
Observou-se que não houve diferença estatística nos níveis de DD FXIIIa nos pacientes provenientes do nordeste paraense, quando comparados com os níveis de DD FXIIIa encontrados nos pacientes procedentes da região metropolitana de Belém (Teste t,  $p = 0,5945$ ) e de outras regiões (Teste t,  $p = 0,4126$ ). Isso demonstra que a região de onde é procedente o paciente, não influenciou nos níveis de DD FXIIIa encontrados (tabela 7 e figura 14).



**Tabela 7 – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à procedência**

Estatística Descritiva	FXIIIa (UA/DT)		
	Nordeste	Região Metropolitana de Belém	Outras
Tamanho da amostra	17	7	9
Mínimo	32	96	96
Máximo	192	224	192
Varição	160	128	96
Média Aritmética	139,3	150,9	154,7
Mediana	160	144	160
Desvio Padrão	50,5	39	29,9

Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 14 – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a procedência dos 33 pacientes estudados.**

Fonte: Análise do estudo (2010)

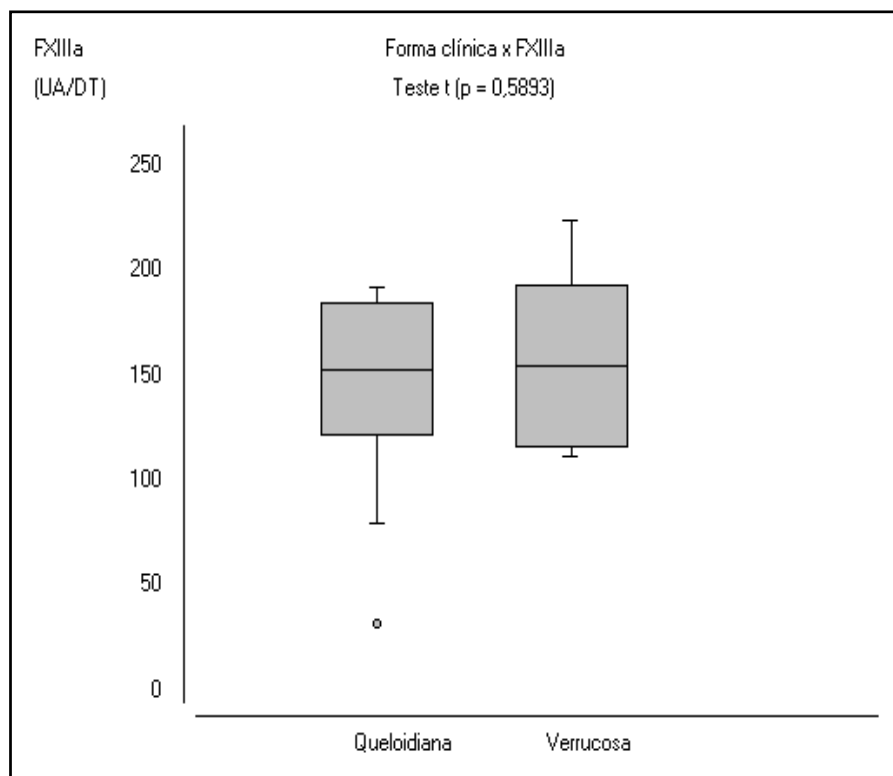
Apesar de se ter observado uma contagem maior dos níveis de DD FXIIIa nos pacientes com a forma clínica verrucosa em relação aos pacientes com a forma

clínica queloidiana, a análise comparativa da descrição da contagem de DD FXIIIa entre estes pacientes não mostrou significância estatística (teste t,  $p = 0,5893$ ), obteve-se a média de 144 entre os pacientes com a forma queloidiana e de 154,7 entre os pacientes com a forma verrucosa, com valores mínimo e máximo de 32 e 192, respectivamente, para os pacientes pertencentes à forma queloidiana e de 112 e 224 para os pacientes com a forma verrucosa (tabela 8 e figura 15).

**Tabela 8** – Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à forma clínica das lesões.

Estatística Descritiva	FXIIIa (UA/DT)	
	Queilodiana	Verrucosa
Tamanho da amostra	27	6
Mínimo	32	112
Máximo	192	224
Variação	160	112
Média Aritmética	144	154,7
Mediana	160	152
Desvio Padrão	44,1	38,8

Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 15** – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a forma clínica das lesões nos 33 pacientes estudados.

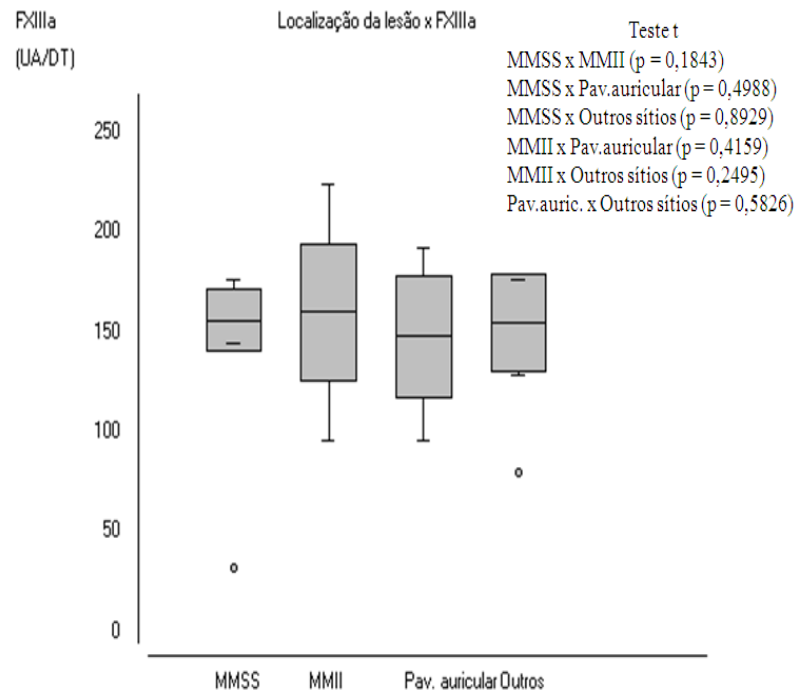
Fonte: Análise do estudo (2010).

Observou-se que não houve diferença estatística entre a localização da lesão e FXIIIa, ou seja, independente do local da lesão nada se pode inferir a respeito do FXIIIa, pois os níveis encontrados desse fator, foram semelhantes em todos os locais de lesão analisados (tabela 9, figura 16).

**Tabela 9** - Distribuição dos 33 casos de DJL quanto à localização das lesões

Estatística Descritiva	FXIIIa			
	MMSS	MMII	Pavilhão Auricular	Outros
Tamanho da amostra	5	15	8	4
Mínimo	32	96	96	80
Máximo	176	224	192	176
Variação	144	128	96	96
Média Aritmética	131.2	160	148	136
Mediana	144	160	160	144
Desvio Padrão	57	34.2	30.5	42.3

Fonte: Análise do estudo (2010)



**Figura 16** – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT e a localização das lesões nos 33 pacientes estudados.

Fonte: Análise do estudo (2010)

Observou-se que houve diferença estatística nos níveis de DD FXIIIa entre o grupo de pacientes com a DJL e os grupos de pacientes com PCM com forma histopatológica de granuloma bem organizado, de granuloma frouxo e com o grupo controle. Sendo verificado que a média de DD FXIIIa no grupo Jorge Lobo foi maior do que nestes três grupos citados acima. Não houve diferença estatística quando comparado o valor do DD FXIIIa entre os pacientes com DJL e os pacientes com PCM com padrão de resposta mista GBO/GF (tabela 10 e figura 17).

**Tabela 10** – Distribuição descritiva dos valores de DD FXIIIa nos grupos de pacientes com DJL, PCM com aspecto de GBO, GF, GBO/GF e grupo controle.

