

CONSIDERATIONS REGARDING THE IMMUNE MECHANISMS INVOLVED IN FUNGAL INFECTIONS

Alexandra-Loredana ALMĂȘAN*, Nicoleta IANOVICI

West University of Timisoara, Faculty of Chemistry, Biology, Geography, Department of Biology-Chemistry, Pestalozzi 16, Timișoara

*Corresponding author e-mail: alexandra.almasan98@e-uvt.ro

Received 26 October 2021; accepted 20 July 2022

ABSTRACT

The fungal infections are relatively common in the human body. These can range from common, mild superficial infections to life-threatening invasive infections. Fungal pathogens especially affect immunocompromised people, but they can also affect healthy people. The complex immune mechanisms play a decisive role in defending against mycoses. In this article, I describe pathogenesis of medically important fungi, the interactions between the host and the pathogen, as well as the complex immune mechanisms involved in defense against mycoses. The immune response in fungal infections is represented by both innate immunity, which is the first line of defense, and adaptive immunity. Some strategies to increase immunity are mentioned in the paper.

KEYWORDS: fungal infections, mycoses, immunity, fungal pathogens, defense, immune response, immune mechanisms, neutrophils, macrophages, dendritic cells, T cells, antibody, fungal-host interactions

- 1. Fungi care infectează oamenii sănătoși**
- 2. Fungi care infectază oamenii imunocompromiși**
- 3. Alergeni fungici**
- 4. Infecțiile fungice (micoze)**
- 5. Patogeneza celor mai importante micoze din punct de vedere medical**
- 6. Interacțiunea gazdă – agent patogen fungic**
- 7. Imunitatea înăscută**
- 8. Imunitatea adaptativă**
- 9. Strategii de creștere a imunității**

Animalele au evoluat împreună cu ciupercile, iar sistemul imunitar uman sofisticat și puternic a apărut din provocarea constantă a lumii microbiene. Agenții patogeni fungici și-au adaptat repertoriul patogen la mamifere, insecte și chiar amibe unicelulare. Spre deosebire de plante, insecte și vertebrate ectoterme, mamiferele sunt foarte rezistente la bolile fungice invazive, iar evoluția endotermiei și homeotermiei a sporit imunitatea antifungică (Bergman & Casadevall 2010; Ianovici, 2016). Rezistența remarcabilă a mamiferelor la agenții patogeni fungici se consideră că a contribuit la devenirea mamiferelor

ca specii dominante pe uscat, când proliferarea ciupercilor la sfârșitul Creacicului a creat un „filtru fungic” (Köhler și colab, 2015). Pentru un fung, parazitarea unui om este o strategie solicitantă:

- trebuie să poată crește la o temperatură ridicată, în jurul valorii de 37°C (criteriu strict);
- trebuie să poată ajunge la țesuturile pe care le va parazita, prin penetrarea barierelor tisulare ale gazdei;
- trebuie să poată digera și absorbi componente ale țesuturilor umane;
- trebuie să poată rezista sistemului imunitar uman.

Capacitatea de a infecta un om a apărut în mod independent la Entomophthoromycota, Ascomycota și Basidiomycota.

1.Funghi care infectează oamenii sănătoși

Entomophthoromycota conține agenți patogeni eficienți ai insectelor. Ele apar în întreaga lume, dar au fost găsiți ca agenți ai infecțiilor umane invazive numai în regiunile subtropicale și tropicale. Speciile de genuri patogene pentru om, *Basidiobolus* și *Conidiobolus*, pot fi izolate din resturile vegetale și din sol, în special în lunile ploioase. După cum a subliniat Kwon-Chung (2012), aceste genuri sunt îndepărtate din punct de vedere evolutiv unele de altele, precum și de Mucorales, alături de care au fost clasificate în mod tradițional în Zygomycota.

Conidiobolus spp. provoacă boli ale submucoaselor nasului, sinusurilor și feței. În cele mai multe cazuri, progresia treptată provoacă umflarea țesutului submucos și subcutanat, desfigurare, dificultăți de respirație și sinuzită bacteriană. *Conidiobolus* nu invadează de obicei vasele de sânge și nici nu pătrunde în sistemul nervos central (Prabhu & Patel, 2004).

Basidiobolus ranarum cauzează boli subcutanate la copiii din Africa tropicală și subtropicală, Asia și America. Nodulii apar la locurile de inoculare prin mușcături de insecte, zgârieturi sau răni mici. Poate provoca infecții gastrointestinale, probabil după ingestia de inocul mare, iar simptomele seamănă cu boala inflamatorie intestinală (Vikram și colab., 2012).

Ascomycota. Câțiva membri ai ordinului Onygenales care trăiesc în sol, au evoluat pentru a parazita mamiferele și a provoca infecții sistemice. Boala cauzată de aceste ciuperci începe asimptomatic în plămâni și progresează spre o boală asemănătoare gripei sau pneumoniei. Pot disemina în locuri îndepărtate, pot persista și reactiva: *Paracoccidioides* (în membranele mucoase orale și respiratorii), *Blastomyces* (în oase, articulații și piele) și *Histoplasma* (în mai multe organe, inclusiv tractul gastrointestinal, suprarenale, oase și piele).