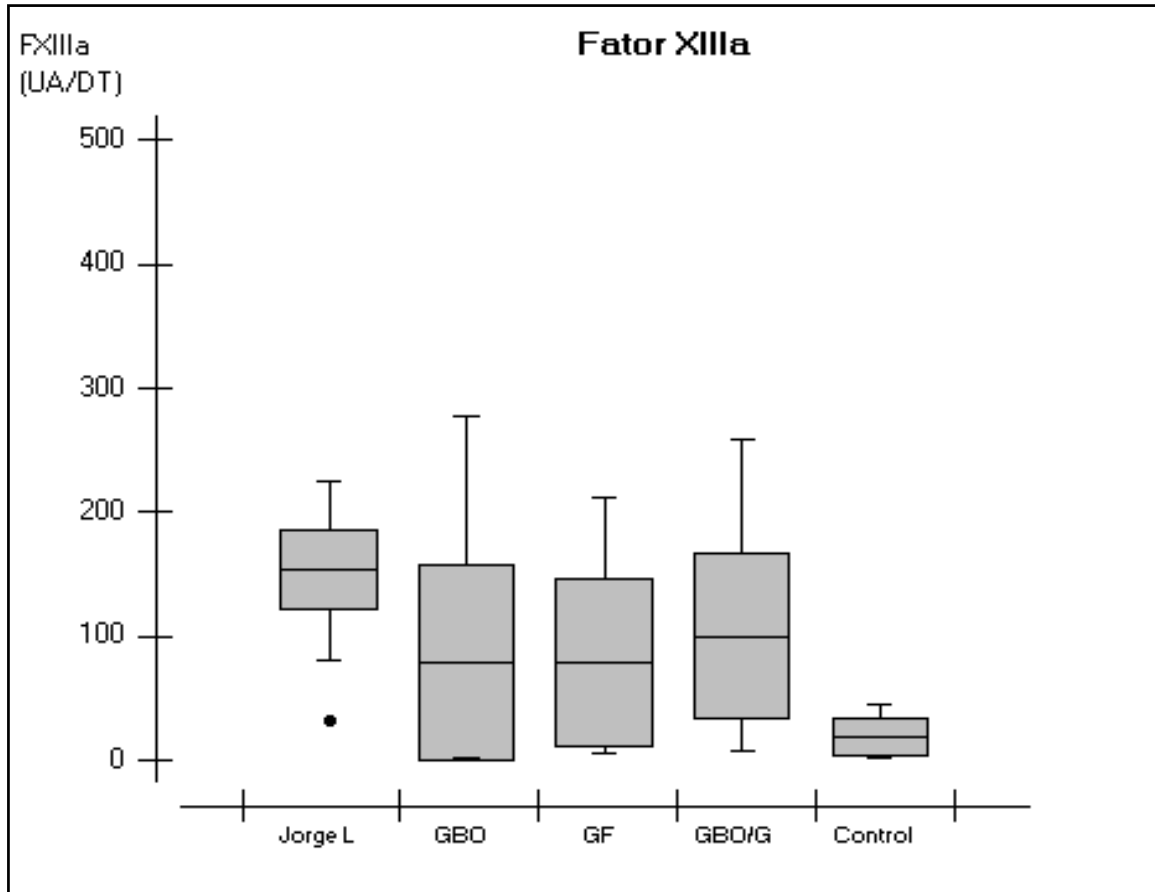
Grupos estudados	FXIIIa por Unidade de área na derme total (UA/DT)			*Teste de Kruskal-Wallis estatisticamente significativo
	Média±DP	Mediana	Variação	
Jorge Lobo (n = 33)	145,93±42,85	160	32 - 224	Jorge Lobo x GBO (p < 0,05)* Jorge Lobo x GF (p < 0,05 )*
GBO (n = 22)	78,33±78,42	51,73	0 - 276,3	Jorge Lobo x GBO/GF (p > 0.05) Jorge Lobo x Controle (p < 0,05 )*
GF (n = 20)	78,50±67,07	63,46	5,33 - 211,2	GBO x GF (p > 0.05 ) GBO x GBO/GF (p > 0.05 )
GBO/GF (n = 19)	99,19±66,79	80	6,4 - 258,1	GBO x Control (p > 0.05 ) GF x GBO/GF (p > 0.05 )
Controle (n = 10)	17,51±15,26	15,46	0 - 43,6	GF x Controle (p > 0.05 ) GBO/GF x Controle (p < 0,05 )*

**GBO: Granuloma bem organizado**

**GF: Granuloma frouxo**

**GBO/GF: Padrão de resposta mista**

**Fontes:** Análise do estudo (2010) + Dendritic cells and pattern of cytokines in paracoccidioidomycosis skin lesions The American Journal of Dermatopathology 2003; 25(2): 107-112, 2003 .



**Figura 17** – Correlação entre a quantidade de DD FXIIIa por UA/DT nos grupos de pacientes estudados.

Fonte: Análise do estudo (2010)

## 6 DISCUSSÃO:

DJL é uma micose cutânea-subcutânea causada pelo *Lacazia loboi*, fungo não cultivável *in vitro* até o momento, de evolução crônica e terapêutica insatisfatória que merece maiores observações, sobretudo, a respeito da sua patogenia e imunologia.

Representa um grande desafio às comunidades médicas e científicas, pois a população carente de zona rural, a mais acometida, encontra-se em constante risco de contágio, uma vez que, para sua subsistência, necessita manter-se em contato com o meio ambiente, onde o fungo tem seu habitat (TALHARI, 1988).

Há casos descritos em vários países da América Latina, no entanto as características hidrográficas e climáticas da região amazônica, representadas por floresta tropical, clima quente e úmido, temperatura média anual de 24°C, alto índice pluviométrico e opulência hidrográfica, a fazem localização propícia para o desenvolvimento da DJL (BRITO, 2007).

Sendo a DJL uma patologia de acentuada incidência na região Amazônica brasileira, merece especial atenção do Departamento de Dermatologia do Hospital da Santa Casa de Misericórdia do Pará/Universidade Federal do Pará, local onde foi realizado este estudo.

A doença não tem preferência por etnias, porém afeta predominantemente trabalhadores rurais, que vivem em contato constante com a vegetação e o solo, como é o caso dos agricultores da Amazônia, grupo profissional acometido em 72,7% dos casos, neste estudo (VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997).

O gênero feminino foi pouco acometido, como esperado, e representou somente 15,2% dos casos, provavelmente pela pouca exposição das mulheres ao trabalho no interior da floresta. Merece citação a exceção das mulheres da tribo indígena Caiabi, que representam 32% dos casos nesta comunidade, porque elas participam mais ativamente do trabalho dentro das florestas (OPROMOLLA, 1999b.).

Pode haver diversas formas clínicas no mesmo paciente infectado pela DJL, no entanto neste estudo cada paciente só apresentava um tipo de lesão cutânea.

Em 90% dos casos a doença se apresenta sob a forma clínica queloidiana, clássica, motivo das sinonímias micose queloidiforme ou blastomicose queloidiana de Jorge Lobo. No trabalho em questão a forma clínica das lesões também prevaleceu nesse padrão semiótico (81,8%) (SILVA; BRITO, 1994b).

Brito e Quaresma (2007) constataram que na DJL há positividade para CD68 e intensa marcação para TGF- $\beta$  que inibe a expressão de IFN- $\gamma$ . O aumento de TGF- $\beta$  induz a fibrose, fato que poderia retratar o aspecto clínico mais frequente: a forma queloidiana.

O surgimento de carcinoma espinocelular já foi registrado em alguns casos de DJL e neste estudo três pacientes evoluíram com degeneração carcinomatosa sobreposta às lesões cutâneas prévias (BARUZZI, 1989).

Na literatura é descrito, que na maioria dos casos o paciente está na faixa etária entre 20 e 40 anos, a qual coincide com a época de maior produtividade laborativa do indivíduo. Há referência de dois casos precoces, um começando com dois anos de idade, descrito entre índios Caiabi e outro com início aos cinco anos, descrito no Suriname (OPROMOLLA, 1999b).