Unii membri ai Onygenales infectează oamenii sănătoși, dar foarte rar provoacă boli invazive. Dermatofitele din genul Arthrodermataceae sunt specializate în degradarea keratinelor. Coevoluția cu gazdele lor animale a permis dermatofiților să se sustragă sau să reziste mecanismelor imune înnăscute mai vechi din punct de vedere evolutiv, astfel încât astăzi controlul lor necesită imunitate celulară adaptivă. Prin restrângerea habitatului lor obișnuit la cel mai superficial strat keratinizat al pielii și anexele sale, dermatofiții își reduc contactul cu celulele imune. Dermatofiții specifici omului (antropofile) sunt capabili să reducă inflamația gazdei pentru a stabili o infecție cronică. În contrast, dermatofitele care locuiesc în sol (geofile) și cele specifice animalelor (zoofile) sunt incapabile să manipuleze imunitatea gazdei și sunt eliminate printr-un răspuns inflamator viguros, ilustrând principiul că un parazit bine adaptat își calibrează cu atenție virulența (Köhler și colab, 2015).

Basidiomycota. Criptococii, în secolul trecut, au infectat rar oamenii. În anii 1950, un număr tot mai mare de meningoencefalită criptococică a fost raportat în Africa centrală. Pentru anul 2006, au fost estimate 957.900 de cazuri de meningită criptococică asociate cu SIDA, rezultând 624.700 de decese (Park și colab, 2009). În plus, focarele recente de infecții cu *Cryptococcus gattii* cu mortalitate semnificativă pe insula Vancouver și nord-vestul Statelor Unite este îngrijorător, ciuperca putând evolua pentru a deveni virulentă pentru oamenii sănătoși (Springer și colab, 2012). *Cryptococcus* are o predilecție specială pentru SNC și provoacă meningoencefalită subacută, în care presiune intracraniană ridicată joacă un rol deosebit de dăunător, care, dacă este lăsat netratat, este letal. Ciuperca poate persista ani de zile în plămâni sau în locurile de diseminare anterioară și se poate reactiva numai la o supraveghere imunitară slăbită. *C. gattii* în multe situații este un agent patogen primar mai frecvent decât *C. neoformans* (Springer și colab, 2012).

2. Fungi care infectază oamenii imunocompromiși

Ascomycota. Speciile de *Candida* sunt un grup polifiletic din ordinul Saccharomycotina, care sunt comensale pe mucoasele mamiferelor, în special ale tractului gastrointestinal. Rareori au fost găsite în sol. Un număr limitat de specii sunt asociate în mod obișnuit cu oamenii ca colonizatori și agenți patogeni oportuniști: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* și *C. krusei*. Dintre aceștia, *C. albicans* este cel mai frecvent izolat comensal uman și agent patogen. *C. parapsilosis* este mai răspândită în rândul copiilor și *C. glabrata* în rândul adulților în vârstă.

Aspergillus fumigatus, specia responsabilă de 90% din aspergilioza invazivă, provoacă pneumonie necruțătoare, sinuzită și abcese cerebrale la pacienții neutropenici și la cei cu defecte fagocitare, cum ar fi boala

granulomatosă cronică. Este de temut la persoanele imunodeprimite. Provoacă boli și la o altă extremă a funcției imune: reacții alergice (Ianovici & Tudorică, 2009; Ianovici și colab, 2004).

Imunosupresia profundă permite îmbolnăvirea invazivă de către alte tipuri de ascomicete filamentoase: speciile non-fumigatus de *Aspergillus*, *Fusarium solanum*, *Fusarium oxysporum* și teleomorful *Nectria* spp., *Pseudoallescheria boydii*, anamorfi *Scedosporium* (Mișcă și colab, 2014). Infecțiile cu aceste ciuperci sunt adesea letale, deoarece gazdele pe care le infectează de obicei sunt incapabile să creeze un răspuns imunitar eficient și pentru că tind să fie mai rezistente la antifungicele disponibile în prezent.

Ascomicetele filamentoase pigmentate (dematiacee) infectează indivizii imunocompromiși și, rar, imunocompetenți, pentru a provoca feohifomicoza. Patobiologia lor este diversă, incluzând abcese cerebrale (*Cladophialphora bantianum*, *Ramichloridium* spp. și *Dactylaria gallopava*), keratită, infecții ale sinusurilor sau ale țesuturilor moi, ulcere și chisturi (*Exophiala jeanselmei*, *Exophiala dermatitidis*, *Curvularia* spp., *Bipolaris* sau *Alternaria* spp.) (Ianovici & Dumbravă, 2008; Ianovici și colab, 2008). Când sunt inoculate direct în țesut, aceste ciuperci pot provoca boli devastatoare, așa cum s-a subliniat într-un focar tragic cauzat de steroizi injectabili contaminați (Smith și colab, 2013).

Basidiomycota. În plus față de *Cryptococcus* și alte basidiomicete (*Malassezia furfur*, *Trichosporon asahii* și alți membri ai florei pielii umane), sunt oportuniști la pacienții cu catetere venoase și la pacienții imunosupresivi. Mucorales sunt un grup străvechi omniprezent, în cea mai mare parte de saprotrofe, care, spre deosebire de Ascomycota și Basidiomycota (Dikarya), nu manifestă adaptări sofisticate la diverse substraturi, dar consumă rapid zaharurile disponibile și apoi trec mai departe prin sporangiosporii lor (Hoffmann și colab, 2013). Mucorales sunt angioinvazive. Tigmotropismul, tendința de a simți și urmări curburile unei suprafețe, a fost demonstrat pentru *Mucor mucedo* și este probabil să fie comună tuturor. Rămân multe de învățat despre biologia acestor ciuperci vechi evolutiv și patogeni umani noi din punct de vedere istoric.