Os pacientes analisados encontravam-se em 51.5% dos casos com faixa etária superior aos relatos da literatura (46 a 65 anos), possivelmente pela demora na procura do atendimento médico, já que a doença é crônica e assintomática e por acometer predominantemente a população rural, de baixo poder aquisitivo, que tem dificuldade no acesso à saúde.

Nos casos estudados e naqueles referidos por outros autores, as extremidades foram mais frequentemente acometidas, possivelmente pela maior probabilidade de traumas nessas localizações. Os membros inferiores foram acometidos em 45,5% dos casos e os membros superiores em 15,2% (BRITO, 2006).

O frequente comprometimento do pavilhão auricular, que representou 24,2% no trabalho em questão, tem diferentes explicações.

Para alguns autores, o hábito de carregar palha e madeira nos ombros poderia justificar o traumatismo desta região e a inoculação do fungo (MORAES; OLIVEIRA, 1962). Por outro lado, Silva em 1994 sugeriu trata-se de fungo oligotermófilo, o que justificaria a preferência da localização das lesões nas áreas mais frias do corpo, como as orelhas ou ainda a picada de artrópodes, carrapatos do grupo ixodídeos, que poderiam ser um tipo de vetor.

Em relação à procedência dos pacientes, a maioria era oriunda do nordeste do estado do Pará (51,5%), porém essa variável foi de difícil interpretação, uma vez que os pacientes desta localidade tem maior acesso a serviços médicos especializados.

Outra variável pertinente para o estudo é o tempo de evolução da doença, que geralmente é longo, tendo relatos com cerca de 50 anos de doença, no entanto, nos prontuários analisados, nem todos os casos tinham a citação desta variável, comprometendo a sua avaliação (BARUZZI, 1989).

Essa micose profunda de evolução crônica, apesar de não ser letal e ter evolução lenta, pode se disseminar e adquirir grandes dimensões, conferindo um aspecto deformante e por vezes incapacitante ao paciente (PRADINAUD, 1998).

Há pontos ainda passíveis de discussão, em especial a possibilidade ou não do cultivo do agente etiológico (VILANI-MORENO; OPROMOLLA, 1997).

Trabalhos da literatura têm sugerido a associação da DJL com a deficiência imunológica do hospedeiro humano, embasadas no grande acúmulo de fungos, na imaturidade das células gigantes, no pequeno número de linfócitos, nos raros granulomas tuberculóides típicos e na ineficiência de eliminação dos fungos mortos (OPROMOLLA et al., 2000).

No entanto, o *L. loboi* multiplica-se muito lentamente e não ocorre piora ou disseminação do quadro clínico na DJL, quando há associação com



imunodeficiência celular grave, a citar a infecção HIV/AIDS (OPROMOLLA et al., 2000; XAVIER et al., 2006).

Para Opromolla et al., em 2000, quando analisamos cortes histopatológicos de DJL, tem-se a impressão que o grande número de células macrófágicas é insuficiente para controlar o excesso de fungos. Parece haver à primeira vista, uma incompetência imunológica para destruição do fungo, mas em geral, o quadro clínico é localizado e apesar da grande quantidade fúngica, a maioria está "morta", isto é, só há paredes celulares fúngicas, ou cápsulas "vazias".

De qualquer maneira, o *L. loboi* é destruído e digerido, fato comprovado através do grande número de cápsulas vazias no tecido infectado e da presença de restos de células fúngicas no citoplasma das células epitelioides. A fagocitose de micro-organismos representa um mecanismo de defesa não específica de vital importância para o hospedeiro, e monócitos de pacientes com DJL são hábeis em fagocitar o fungo, à semelhança dos indivíduos sadios (SESSO & BARUZZI, 1988 & VILANI-MORENO et al., 2004).

Pode-se sugerir então, que o fungo é pouco patogênico, justificando a cronicidade da doença, porém é de difícil eliminação do hospedeiro, possivelmente pela constituição química da sua parede celular e/ou pela imunidade celular do hospedeiro, especificamente deficiente ao fungo (OPROMOLLA et al., 2000).

Pelos diferentes achados acima descritos, pode-se concluir que o real papel da imunologia na DJL ainda é obscuro.

Doenças infecciosas e parasitárias, a citar: hanseníase, febre amarela, leishmaniose, PCM dentre outros, representam um fascinante modelo para estudos dos mecanismos imunológicos de doenças por envolver uma complexa interação entre seres vivos; o hospedeiro e o agente infeccioso, que pode resultar ou não em doença. No hospedeiro e no agente infeccioso, mecanismos de defesa e de escape são finamente regulados, sob influência genética e muitas vezes de fatores ambientais (PAGLIARI; SOTTO, 2003).

O real conhecimento da fisiopatogenia das doenças infecciosas torna-se mais abrangente à medida que entendemos os mecanismos celulares e

imunológicos desta interação. Progressos neste campo são fundamentais para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e são imprescindíveis para o monitoramento da doença.

Entre as células cutâneas que possuem função imunológica, as CL são consideradas as mais importantes. Uma outra população de células dendríticas da pele, também com capacidade de ser APC, porém com localização na derme, foi descrita inicialmente por HEADINGTON em 1986 e é denominada dendrócito dérmico (DD).

NESTLE *et al.*, em 1993 observaram que células dendríticas dérmicas em cultura podem expressar a molécula CD1a e por isso propõem que essas células (DDs) possam ser precursoras das CLs epidérmicas. MURPHY *et al.*, em 1986 verificaram nos transplantes de medula óssea que macrófagos dérmicos, quando estimulados, são capazes de migrar para a epiderme, onde assumem características fenotípicas de CL.

Em virtude da similitude filogenética e antigênica entre o *L. loboi* e o *P. brasiliensis*, a maioria dos estudos imunológicos na DJL a correlacionam com a PCM, micose profunda que já possui um vasto conteúdo imunológico descrito, motivo pelo qual esta enfermidade está presente na investigação deste trabalho.

A PCM é uma doença espectral e tem a imunidade mediada por célula como seu principal fator de defesa. Há o envolvimento do perfil Th1 e Th2. As citocinas do perfil Th1 (IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  e INF- $\gamma$ ) são responsáveis pela resistência do hospedeiro ao fungo e do perfil Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 e TGF- $\beta$ ) pela suscetibilidade (MOTA *et al.*, 1985).

A diminuição da população de CLs em processos patológicos, como no transplante de medula óssea, na hanseníase multibacilar e na maioria dos casos estudados de PCM, tem sido descrita (QUARESMA *et al.*, 2009). Na PCM, a redução no número das CLs pode ser resultado de sua inativação em função de fatores produzidos pelo *P. brasiliensis*, ou ainda, pela sua migração para a derme para processar antígenos, onde poderiam sofrer alterações imunofenotípicas e não mais ser imunorreativas para o anticorpo CD1a (MURPHY *et al.*, 1986, PAGLIARI, 2002b).

No entanto, em recente trabalho realizado por Quaresma et al., (2010), que utilizou a mesma amostra de pacientes do estudo que está sendo abordado, foi observado que as CLs estão presentes nas lesões cutâneas da DJL similar às aquelas encontradas na pele normal, sugerindo algum mecanismo de escape imunológico do hospedeiro ou do próprio fungo em relação às CLs.

Os DDs são células constitutivas da derme, originada na medula óssea, identificada por um marcador relativamente específico, o fator de coagulação XIIIa (SUEKI et al., 1995). São capazes de secretar o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que é um fator mediador da inflamação e resposta imune celular, quando estimulados pelo interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) (NESTLE et al., 1994, PAGLIARI, 2002b).

Cerio et al. (1990a) referiram a ausência de DD FXIIIa+ nos granulomas da sarcoidose e tuberculose. Entretanto, Pagliari (2002b), observou DD FXIIIa+ na PCM, ao redor dos granulomas na derme reticular e em torno de vasos, referindo que sua capacidade de apresentar antígenos torna essa localização ideal para interagir com os linfócitos T que chegam pela circulação.