3. Alergeni fungici

Particulele fungice din aer liber sau din interior au fost de multă vreme identificate ca una dintre sursele alergiilor (Ianovici și colab, 2013). Expunerea în interior și exterior la componente fungice, inclusiv spori, este un factor declanșator recunoscut pentru alergia respiratorie și astm, precum și pentru dermatita atopică (Ianovici și colab, 2011). Printre cele peste 100.000 de specii de fungi, doar câteva sute au fost descriși ca agenți patogeni oportuniști care provoacă boli umane prin trei mecanisme specifice: infecția directă a gazdei,

declanșarea răspunsurilor imune dereglate și efecte toxice datorate metaboliților secundari. Dintre aceștia, s-a demonstrat că aproximativ 80 de genuri induc alergii de tip I la indivizii atopici. Cei mai importanți fungi alergeni aparțin genurilor *Alternaria*, *Aspergillus* și *Cladosporium* (Ivanovici, 2020; Ivanovici, 2017; Ivanovici, 2016)

Tabelul 1. Prevalența alergiei indusă de diferite specii fungice (în % din populațiile respective investigate) (după Cramer și colab, 2014)

Gen	Populația generală	Atopici	Astmatici	Indivizi alergici
<i>Alternaria</i>	3.6–12.6	3–14.6	13.5–14.6	66.1
<i>Aspergillus</i>	2.4	15–27.6	5–21.3	12.6
<i>Candida</i>	8.5	28,9	23.1	44.3
<i>Cladosporium</i>	2.5–2.9	3–18.2	15.9	13.1
<i>Penicillium</i>	1.5	7.3–13.1	33	33
<i>Trichophyton</i>	1.9	-	-	10.2

4. Infecțiile fungice (micoze)

Acestea sunt cauze importante de morbiditate și mortalitate la om. Se estimează că peste 500 de specii sunt infecțioase pentru om. Unele infecții fungice sunt endemice, iar aceste infecții sunt de obicei cauzate de ciuperci prezente în mediu și ai căror spori intră în organismul uman. Totodată, alte infecții fungice sunt considerate oportuniste, deoarece agenții etiologici provoacă simptome ușoare la persoanele sănătoase, dar pot infecta și provoca afecțiuni severe la persoanele imunodeficiente. Căile respiratorii umane sunt deschise continuu către mediu, de unde spori fungici au potențialul de a ajunge la țesutul pulmonar și de a produce boli. Cu alte cuvinte, infecțiile fungice la om pot varia de la infecții comune, ușoare, superficiale la infecții invazive care pun viața în pericol, în special la pacienții imunocompromiși (Jerez Puebla, 2012; Ravikumar și colab, 2015; Pathakumari și colab, 2020).

Infecțiile fungice pot fi clasificate în funcție de locul infecției, calea de achiziție și tipul de virulență. În linii mari, infecțiile fungice sunt clasificate ca superficiale, cutanate/mucoase, subcutanate și invazive (profunde, sistemice), în funcție de locul infecției, gradul de implicare a țesuturilor și de răspunsul gazdei la agentul patogen.

Infecțiile superficiale (SFI) sunt cauzate în mod obișnuit de speciile *Malassezia* sp., *Tinea nigra*, care afectează suprafața corpului. Nu există modificări patologice notabile și răspuns imun celular în SFI, fiind limitate doar la stratul cornos al pielii. Pe de altă parte, în micozele cutanate apar o varietate de modificări patologice, acestea afectând, pe lângă stratul cornos și straturile mai profunde ale epidermei. Infecțiile cutanate implică tegumentul, inclusiv părul și unghiile. Cele mai frecvente infecții cutanate sunt cauzate de

dermatofiti precum *Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale*, *T. tonsurans* și *Microsporum canis* care infectează țesuturile bogate în keratină. Speciile de *Candida* cauzează infecții cutanate în piele și mucoase. Infecțiile subcutanate implică straturi mai adânci de dermă și țesut subcutanat.

Spre deosebire de SFI, infecțiile invazive (IFI) pot afecta organele interne, cum ar fi plămâni, inima, creierul, rinichii, ficatul sau alte părți ale corpului, fiind frecvente la pacienții imunocompromiși.

Când este clasificată în funcție de calea de achiziție, o infecție fungică poate fi desemnată ca fiind de origine exogenă sau endogenă. Dacă este clasificat ca exogen, un organism infectant poate fi transmis pe cale aeriană, cutanată sau percutanată. O infecție fungică endogenă poate fi dobândită din colonizarea sau reactivarea unei ciuperci dintr-o infecție latentă.

Ciupercile pot fi clasificate și în funcție de virulență, ca agenți patogeni primari sau ca agenți patogeni oportuniști. Un agent patogen primar poate stabili infecția la o gazdă imunologic normală, în timp ce, un agent patogen oportunist necesită un grad de compromitere a apărării gazdei pentru a se stabili infecția (Walsh & Dixon, 1996; Pathakumari și colab, 2020).

S-a raportat că aproximativ 1,5 milioane de decese cauzate de IFI apar în fiecare an la nivel global (Pathakumari și colab, 2020). Peste 80% din aceste decese au loc din cauza infectării cu *Candida* sp., *Aspergillus* sp. și *Cryptococcus* sp. Una dintre cele mai frecvente infecții fungice invazive este candidoza invazivă care este cauzată de speciile din genul *Candida*, mai frecvent *Candida albicans*, fiind o infecție gravă care poate afecta plămâni, sângele, inima, creierul, ochii, oasele și alte părți ale corpului și reprezintă singură 46-75% din totalul IFI (Brown și colab, 2012). Provoacă îmbolnăviri care pun viața în pericol și este responsabilă de ratele semnificative de mortalitate (40%) la pacienții imunocompromiși (Pathakumari și colab, 2020). Candidoza invazivă este a patra și a șasea cea mai frecventă infecție nosocomială în SUA și, respectiv, în Europa (Ravikumar și colab, 2015). Altă infecție fungică majoră este aspergilioza, care este cauzată de *Aspergillus fumigatus*. Este o ciupercă saprofită omniprezentă estimată a provoca peste 200000 de cazuri de aspergilioză invazivă în fiecare an, cu rate de mortalitate de 30-95% (Brown și colab, 2012). O altă infecție, criptococoza, cauzată de speciile *Cryptococcus neoformans* și *Cryptococcus gattii*, afectează peste un milion de indivizi, cu o rată de mortalitate de 20-70% anual (Pathakumari și colab, 2020).

Micozele oportuniste au crescut în ultimele decenii. Factorii predispozanți pentru infecțiile fungice includ neutropenie, transplant, diabet, tumori maligne, malnutriție, boli hematologice și HIV. Un factor de risc important și major pentru infecțiile fungice este utilizarea antibioticelor cu spectru larg care reduce

numărul de bacterii din microbiota și permite creșterea fungică care duce la infecții oportuniste. Utilizarea dispozitivelor medicale (de exemplu, catetere venoase centrale) care distrug barierele de apărare ale gazdei permite, de asemenea, accesul acestor agenți. În cele din urmă, modificările chimioterapiei antineoplazice și a radioterapiei provoacă imunosupresie profundă și, în consecință, o creștere a apariției infecțiilor fungice. Acești factori de risc au schimbat spectrul agenților patogeni care cauzează infecții sistemice, în favoarea ciupercilor multirezistente (Terra și colab, 2014).

5. Patogeneza celor mai importante micoze din punct de vedere medical

C. albicans crește în forme morfologice distincte (unicelulară și hifală). Dihotomia dintre aceste două forme depinde de prezența și absența răspunsului imun al gazdei, a mediului și a capacității de a-și modifica morfologia. Se crede că forma de drojdie unicelulară este asociată cu comensalismul, în timp ce formele hifale sunt extrem de virulente și asociate cu infecția. Trăsăturile de virulență ale *C. albicans* depind de tranziția morfologică dintre drojdie și formele hifale, expresia adezinelor și invazinelor, formarea biofilmelor, comutarea fenotipică, secreția enzimelor hidrolitice, locul infecției (de exemplu, mucoasă sau sistemică), stadiul de infecție și natura răspunsului imun al gazdei (Pathakumari și colab, 2020).

Forma de drojdie implică circulația sau diseminarea infecției. Formele hifale sunt asociate cu infecțiile invazive și provoacă distrugerea țesutului gazdei. În timpul formării hifelor, are loc reglarea ascendentă a mai multor gene care ajută *Candida* la aderență și invazie în țesutul gazdă. O proteină specifică peretelui hifal joacă un rol semnificativ pentru aderența la celula gazdă, în timp ce enzimele hidrolitice secretate (proteazele aspartice), sunt necesare pentru invazie și provoacă leziuni tisulare (Naglik și colab, 2011; Wächtler și colab, 2011). *C. albicans* folosește strategia de evaziune imunitară care include, protejarea modelelor moleculare asociate patogenilor (PAMP), inhibarea fuziunii fagozom-lizozom, inhibarea opsonizării, degradarea factorilor complementari, secretând catalaza și superoxid dismutaza. Mai mult, permite inhibarea nivelurilor peptidelor antimicrobiene (AMP) prin secretarea pompelor de eflux AMP, modulează echilibrul Th1 și Th2. Sunt indicii că, o toxină secretată de *C. albicans*, candidalizina, poate modifica integritatea membranei macrofagelor (Pathakumari și colab, 2020).

Genul *Aspergillus* are aproximativ 180 de specii și unele dintre ele sunt evidențiate prin importanța lor clinică în cauzarea bolilor umane. Aceste microorganisme sunt agenți patogeni oportuniști și provoacă infecții la un individ grav debilitat. Inhalarea sporilor este cea mai frecventă cale de