Essa população celular, como os macrófagos, é capaz de fagocitar (HEADINGTON, 1986, NESTLE et al., 1998). Através de reação de dupla-marcação imuno-histoquímica, foi possível verificar a presença de formas fúngicas do *P. brasiliensis* no citoplasma de DD FXIIIa+ em 40% dos espécimes, ratificando a sua possível função de célula apresentadora de antígeno na PCM (PAGLIARI, 2002b).

Nos casos aqui relatados de DJL foi detectada uma maior quantidade de DD FXIIIa quando comparados ao grupo controle (de pele normal, oriundo de pacientes sem doenças dermatológicas) e aos grupos de pacientes com PCM.

Podemos então, tentar correlacionar os achados dessas células dendríticas na DJL, avaliando a quantidade de CL inalterada, similar a pele normal e o aumento de DD FXIIIa.

Considerando que os DDs são precursores das CLs, os níveis elevados de DD FXIIIa nos pacientes com DJL poderiam representar um reservatório dérmico das CLs epidérmicas, se transformado nelas continuamente e assim não deixando seus níveis baixarem. Este fato explicaria como as CLs mesmo encontradas em

quantidade similar aos dos pacientes saudáveis, parecem participar ativamente na defesa imunológica do organismo

Outro ponto a ser observado é o perfil das citocinas. Já foi comprovada por Brito e Quaresma (2007) a elevação do TGF- $\beta$  que leva a uma diminuição do INF- $\gamma$ , mostrando um nítido predomínio do perfil TH2. No entanto, neste trabalho foi demonstrado uma elevação dos DDs o qual secreta INF- $\gamma$ , mostrando um predomínio do perfil TH1.

Em virtude deste confronto de resultados, muito ainda se especula sobre a polaridade dos padrões de produção de citocinas e sua correlação com resistência e susceptibilidade a diversas doenças.

Alguns autores acreditam que ao verificar a coexpressão de citocinas de ambos perfis imunológicos na mesma doença, sugere-se a existência de padrões mistos, que tenderiam por vezes mais para um polo e por vezes para outro (KELSO, 1995). Fato este que parece ocorrer na DJL.

Os resultados deste trabalho sugerem que a DJL é uma doença espectral, o que poderia explicar talvez o porquê da existência de casos localizados mesmo com longa evolução de doença e em contrapartida, casos disseminados como manifestação precoce da doença.

Assim, novos estudos devem ser realizados para um maior conhecimento dessa doença, sobretudo no comportamento imunológico, que continua desafiando os pesquisadores.

## 7 CONCLUSÃO

O presente trabalho avaliou a imunomarcção tecidual para dendrócitos dérmicos fator XIIIa (DD FXIIIa) em lesões cutâneas da DJL e os resultados encontrados na amostra estudada sugerem algumas conclusões:

1. A DJL acomete principalmente pacientes do sexo masculino, na faixa etária entre 46 e 65 anos, agricultores, procedentes da região nordeste do estado do Pará, com forma clínica queloidiana e localização preponderante das lesões nos membros inferiores.
2. Os valores da contagem de DD FXIIIa não são influenciados pelas variantes de gênero, idade, profissão, procedência, forma clínica e localização das lesões dos pacientes portadores de DJL.
3. Os valores encontrados de DD FXIIIa nos pacientes portadores da DJL são maiores do que os encontrados no grupo controle de pele normal, oriundo de pacientes sem doenças dermatológicas.
4. A quantidade de DD FXIIIa encontrada nos pacientes portadores de DJL é maior que a encontrada nos pacientes com PCM, tanto no aspecto histopatológico de GF, como no de GBO.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LINCHTMAN, A. H. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro (RJ): Elsevier, 2005. 580 p.

ADAMS, D. O. The granulomatous inflammatory response. **The American Journal of Pathology**, v. 84, p. 164-191, 1976.

ADANY, R.; GLUKHOV, A.; KABAKO, A. Y.; MUSZBEK, L. Characterisation of connective tissues cells containing factor XIII subunit a. **Journal of Clinical Pathology**, v. 41, p. 49-56, 1988.

AKAGI, A.; TAJIMA, S.; ISHIBASHI, A.; MATSUBARA, Y.; TAKEHANA, M.; KOBAYASHI, S.; YAMAGUCHI, N. Type XVI collagen is expressed in factor XIIIa+ monocyte-derived dermal dendrocytes and constitutes a potential substrate for factor XIIIa. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 118, n. 2, p. 267-74, 2002.

ALMEIDA, S. R.; LOPES, J. D. The low efficiency of dendritic cells and macrophages from mice susceptible to *Paracoccidioides brasiliensis* in inducing a Th1 response. **Brazilian Journal Medical and Biological Research**, v. 34, p. 529-537, 2001.

ARRESE, J. E.; PIERARD, G. E. Factor-XIIIa-positive dendrocytes and dermal microvascular unit. **Dermatológica**, v. 180, n. 2, p. 166-7, 1990.

ARRESE, J. E.; PIERARD, G. E. Factor XIIIa-related antigen immunoreactivity of fungal cell wall: a biologically relevant feature? **Dermatology**, v. 190, p. 119-123, 1995.

AYRES, M.; AYRES, M. J.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat 3.0**. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade civil Mamirauá, Belém (Pa). 2003.

AZULAY, R. D.; AZULAY, D. R. **Dermatologia**. 4. ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2006. 381-2 p.

AZULAY, R. D.; CARNEIRO, J. A.; CUNHA, M. G.; REIS, L. T. Keloidal blastomycosis (Lobo's disease) with lymphatic involvement: a case report. **International Journal of Dermatology**, v. 15, p. 40-42, 1976.

BANCROFT, J. D.; GAMBLE M. **Theory and practice of histological techniques**. 5 ed. London: Elsevier, 2007. 125-138p.

BARUZZI, R. G. A Doença de Jorge Lobo. Aula proferida no VI Curso Nacional de Dermatopatologia, São Paulo, 11-14 julho 1984.

BARUZZI, R. G.; RODRIGUES, D.; MICHALANY, N.; SALOMÁTO, R. Squamous-cell carcinoma and Lobomycosis (Jorge Lobo's disease). **International Journal of Dermatology**, v. 28, n. 3, p. 183-185, 1989.

BARUZZI, R. G.; LACAZ, C. S.; SOUZA, F. A. A. História natural da doença de Jorge Lobo. Ocorrência entre índios Caiabi (Brasil Central). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 21, p. 302-338, 1979.

BERNARD, G.; NEVES, C.P.; GRYSCHKEK, R. C.; DUARTE, A. J. Imbalance of IL-12, INF-gamma and IL-10 secretion in the immunosuppression associated with human paracoccidioidomycosis. **Cytokine**, v. 13, p. 248-252, 2001.

BIEBER, T.; RING, J.; BRAUN-FALCO, O. Comparison of different methods for enumeration of Langerhans cells in vertical cryosections of human skin. **British Journal of Dermatology**, v. 118, p. 385-392, 1988.

BOS, J. D.; KAPSENBERG, M. L. The skin immune system. **Immunology Today**, v.17, p. 235-240, 1986.

BRITO, A. C.; ENOKIHARA, M. M. S. S.; MIRANDA, M. F. R.; CARNEIRO, F. A.; FARIA, F. P.; DALUR, E. S. Jorge Lobo's disease agent: observations by transmission and scanning electron microscopes. **Acta Microscopica**. In: XVIII Congress of the Brazilian Society for Microscopy and Microanalyses, S407- 1999.

BRITO, A. C. Lobomycosis. In: TRYING, S. K.; LUPI, O.; HENGGE, U. R. **Tropical Dermatology**. USA: Elsevier, 2006, p. 207-209.

BRITO, A. C.; QUARESMA, J. A. S. Lacaziose (Doença de Jorge Lobo): revisão e atualização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 5, p. 461-74, 2007.

BRUN, A. M. Lobomycosis in three venezuelan patients. **International Journal of Dermatology**, v. 38, p. 298-305, 1999.