transmitere și mai multe rapoarte au descris-o ca agent de infecție secundară la pacienții cu boli debilitante precum carcinom, tuberculoză și leziuni ale țesuturilor subcutanate, ale pielii sau corneei, pacienți neutropenici sau în tratament prelungit cu antibiotice și corticosteroizi (Zmeili & Soubani, 2007). *Aspergillus* poate invada, de asemenea, sistemul uman prin căile respiratorii, pielea grav afectată, traume sau răni chirurgicale, corneea, urechea sau organul afectat semnificativ. De obicei, infecția este procesul inițial, care poate fi localizat sau răspândit, producând îmbolnăvire generalizată cu implicarea mai multor organe (Kousha și colab,2011). Majoritatea speciilor *Aspergillus* produc conidiospori prin reproducere asexuată și apoi aceștia sunt dispersați în mediu. La inhalarea acestor conidii purtate de aer, macrofagele alveolare inițiază răspunsul proinflamator și ulterior recrutează neutrofilele la locul infecției (plămâni) unei gazde imunocompetente. Dar, conidiile evită funcțiile efectoare macrofage și ulterior germinează și pătrund în lumenul vascular prin straturile epiteliale și endoteliale. Similar cu *C. albicans*, speciile *Aspergillus* folosesc mai multe tactici pentru a se sustrage sistemului imunitar, inclusiv mascarea modelelor moleculare asociate patogenilor, inhibarea fuziunii fagozom-lizozom, producerea de antioxidanți precum catalază, SOD, manitol etc. În contrast cu *C. albicans*, *Aspergillus* produce metaboliți secundari specifici precum gliotoxina (GT), fumagilina, care exercită acțiuni imunosupresoare multiple. O altă caracteristică unică a *Aspergillus* este producția de pigment de melanină. Melanina exercită funcțiile multiple în protejarea conidiilor împotriva condițiilor de mediu nefavorabile în afara gazdei și acționează ca un agent de eliminare a reactivilor de oxigen intermediari (ROI) în interiorul celulei gazdă (Pathakumari și colab, 2020).

Criptococoza este o infecție oportunistă cauzată de ciuperci, aparținând genului *Cryptococcus*. Există peste 30 de specii diferite, dar *Cryptococcus neoformans* și *Cryptococcus gattii* sunt responsabili de aproape toate cazurile de criptococoză la oameni și animale. Infecțiile pot apărea atât la gazdele imunocompromise, cât și la cele imunocompetente (Terra și colab,2014). Incidența globală a criptococozei la pacienții infectați cu HIV în fiecare an este de aproximativ 1 milion de cazuri, dintre care au fost raportate 620000 de decese (Park și colab,2009). În general, infecția este cauzată de inhalarea sporilor din mediu. Infecția inițială poate fi în stadiul latent, apoi poate deveni activă și se poate disemina în alte organe, în funcție de statutul sistemului imunitar al gazdei. În funcție de locul infecțiilor, criptococoza este împărțită în criptococoză pulmonară, cerebrală, cutanată și diseminată. Dintre acestea, criptococoza cerebrală este cea mai frecventă infecție invazivă oportunistă la persoanele infectate cu HIV. Frațiunile polizaharidice, cum ar fi glucuronoxilomannanul și glucuronoxilomannogalactanul și melanina din

peretele celular al ciupercii, reduc funcțiile macrofagelor și respectiv a exploziei oxidative. Caracteristica unică a *C. neoformans* este producția de celule titan (uriașe) cu dimensiuni mari (25–30 μ), care reduc activitatea fagocitară a macrofagelor și stresul oxidativ în plămâni ceea ce ajută la persistența și supraviețuirea generală a *C. neoformans*. O altă caracteristică specială a *C. neoformans* este capacitatea de a produce enzima extracelulară numită lacază. Acest lucru ajută la producerea de pigmenți de melanină, prostaglandine și produse de oxidare ale fierului, ceea ce reduce activitatea macrofagelor din plămâni (Pathakumari și colab, 2020).

6. Interacțiunea gazdă – agent patogen fungic

Susceptibilitatea și rezultatul infecțiilor fungice depind de doi factori principali: agentul patogen și gazda. Factorii patogeni pot include doza de ciuperci infectante și virulența acestora. Eficacitatea răspunsului imun și gradul de suprimare imună la pacient sunt principalii factori determinanți ai gazdei. Capacitatea de apărare a gazdei împotriva infecțiilor fungice variază de la mecanismele de protecție oferite de piele, mucoasă și imunitate înnăscută până la răspunsul umoral și imunitatea adaptativă (Mueller-Loebnitz și colab, 2013).

S-a considerat că sistemul imunitar înnăscut, în ciuda lipsei sale de specificitate, are o importanță semnificativă în mecanismul de apărare împotriva ciupercilor. Monocitele, macrofagele, neutrofilele și celulele natural killer (NK) au capacități antifungice, fagocitoză și uciderea dirijată a agenților patogeni. Peretele celular fungic este prima structură întâlnită de celulele gazdă. Peretele celular fungic este alcătuit din diverse polizaharide care au proprietăți de activare imunitară și modulatoare. Aceste tipare moleculare asociate cu agenții patogeni (PAMP), cum ar fi alfa și beta glucani, chitine, manani, β -1,2-oligomannozide și galactomanani, permit recunoașterea acestora de către celulele imune înnăscute, în principal monocite, macrofage, celule dendritice (DC) și celule endoteliale (Ravikumar și colab, 2015).

Răspunsul imun înnăscut este necesar pentru recunoașterea modelelor moleculare asociate cu agenții fungici (PAMP). Detectarea modelelor moleculare asociate fungilor, cum ar fi constituenții peretelui celular și componente intracelulare (ADN) se bazează pe expresia unei varietăți de receptori de recunoaștere a modelelor (PRR) în celulele imune și neimune. Cu alte cuvinte, receptorii de recunoaștere a modelelor, cum ar fi receptorii Toll-like (TLR), componentele complementului, receptorii de lectină de tip C (CLR) și receptorii de manoză (MR) prezenți pe fagocite și celulele dendritice sunt utilizați pentru recunoașterea modelelor moleculare conservate asociate patogenului (Ravikumar și colab, 2015; Banushree & Madhusudhan, 2019).