BURNS, R. A.; ROY, S.; WOODS, C.; PADHYES, A. A.; WARNOCK, D. W. Report of the first human case of lobomycosis in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, p. 1283-1285, 2000.

CÁCERES, S.; TORO, R. Lobomycosis de 35 años de evolucion. **Revista de la Sociedad Colombiana de Dermatologia**, v. 1, n. 2, p. 43-45, 1991.

CALDWELL, D. K.; CALWELL, M. C.; WOODARK, J. C.; AJELLO, L.; KAPLAN, W.; McCLURE, M. Lobomycosis as a disease of the Atlantic bottle-nosed dolphin (*Tursiops truncatus*, Montagu, 1821). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 24, n. 1, p. 105-114, 1975.

CALICH, V. L. G.; VAZ, C. A. C.; BURGER, E. Immunity to *Paracoccidioides brasiliensis* infection. **Immunity to fungi**, v. 149, p. 407-417, 1998.

CAMARGO, Z. P.; BARUZZI, R. G.; MAEDA, S. M.; FLORIANO, M. C. Antigenic relationship between *Loboa lobo* and *Paracoccidioides brasiliensis* as shown by serological methods. **Medical Mycology**, v. 36, p. 413-417, 1998.



CERIO, R.; GRIFFITHS, C. E.; COOPER, K. D.; NICKOLOFF, B.; HEADINGTON, J. T. Characterization of factor XIIIa positive dermal dendritic cells in normal and inflamed skin. **British Journal of Dermatology**, v. 121, p. 421-431, 1989.

CERIO, R.; SPAULL, J.; OLIVER, G. F.; JONES, E. W. A study of factor XIIIa and MAC 387 immunolabeling in normal and pathological skin. **American Journal of Dermatopathology**, v. 12, p. 221-133, 1990a.

CERIO, R.; JONES, E. W. Factor XIIIa in fibrovascular tumors. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 17, n. 4, p.251, 1990b.

CERIO, R. Dendrocytes dermiques te facteur XIIIa dans la peau normale et pathologique. **Annales de Dermatologie et de Venereologie**, v. 120, n. 1, p. 53-7, 1993.

CHANG, T. L.; SHEA, C. M.; URIOSTE, S.; THOMPSON, R. C.; BOOM, W.; ABBAS, A. K. Heterogeneity of helper/inducer T lymphocytes. III. Responses of IL2 and IL4 producing (TH1 and TH2) clones to antigens presented by different accessory cells. **The Journal of Immunology**, v. 145, p. 2803-2808, 1990.

CUCÉ, L. C.; WROCLAWSKI, E. L.; SAMPAIO, S. A. P. Treatment of paracoccidioidomycosis, candidiasis, chromomycosis, lobomycosis and mycetoma with ketoconazole. **International Journal of Dermatology**, v. 19, p. 405-408, 1980.

D'ÁVILA, S. C. G. P.; PAGLIARI, C.; DUARTE, M. I. S. The cell-mediated immune reaction in the cutaneous lesion of chromoblastomycosis and their correlation with different clinical forms of the disease. **Mycopathologia**, v. 156, p. 51-60, 2002.

DERRICK, E. K.; BARKER, J. N.; KHAN, A.; PRICE, M. L.; MACDONALD, D. M. The tissue distribution of factor XIIIa positive cells. **Histopathology**, v.22, p.157-162, 1993.

DIAS, L. B.; SAMPAIO, M. M.; SILVA, D. Jorge Lobo's disease. Observations on its

epidemiology and some unusual morphological forms of the fungus. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 12, p. 8-15, 1970.

DINIZ, J. A. P.; TEIXEIRA, C. E.; SOARES, M. C.; BRITO, A. C.; SILVA, J. P. Ultrastructural aspects of *Lacazia loboi*. **Acta Microscopica**. In: XVII Congress of the Brazilian Society for Microscopy and Microanalyses, 2001.

FEAR, J. D; JACKSON, P.; GRAY, C.; MILOSZEWSKI, K. J.; LOSOWSKY, M. S. Localization of factor XIII in human tissues using an immunoperoxidase technique. **Journal of Clinical Pathology**, v. 37, p. 560-563, 1984.

FIVENSON, D. P; KICKOLOFF, B. J. Distinctive dendritic cell subsets expressing factor XIIIa, CD1a, CD1b and CD1c in mycosis fungoides and psoriasis. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 22, n. 3, p. 223-228, 1995.

FICHTELIUS, K. E.; GROTH, O.; LIDEN, S. The skin, a first level lymphoid organ? **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 37, p. 607-620, 1970.

FIGUEIREDO, F.; ALVES, L. M. C.; SILVA, C. L. Tumor necrosis factor production *in vivo* and *in vitro* in response to *Paracoccidioides brasiliensis* and the cell wall fractions thereof. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 93, p. 189-194, 1993.

FORNARI, M. C.; BAVA, A. J.; GUERENO, M. T.; BERARDI, V. E.; SILAF, M. R.; NEGRONI, R. High serum Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor Alpha levels in chronic paracoccidioidomycosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 8, p. 1036-1038, 2001.

FUCHS, J.; MILDBRAT, R.; PECHER, A. S. Lobomycosis (keloidal blastomycosis): case reports and overview. **Cutis**, v. 46, p. 227-234, 1990.

GIMENEZ, M. F.; TAUSK, F.; GIMENEZ, M. M.; GIGLI, I. Langerhans cells in paracoccidioidomycosis. **Archives of Dermatology**, v. 123, p. 479-481, 1987.

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**, v. 162, p.97-101, 2006.

GIBRAN, N. S.; HEIMBACH, D. M.; HOLBROOK, K. A. Immunolocalization of FXIIIa+ dendritic cells in human burn wounds. **Journal of Surgical Research**, v. 59, n. 3, p. 378-86, 1995.

HAUBOLD, E. M.; ARONSOS, J. F.; COWAN, D. F.; MCGINNIS, M. R.; COOPER, C. R. Isolation of fungal rDNA from bottlenose dolphin skin infected with *Loboa lobo*. **Medical Mycology**, v. 36, p.263-267, 1998.

HEADINGTON, J. T.; CERIO, R. Dendritic cells and the dermis. **American Journal of Dermatopathology**, v. 12, n. 3, p. 217-220, 1990.

HERR, R. A; TARCHA, E. J.; TABORDA, P. R.; TAYLOR, J. W.; EJELLO, L.; MENDONZA, L. Phylogenetic analysis of *Lacazia lobo* places this previously uncharacterized pathogen within the dimorphic Onygenales. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, p. 309-314, 2001.

HOYO, E.; KANITAKIS, J.; SCHMITT, D. Le dendrocyte dermique. **Pathologie Biologie**, v. 41, n. 7, p. 613-8, 1993.

JONULEIT, H.; KNOP, J.; ENK, A. H. Cytokines and their effects on maturation, differentiation and migration of dendritic cells. **Archives of Dermatological Research**, v. 289, p. 1-8, 1996.

KELSO, A. Th1 and Th2 subsets: paradigms lost? **Immunology Today**. v. 16, p. 374-9, 1995.

LACAZ, C. S.; BARUZZI, R. G.; ROSA, M. C. B. **Doença de Jorge Lobo**. São Paulo: Editora da USP-IPSI Gráfica e Editora, 1986. 92p.

LACAZ, C. RODRIGUES, M. C.; PORTO, E. *Paracoccidioides lobo* x *Loboa lobo*: uma questão de nomenclatura médica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 69, n. 2, p. 143-144, 1994.

LANDMAN, G.; VELUDO, M. A.; LOPES, J. A.; MENDES, E. Crossed-antigenicity between the etiologic agents of lobomycosis and paracoccidioidomycosis evidenced by an immunoenzymatic method (PAP). **Allergologia et Immunopathologia**, v. 16, p. 215-218, 1988.

LEITE, J. M. Doença de Jorge Lobo (Estudo clínico-patológico com apresentação de cinco casos). **Atas do Simpósio sobre Biota Amazônica**, V. 6, p.161-176, 1967.