Receptorii de tip TLR și receptorii CLR, printre care dectina 1 și dectina 2 sunt cei mai bine definiți receptori implicați în recunoașterea fungică (Figueiredo și colab, 2011). Dectina-1 cunoscută și sub numele de receptor β -glucan este cel mai bine caracterizat receptor implicat în imunitatea antifungică. Este o proteină transmembranară de tip II care poate recunoaște β -1,3-glucani în peretele celular al diverselor ciuperci patogene într-un mod independent de Ca^{2+} . Expresia dectinei-1 a fost inițial considerată a fi limitată în primul rând la celulele mieloide, inclusiv celule dendritice, monocite, macrofage și neutrofile, deși celulele B umane și subseturile de celule T exprimă, de asemenea, acest receptor. Mai recent, expresia dectinei-1 a fost descrisă în mastocite umane, keratinocite și celule epiteliale (Salazar & Brown, 2018).

Activarea receptorilor amintiți mai sus, declanșează căi de semnalizare intracelulară, rezultând în producerea de citokine, mediatori de lipide și specii reactive de oxigen / azot. Această activare a sistemului imunitar este esențială pentru uciderea agenților patogeni, dar este, de asemenea, implicată în mod critic în afectarea țesuturilor. Moleculele agenților infecțioși sunt recunoscute de sistemul imunitar înăscut, declanșând un răspuns inflamator care este fundamental pentru controlul inițial al infecției. Acest răspuns timpuriu dictează activarea limfocitelor specifice antigenului, semnul distinctiv al răspunsului imun adaptativ. Fiecare microorganism este compus dintr-un set particular de molecule și modalități de a interacționa cu gazda. De asemenea, sistemul imunitar înăscut recunoaște moleculele din celulele și țesuturile gazdă deteriorate, promovând răspunsuri imune / inflamatorii unice (Figueiredo și colab, 2011).

În urma infecției fungice, răspunsul imun al gazdei se face prin diferite modificări ale TLR, în funcție de calea infecției, genul și speciile de ciuperci, precum și morfotipul acestora, adică drojdie sau forme hifale (Banushree & Madhusudhan, 2019). Răspunsurile celulare dependente de TLR conduc la producerea de interferoni de tip I (IFN) și citokinele proinflamatorii TNF- α și IL-12 și promovarea imunității adaptative prin activarea celulelor T (Juvvadi și colab, 2017). Explozia respiratorie și activitățile de degranulare ale neutrofilelor sunt influențate de TLR. Specificitatea și cantitatea produselor toxice eliberate de neutrofile determină activitatea fungicidă care duce la citotoxicitate inflamatorie (Banushree & Madhusudhan, 2019).

Apărarea eficientă a gazdei împotriva infecțiilor fungice este dependentă de interacțiunile locale dintre celulele dendritice și limfocitele T CD4. Astfel, sistemul imunitar adaptativ implică stimularea celulelor T de către celulele prezentatoare de antigen. Celula prezentatoare de antigen poate produce răspunsuri ale celulelor T helper (Th)1, Th2, celulelor T reglatoare sau a celor Th17. Răspunsurile celulelor Th1 generează interferon gama (IFN-

gama), care poate controla diseminarea multor infecții fungice. Totodată, răspunsul celulelor Th2 produce interleukine (IL-4 și IL-5), favorizând persistența infecțiilor fungice. Celulele T reglatoare (celulele Treg) inhibă activitatea Th1 și Th2, dar promovează răspunsurile celulelor Th17. (Banushree & Madhusudhan, 2019).

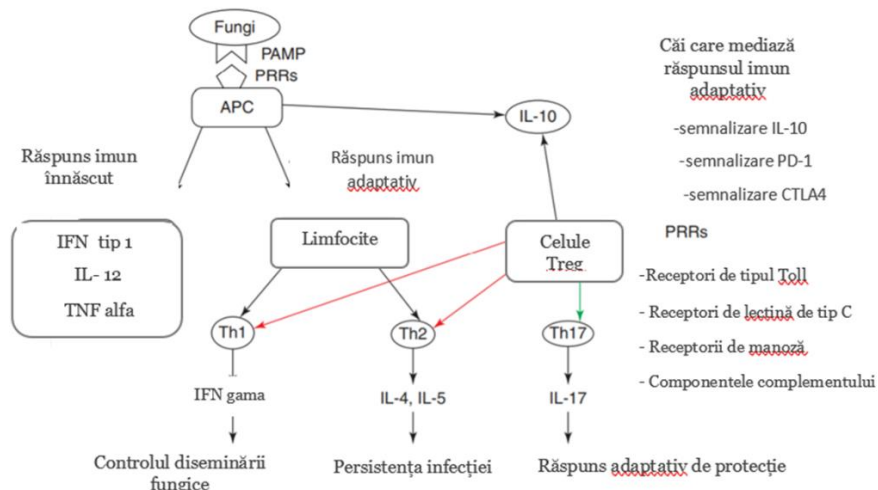


FIG. 1. Interacțiunea gazdă – agent patogen fungic (modificat după Banushree & Madhusudhan, 2019)

Există diverse semnale imunoreglatoare - căi și puncte de control care influențează rezultatul infecției fungice. Semnalizarea interleukinei-10 (IL-10), calea de semnalizare a proteinei de moarte celulară programată-1 (PD-1) și calea de semnalizare a proteinei asociate limfocitelor T citotoxice 4 (CTLA- 4) sunt cele trei căi importante care modulează răspunsul imunitar adaptativ (Banushree & Madhusudhan, 2019). Interacțiunea gazdă – agent patogen fungic este schematizată în FIG. 1.

7. Imunitatea înăscută

Imunitatea înăscută este răspunsul imun primar și nespecific la agenți patogeni, cum ar fi bacteriile, virusurile, ciupercile etc. Pielea și mucoasele produc la suprafață substanțe antimicrobiene. Dacă agenții patogeni traversează aceste bariere fizice, vor întâlni diferitele componente / mecanisme imunitare înăscute (Pathakumari și colab,2020).

Neutrofilele sunt celule polimorfonucleare, granulocitare, fagocitare care au fost bine caracterizate ca urmare a importanței lor în imunitatea antimicrobiană (Drummond și colab,2015). Acestea sunt cele mai importante celule efectoare imune înăscute pentru controlul multor infecții fungice.

Neutrofilele sunt cele mai abundente leucocite care sunt esențiale pentru inițierea unui răspuns inflamator în infecțiile fungice. Importanța lor a fost demonstrată inițial la oamenii care sufereau de neutropenie, care au prezentat o creștere dramatică a susceptibilității la agenții patogeni fungici majori, inclusiv *C. albicans* și *A. fumigatus*. Mai mult, mutațiile asociate cu diferite aspecte ale recrutării neutrofilelor și ale activității antimicrobiene, inclusiv CXCR1, NADPH oxidaza și mieloperoxidaza, sunt puternic asociate cu un risc crescut de infecții fungice sistemice la om. Granulocitele menționate folosesc mecanisme de distrugere oxidative și neoxidative împotriva agenților patogeni fungici (Salazar & Brown, 2018). Mecanismul clasic de ucidere a agentului patogen de către neutrofile este prin producerea de specii reactive de oxigen (ROS), mediată de enzimele NADPH oxidază și mieloperoxidază. Mecanismele neoxidative includ eliberarea de granule care conțin proteine cu proprietăți antimicrobiene și degradative, inclusiv defensine, lizozim, lactoferină, gelatinaze, elastază și catepsină-G. Alte metode de distrugere a patogenului includ formarea de capcane extracelulare neutrofile (NET), rețele externe formate din ADN, histone și proteine antimicrobiene (Drummond și colab, 2015; Salazar & Brown, 2018; Pathakumari și colab, 2020).

IL-17 este un mediator puternic al recrutării neutrofilelor și, pe lângă limfocite, neutrofilele au fost, de asemenea, propuse a fi o sursă de IL-17, care acționează într-o manieră autocrină pentru a induce recrutarea suplimentară a neutrofilelor la locul infecției. Cu toate acestea, măsura în care IL-17 poate controla funcția neutrofilelor este neclară, deoarece unele studii *in vivo* au sugerat că absența IL-17 nu are ca rezultat o disfuncție completă a neutrofilelor, iar recrutarea lor nu depinde în totalitate de IL-17. Acest lucru sugerează că semnalele suplimentare independente de IL-17 pot contribui la recrutarea neutrofilelor. De exemplu, factorul de stimulare a coloniilor de granulocite-macrofage (GM-CSF), derivat din celule Natural Killer (NK) s-a dovedit a fi esențial pentru activitatea fungicidă a neutrofilelor. Producția de GM-CSF de către celulele NK și activarea ulterioară a neutrofilelor a fost coordonată de celulele dendritice (DC) prin producția de IL-23. În plus, s-a demonstrat că producția de IL-15 de către monocite conduce la activarea eficientă și eliberarea GM-CSF din celulele NK, ceea ce a fost necesar pentru a crește potențialul de ucidere al neutrofilelor împotriva *Candida* (Salazar & Brown, 2018).

Lipsa unui număr suficient de neutrofile (sau neutropenia) este un factor de risc recunoscut pe scară largă pentru dezvoltarea candidozei invazive și a aspergilozei. În cazul criptococozei, deficiența de neutrofile nu este un factor major de predispoziție. Cu alte cuvinte, în criptococoză, neutrofilele se referă mai mult la activitatea imunoregulatorie decât la activitatea antimicrobiană. În

timp ce formele de drojdie sunt activ fagocitate, NET-urile par a fi critice pentru uciderea și reținerea formelor hifale patogene mai mari (Drummond și colab, 2015). În ciuda rolului lor crucial, activarea și/sau recrutarea excesivă de neutrofile poate fi, de asemenea, dăunătoare. De exemplu, recrutarea crescută de neutrofile în rinichi, amplifică imunopatologia renală tardivă și crește mortalitatea într-un model de candidoză invazivă. Acest lucru demonstrează că inflamația în exces poate fi dăunătoare gazdei, provocând leziuni tisulare și contribuind la patogeneza bolii (Salazar & Brown, 2018).