LOUREIRO, A. A. P.; BRITO, A. C.; SILVA, D. Micose de Jorge Lobo de localização insólita. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 46, n.1, p. 1-6, 1971.

MADEIRA, S.; OPROMOLLA, D. V. A.; BELONE, A. F. F. Inoculation of BALB/c mice with *Lacazia lobo*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, p. 239-243, 2000.

MARCOS, E. V. C. Doença de Jorge Lobo e sua relação com os antígenos do sistema HLA. Botucatu, 2001. Tese de Mestrado. Universidade Estadual Paulista.

MARCOS, E. V. C.; SOUZA, F. C.; TORRES, E. A. Estudo de associação entre antígenos leucocitários humanos e doença de Jorge Lobo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 38, n. 5, p. 399-401, 2005.

MICHALANY, J. Corpos asteróides nas lesões granulomatosas com especial referência a blastomicose ou doença de Jorge Lobo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.2, p. 61-68, 1995.

MIGAKI, G.; VALÉRIO, M. G.; IRVINE, B.; GARDNER, F. M. Lobo's disease in an

Atlantic bottle-nosed dolphin. **American Veterinary Medical Association**. v. 159, p. 578-582, 1971.

MILLER, G. F.; OWENS, I. W. Ultrastructural characterization of the agent of systemic yeast infection of ower monkeys. **Medical Mycology**, v. 37, p. 139-145, 1999.

MIRANDA, M. F. R.; SILVA, A. J. G. Vinyl adhesive tape also effective for direct microscopy diagnosis of chromomycosis, lobomycosis and paracoccidioidomycosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 52, p. 39-43, 2005.

MORAES, M. A. P.; OLIVEIRAS, W. R. Novos casos da micose de Jorge Lobo encontrados em Manaus, Amazonas (Brasil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.4, p.187-97, 1962.

MOTA, N. G.; REZKALLAHLWASSO, M. T.; PERACOLO, M. T.; ANDI, R. C.; MENDES, E. Correlation between cell-mediated immunity and clinical forms of paracoccidioidomycosis. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 765-772, 1985.

MURPHY, G. F.; MESSAD, D.; FONFERKO, E.; HANCOCK, W. W. Phenotypic transformation of macrophages to Langerhans cells in the skin. **American Journal of Pathology**, v. 123, p. 401-406, 1986.

MUSATTI, C. C.; REZKALLAH, M. T.; MENDES, E.; MENDES, N. F. *In vivo* and *in vitro* evaluation of cell-mediated immunity in patient with paracoccidioidomycosis. **Cell Immunology**, v. 24, p. 365-378, 1976.

MUSZBEK, L.; ADÁNY, R.; SZEGEDI, G.; POLGÁR, J.; KÁVAI, M. Factor XIII of blood coagulation in human monocytes. **Thrombosis Research**, v. 37, p. 401-410, 1985.

NALOVIC, K.; PRADNAUD, R. Anergic cutaneous leishmaniasis versus lobomycosis. **International Journal of Dermatology**, v.35, n.6, p.438-440, 1996.

NEMETH, A. J.; PENNEYS, N. S. Factor XIIIa is expressed by fibroblasts in fibrovascular tumors. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 16, n. 5, p. 266-71, 1989.

NESTLE, F. O.; XIANG-GUANG, Z.; THOMPSON, C. B.; TURKA, L. A.; ICKOLOFF, B. J. Characterization of dermal dendritic cells obtained from normal human skin reveals phenotypic and functionally distinctive subsets. **The Journal of Immunology**, v. 151, n. 11, p. 6535-45, 1993.

NESTLE, F. O.; NICKOLOFF, B. J. Dermal dendritic cells are important members of the skin immune system. **Advances Experimental Medicine and Biology**, v. 378, p. 111-116, 1995.

NESTLE, F. O.; FILGUEIRA, L.; NICKOLOFF, B. J.; BURG, G. Human dermal dendritic cells process and present soluble protein antigens. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 110, p. 762-766, 1998.

OPROMOLLA, D. V. A.; VILANI-MORENO, F. R.; BELONE, A. F. F. A doença de Jorge Lobo e a coloração pela prata metenamina. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 74, p. 345-349, 1999a.

OPROMOLLA, D. V. A.; TABORDA, P. R. O.; TABORDA, V. B. A.; VIANA, S.; FURTADO, J. F. Lobomycose: relato de 40 casos novos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 74, p. 135-141, 1999b.

OPROMOLLA, D. V. A.; NOGUEIRA, M. E. S. Inoculation of *Lacazia loboi* into the subcutaneous tissue of the hamster cheek pouch. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, n. 3, p. 119-123, 2000a.

OPROMOLLA, D. V. A.; BELONE, A. F. F.; TABORDA, P. R. O.; TABORDA, V. B. A.

Correlação clinicopatológica em 40 casos novos de Lobomicose. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 75, n.4, p. 425-434, 2000b.

OPROMOLLA, D. V. A, TABORDA, P. R., ROSA, P. S. Lymph node involvement in Jorge Lobo's disease: report of two cases. **International Journal of Dermatology**, v. 42, p. 938-941, 2003.

OPROMOLLA, D. V. A; BARUZZI, R. G. Doença de Jorge Lobo. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2005. 1185-92p.

PAGLIARI, C.; SOTTO, M. N. Correlation of factor XIIIa + dermal dendrocytes with paracoccidioidomycosis skin lesions. **Medical Mycology**, v. 40, p. 407-410, 2002a.

PAGLIARI, C. Células dendríticas e perfil de citocinas em lesões cutâneas na Paracoccidioidomicose. São Paulo, 2002b. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PAGLIARI, C.; SOTTO, M. N. Dendritic cells and pattern of cytokines in paracoccidioidomycosis skin lesions. **American Journal of Dermatopathology**, v. 25, n. 2, p. 107-112, 2003.

PECHER, S. A. Deep mycosis in Latin America. **Mèdicine Tropicale**, v. 54, n. 4, p. 411-415, 1994.

PECHER, S. A.; CROCE, J.; FERRI, R. G. Study of humoral and cellular immunity in lobomycosis. **Allergologia et Immunopathologia**, v. 7, p. 439-434, 1979.

PECHER, S. A.; FUCHS, J. Cellular immunity in Lobomycosis (Keloidal blastomycosis). **Allergologia et Immunopathologia**, v. 16, p. 413-415, 1988.

PENNEYS, N. S. Factor XIII expression in the skin: observation and a hypothesis. **Journal of American Academy of Dermatology**, v. 22, p. 484-488, 1990.

PIERARD, F. C.; ARRESE, J. E.; NIKKELS, A. F.; al-SALEH, W.; DELVENNE, P.;  
PIERARD, G. E. Factor XIIIa-positive dendrocytes and proliferative activity of  
cutaneous cancers. **Virchows Archiv**, v. 429, n. 1, p. 43-48, 1996.

PRADINAUD, R. *Loboa lobo*. In: COLLIEN, L; BALOWS, A.; SUSSMAN, M.  
**Topley and Wilson's microbiology and microbial infections**, vol. 4. New York:  
Oxford University Press, 1998. 585-94p.

PRADINAUD, R.; TALHARI, S. Lobomycosis (Maladie de Jorge Lobo). **Maladies  
infectieuses**, v.8, p.608-10, 1996.

PUCCIA, R.; SCHENKNAM, S.; GORIN, P. A. J.; TRAVASSOS, L. Exocellular  
components of *Paracoccidioides brasiliensis*. Identification of a specific antigen.  
**Infection and Immunity**, v. 53, n.1, p. 199-206, 1986.

QUARESMA, J. A. S.; OLIVEIRA, M. F. A.; GUIMARÃES, A. C. B.; BRITO, E. B.;  
BRITO, R. B.; PAGLIARI, C.; BRITO, A. C.; XAVIER, M. B.; DUARTE, M. I. S.  
CD1a and Factor XIIIa Immunohistochemistry in Leprosy: A Possible Role of  
Dendritic Cells in the Pathogenesis of *Mycobacterium leprae* Infection. **The  
American Journal of Dermatopathology**, v.31, n.6, p.527-31, 2009.

QUARESMA, J. A. S.; UNGER, D.; PAGLIARI, C.; SOTTO, M. N.; DUARTE, M. I.  
S.; BRITO, A. C. Immunohistochemical study of Langerhans cells in cutaneous  
lesions of the Jorge Lobo's disease. **Acta Tropica**, v.114, n.1,p.59-62, 2010

REGEZI, J. A.; NICKOLOFF, B. J.; HEADINGTON, J. T. Oral submucosal  
dendrocytes: factor XIIIa+ and CD34+ dendritic cell populations in normal tissue  
and fibrovascular lesions. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 19, n.5, p. 398-  
406, 1992.

RODRIGUEZ-TORO, G. Enfermedad de Jorge Lobo o blastomycosis queloidiana,  
nuevos aspectos de la entidad em Colombia: revision. **Biomédica**, v. 9, p. 133-  
146, 1989.



RODRIGUEZ-TORO, G. Lobomycosis. **International Journal of Dermatology**, v. 32, n. 5, p. 324-332, 1993.

RODRIGUEZ-TORO, G.; TELLEZ, N. Lobomycosis in colombian amerindian patients. **Mycopathologia**, v. 120, p. 5-9, 1992.

ROMAGNANI, S. TH 1 and TH2 in human diseases. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 80, p. 225-235, 1996.

ROSA, P. S. Avaliação de drogas antifúngicas no tratamento de camundongos BALB/c inoculados com o *Lacazia loboi*. Botucatu, 1997. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista.

ROWDEN, G.; LEWIS, M. G.; SULLIVAN, A. K. La antigen expression on human epidermal Langerhans cells. **Nature**, v. 268, p. 247, 1977.

SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. **Dermatologia**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas LTDA, 2000. 544-5p.

SAMPAIO, M. M.; DIAS, L. B.; SCAFF, L. Staining of pathogenic fungi with trepan blue. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 13, n. 3, p. 223-224, 1971.

SESSO, A.; BARUZZI, R. G. Interaction between macrophage and parasite cells in lobomycosis. The thickened cell wall of *Paracoccidioides loboi* exhibits apertures to the extracellular milieu. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v. 20, p. 537-548, 1988.

SESSO, A.; FARIA, F. P.; BARUZZI, R. G. The causative agent of Jorge Lobo's disease, the fungus *P. loboi* (= *Loboa loboi*) may be seen extracellularly tightly by histiocytes. Observations at the transmission and scanning electron microscopes. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 35, p. 305-306,

1993.

SILVA, D. Estudo experimental da micose de Jorge Lobo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 69, n. 2, p. 88-91, 1994a.

SILVA, D.; BRITO, A. Formas clínicas não usuais da micose de Lobo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 69, n. 2, p. 133-136, 1994b.

SILVA, D.; MACEDO, C.; OLIVEIRA, C.; UNGER, D. Micose de Jorge Lobo simulando forma gomosa: um caso raro. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 71, n. 3, p. 211-213, 1996.

SILVA, E.; FERASÇOLI, M. O. Freqüências relativas dos fenótipos eritrocitários ABO e Lewis na Doença de Jorge Lobo. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 26, p. 23-27, 2004.

SCHMITT, D. Cutaneous immune system. **Compts Rendus des Séances de la Société de Biologie et de ses Filiales**, v. 188, n. 3, p. 207-21, 1994.

SINGER-VERMES, L. M.; BURGER, E.; CALICH, V. L.; MODESTO-XAVIER, L.; SAKAMOTO, T. N.; SUGIZAKI, M. F.; MEIRA, D. A.; MENDES, R. P. Pathogenicity and immunogenicity of *Paracoccidioides brasiliensis* isolates in the human disease and in an experimental murine model. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 97, p. 113-119, 1994.

SOTTO, M. N.; De BRITO, T.; SILVA, A. M. G.; VIDAL, M.; CASTRO, L. G. M. Antigen distribution and antigen-presenting cells in skin biopsies of human chromoblastomycosis. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 31, n. 1, p. 14-18, 2004.

STING, G. Dendritic cell of the skin. **Dermatologic Clinics**, v. 8, n. 4, p. 673-9, 1990.

STINGL, G.; TAMAKI, K.; KATS, S. I. Origin and function of epidermal Langerhans cells. **Immunological Reviews**, v. 53, p. 149-174, 1980.

STREILEIN, J. W. Antigen-presenting cells in the induction of contact hypersensitivity in mice: evidence that Langerhans cell are sufficient but not required. **Journal of Investigative Dermatology**, v1 93, p. 443-448, 1989.

SUEKI, H.; WHITAKER, D.; BUCHSBAUM, M.; MURPHY, G. F. Novel interactions between dermal dendrocytes and mast cells in human skin. Implications for hemostasis and matrix repair. **Laboratory Investigation**, v.69, p.160-172, 1993.

SUEKI, H.; TELEGAN, B.; MURPHY, G. F. Computer-Assisted three dimensional reconstruction of human dermal dendrocytes. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 105, n.5, p.704-708, 1995.

SUVARNA, S. K.; COTTON, D. W. Dermal dendrocytes and other factor XIIIa-positive cells. **The Journal of Pathology**, v. 171, n. 4, p.251-2, 1993.

TABORDA, V. B.; TABORDA, P. R. O.; MCGINNIS, M. R. Constitutive melanin in the cell wall of the etiologic agent of Lobo's disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 41, p. 9-14, 1999a.

TABORDA, P. R.; TABORDA, V. A.; MCGINNIS, M. R. *Lacazia loboi* gen. nov., comb. nov., the etiologic agent of Lobomycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 2031-2033, 1999b.

TALHARI, S. Enfermedad de Jorge Lobo. **Archivos Argentinos de Dermatologia**, v. 31, n. 1, p. 23-26, 1981.

TALHARI, S.; SOUZA, M. D. G.; MENDES, A.P. Deep mycosis in Amazon region. **International Journal of Dermatology**, v. 27, n. 7, p. 481-484, 1988.

TALHARI, S.; NEVES, R. G. Doença de Jorge Lobo. In: **Dermatologia Tropical**.

Rio de Janeiro: Medsi, 1995. 237-53p.

TRIMBLE, C. L.; GRAY, M. H.; McNUTT, N. S. The distribution of factor XIIIa-positive cell in human fetus and placenta. **Virchows Archiv A: Pathological Anatomy and Histopathology**, v. 420, n. 6, p. 513-8, 1992.

VIDAL, M. S. M.; PALACIOS, S. A.; MELO, N. T.; LACAZ, C. S. Reactivity of anti-gp43 antibodies from *Paracoccidioides brasiliensis* antiserum with extracts from cutaneous lesions of Lobo's disease. Preliminary note. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, p. 35-37, 1997.

VILANI-MORENO, F. R.; OPRMOLLA, D. V. A. Determinação da viabilidade do *Paracoccidioides lobo* em biópsias de pacientes portadores da doença de Jorge Lobo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 72, p. 433-437, 1997.

VILANI-MORENO, F. R. Imunopatologia da Doença de Jorge Lobo: composição celular do infiltrado inflamatório e quantificação de citocinas em sobrenadante de cultura de células mononucleares e soro sanguíneo. Botucatu, 2002. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista.

VILANI-MORENO, F. R.; BELONE, A. F. F.; ROSA, P. S.; MADEIRA, S.; OPRMOLLA, D. V. A. Evaluation of the vital staining method for *Lacazia lobo* through the experimental inoculation of BALB/c mice. **Medical Mycol**, v. 41, p. 211-216, 2003.

VILANI-MORENO, F. R.; SILVA, L. M. S.; OPRMOLLA, D. V. A. Evaluation of the phagocytic activity of peripheral blood monocytes of patients with Jorge Lobo's disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, p. 165-168, 2004.

VILANI-MORENO, F. R.; BELONE, A. F. F.; SOARES, C. T.; OPRMOLLA, D. V. A. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrate in Jorge Lobo's disease. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 22, p. 44-49, 2005.

VILELA, R.; MENDOZA, L.; ROSA, P. S.; BELONE, A. F. F.; MADEIRA, S.; OPROMOLLA, D. V. A.; RESENDE, M. A. Molecular model for studying the uncultivated fungal pathogen *Lacazia loboi*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 8, p. 3657-61, 2005.

XAVIER, M.; FERREIRA, M. M.; QUARESMA, J. A.; de BRITO, A. C. HIV and lacazioses, Brazil. **Emergen Infections Disease**. v. 12, p. 526-27,2006.

XAVIER, M; LIBONATI, R. M. F; UNGER, D; OLIVEIRA, C; CORBETT, C. E. P; de BRITO, A. C; QUARESMA, J. A. Macrophage and TGF- $\beta$  immunohistochemical expression in Jorge Lobo's disease. **Human Pathology**, v. 39, n. 2, p. 269-74, 2008.

WOODARD, J. C. Electron microscopic study of lobomycosis (*Loboa lobo*). **Laboratory Investigation**, v. 27, p. 606-612, 1972.

## APENDICE

### APENDICE A

Paciente	DDFXIIIa	Sexo	Idade	Profissão	Procedência	Forma clínica	Localização
1.	96	M	48	agricultor	Altamira-Pa	queloidiana	pavilhão auricular
2.	160	M	51	agricultor	Cametá-Pa	verrucosa	MI
3.	128	M	55	agricultor	S. Domingos Capim-Pa	queloidiana	MI
4.	112	M	60	agricultor	Acará-Pa	verrucosa	MI
5.	160	M	55	agricultor	Mocajuba-Pa	queloidiana	pavilhão auricular
6.	176	M	73	agricultor	Cametá-Pa	queloidiana	MI / face
7.	144	M	80	agricultor	Baião-Pa	queloidiana	MS
8.	128	F	44	do lar	Marituba-Pa	queloidiana	face
9.	160	M	45	braçal	Altamira-Pa	queloidiana	face
10.	176	M	42	agricultor	Mocajuba-Pa	queloidiana	MS
11.	144	M	64	agricultor	Altamira-Pa	verrucosa	MI
12.	32	F	42	agricultor	S. Domingos Capim-Pa	queloidiana	MS / MI
13.	128	M	64	carpinteiro	Mamuri-Am	verrucosa	MI
14.	160	M	76	agricultor	Cajari-MA	queloidiana	pavilhão auricular
15.	224	F	25	do lar	Castanhal-Pa	verrucosa	MI
16.	32	M	40	agricultor	Oeiras do Pará-Pa	queloidiana	MS
17.	176	M	42	agricultor	S. Domingos Capim-Pa	queloidiana	MI
18.	160	M	35	mestre de obras	Mosqueiro-Pa	queloidiana	MI
19.	192	M	51	agricultor	Portel-Pa	queloidiana	MI
20.	112	M	61	agricultor	Cametá-Pa	queloidiana	pavilhão auricular
21.	144	M	56	agricultor	Marituba-Pa	queloidiana	pavilhão auricular
22.	144	M	50	agricultor	Belém-Pa	queloidiana	MS
23.	160	M	56	agricultor	S. Domingos Capim-Pa	queloidiana	MS
24.	160	F	65	do lar	Oeiras do Pará	queloidiana	MI
25.	160	F	42	do lar	Belém-Pa	queloidiana	pavilhão auricular
26.	176	M	72	agricultor	Vigia-Pa	queloidiana	MI
27.	192	M	65	agricultor	S. Domingos Capim-Pa	queloidiana	MI
28.	160	M	31	Op. de máquina	Portel-Pa	verrucosa	MI
29.	96	M	38	comerciário	Belém-Pa	queloidiana	MI
30.	192	M	54	agricultor	Cametá-Pa	queloidiana	MI
31.	160	M	66	agricultor	Marabá-Pa	queloidiana	pavilhão auricular
32.	80	M	55	agricultor	Acará-Pa	queloidiana	lábio
33.	192	M	63	agricultor	Paragominas-Pa	queloidiana	pavilhão auricular

## ANEXOS: Parecer de ética

## ANEXO-1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLO DE MEDICINA TROPICAL  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

## PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. **Protocolo:** Nº034 /2006-CEP/NMT
2. **Projeto de Pesquisa:** IMUNOMARCAÇÃO TECIDUAL DE FATOR XIIIa+ EM DENDRÓCITOS DA DERME EM LESÕES CUTÂNEAS DA DOENÇA DE JORGE LOBO.
3. **Pesquisador Responsável:** Clívia Maria Moraes de Oliveira Carneiro.
4. **Instituição / Unidade:** NMT/UFPA.
5. **Data de Entrada:** 07/06/2006.
6. **Data do Parecer:** 04/07/2006.

## PARECER

O Comitê de Ética em Pesquisa do NMT/UFPA apreciou o protocolo em tela e, verificou que foram atendidas todas as exigências da Resolução 196/96-CNS/MS. Portanto, manifesta-se pela sua aprovação.

Parecer: **APROVADO.**

Belém, 29 de agosto de 2006.

  
p/ **Profº Teijichi Oikawa**  
Coordenador do CEP-NMT/UFPA.

## ANEXO 2

O método imuno-histoquímico utilizado foi o de estreptavidina-biotina peroxidase, detalhado a seguir:

Primeira etapa:

1. Cortes de 4  $\mu\text{m}$  de espessura são obtidos a partir de material embebido em parafina e colhidos em lâminas previamente preparadas com solução adesiva de 3 amino-propyltriethoxy-silane (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO/USA, Cód A3648).
2. Submetidos a desparafinação em xilol por 20 minutos em estufa a 56°C. Após, passados no xilol por 20 minutos em temperatura ambiente.
3. Hidratados em concentrações decrescentes de álcoois (95%, 80% e 70%) por 5 minutos cada.
4. Lavados com água corrente, água destilada e PBS por 5 minutos cada.

Segunda etapa: (Bloqueio da peroxidase endógena)

1. Os cortes foram colocados em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% em incubações de 10 minutos cada.
2. Lavados com água corrente, água destilada e PBS por 5 minutos cada.
3. Feita recuperação antigênica de acordo com o antígeno pesquisado
4. Lavado em água corrente, destilada e PBS.
5. Incubado em leite mólico 10 % por 30 minutos.

Terceira etapa: (Anticorpo primário)

Os cortes foram tratados com solução de anticorpo primário específico ao antígeno pesquisado, diluído em solução de soro-albumina-bovina (BSA)1% e deixados na geladeira por 18 horas a 4°. C.

Quarta etapa: (Anticorpo secundário)

1. Os cortes foram lavados com PBS por 2 vezes de 5 minutos cada.



2. Tratados com anticorpo secundário anti-imunoglobulina de coelho e anti-imunoglobulina de camundongo (DAKO K 492) na diluição de 1:1000 em PBS por 30 minutos a 37° C
3. Lavados em PBS por 2 vezes de 5 minutos.

Quinta-etapa: (Anticorpo terciário)

- 1 Os cortes foram tratados com anticorpo terciário Streptavidin-Biotin-Complex (SABC) (DAKO K 492), diluição 1:1000 por 30 minutos a 37°c.
- 2 Lavados em PBS por 2 vezes por 5 minutos cada.

Sexta-etapa: (Revelação por cromógenos).

1. Preparou-se solução contendo 30mg de 3,3 Diamino-benzidina diluída em 100ml de PBS
2. A mesma foi filtrada e misturada com 1200 micro litros de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3%.

Os cortes foram corados nesta solução por 1,5 a 2 minutos e posteriormente lavados em água corrente, contra corados em hematoxilina, novamente de álcoois, diafanizados em xilol montados em *permount*.