Alte granulocite, cum ar fi mastocite, bazofile și eozinofile, sunt implicate în bolile fungice alergice. De exemplu, datorită locației lor strategice în plămân, mastocitele pot interacționa cu ușurință cu ciupercile invadatoare, inclusiv *A. fumigatus*, care le induce degranularea, secreția de proteine granulare și citokine și uciderea fungilor. Cu toate acestea, sunt necesare mai multe studii pentru a descifra pe deplin modul în care aceste tipuri de celule interacționează cu ciupercile și rolul lor în imunitatea antifungică în afara plămânilor (Salazar & Brown, 2018).

Monocitele sunt celule din sânge care se diferențiază în macrofage în țesuturi, în urma unui semnal inflamator. Odată ajunse în țesuturi, macrofagele se dezvoltă în continuare într-un fenotip funcțional distinct, care este determinat de mediul citokinelor (Drummond și colab, 2015). Monocitele pot dirija și facilita imunitatea antifungică înăscută și adaptativă prin reglarea răspunsurilor neutrofilelor, celulelor NK și celulelor T în timpul infecției. În modelele experimentale, epuizarea monocitelor inflamatorii, precum și deficiența receptorului de chemokine CCR2, care este esențial pentru recrutarea monocitelor în țesuturi, s-a dovedit a crește susceptibilitatea la candidoza diseminată și aspergiloza invazivă. În plus, monocitopenia la om a fost, de asemenea, sugerată a fi un factor de risc pentru dezvoltarea infecțiilor fungice, cum ar fi histoplasmoza și infecțiile invazive cu mușcăi. Pe de altă parte, recrutarea și activarea excesivă a monocitelor poate duce, de asemenea, la acumularea excesivă de neutrofile și imunopatologie renală letală la șoarecii cu candidoză sistemică. Acest lucru sugerează că, recrutarea și activarea monocitelor în țesuturi trebuie să fie strâns reglate în timpul infecției fungice (Salazar & Brown, 2018).

Macrofagele sunt unele dintre celulele majore prezentatoare de antigen (APC) și au un rol important în legarea răspunsului imun înăscut și adaptativ. Importanța acestor celule în imunitatea antifungică a fost demonstrată pentru prima dată cu peste 20 de ani în urmă, epuizarea *in vivo* a macrofagelor a crescut susceptibilitatea la candidoza diseminată. Macrofagul înghite agenții patogeni fungici și inițiază lanțul de evenimente, adică fuziunea fagozom-lizozom, generarea de componente antimicrobiene, cum ar fi intermediarii

reactivi de oxigen (ROI) și intermediarii reactivi de azot (RNI). Alte macrofage rezidente în țesut acționează ca celule efectoare cruciale prin producerea de citokine și chemokine, care recrutează și activează alte celule imune la locul infecției. Evenimentele inițiale determinate de macrofage ajută la eliminarea agenților patogeni și la limitarea răspândirii acestora. La activare, macrofagele vor suferi polarizare și se diferențiază în M1 (macrofage activate clasice) și M2 (macrofage activate alternative). Macrofagele M1 prezintă componente microbicide și proinflamatorii, în timp ce macrofagele M2 sunt implicate în persistența ciupercilor în interiorul macrofagelor și provoacă răspuns antiinflamator. Comutarea macrofagelor între fenotipurile M1/M2 s-a dovedit, de asemenea, a fi crucială în protecția împotriva diversilor agenți patogeni fungici, inclusiv *C. albicans*, *C. neoformans*, *H. capsulatum* (Salazar & Brown, 2018; Pathakumari și colab, 2020).

Celulele dendritice (DC) sunt celule prezentatoare de antigen profesionale care joacă un rol central în inițierea răspunsului imun primar. Deși celulele DC sunt mai puțin eficiente în uciderea agenților patogeni, ele sunt importante pentru procesarea antigenului și prezentarea la celulele T. Astfel, aceste celule acționează ca o punte între răspunsul imun înnăscut și cel adaptiv. După recunoașterea fungică, celulele DC vor procesa antigenele și le vor prezenta celulelor T naive din ganglionii limfatici și, ulterior, direcționează linia de angajare a celulelor T către subseturile T-helper (Th), inclusiv celulele Th1, Th2 și Th17. Aceste subseturi de celule Th joacă un rol major în răspunsurile imune protectoare împotriva infecțiilor fungice. DC au capacitatea de a discrimina atât formele de drojdie, cât și formele hifale ale *C. albicans* și de a induce un răspuns diferit al celulelor Th (Pathakumari et al., 2020).

La om, au fost identificate două subseturi majore distincte de DC, DC mieloide și DC plasmacitoide. Interesant, celulele dendritice plasmacitoide umane inhibă creșterea hifală a *A. fumigatus* și produce, de asemenea, interferon α (IFN- α) și factor de necroză tumorală (TNF- α). Epuizarea DC plasmacitoide la șoarecii infectați cu *A. fumigatus* reduce semnificativ rata de supraviețuire. Cu toate acestea, rolul exact al acestor subseturi nu este clar, putând fi un factor care contribuie la susceptibilitatea crescută a infecțiilor fungice. Deoarece DC se pot implica atât în fenotipurile celulelor T protectoare, cât și în cele patologice, o mai bună caracterizare a acestora din sângele și țesuturile umane va fi benefică pentru dezvoltarea vaccinurilor antifungice sau a strategiilor de imunoterapie (Pathakumari și colab, 2020). Capacitatea DC de a modela tipul de răspunsuri ale celulelor T efectoare depinde de mai mulți factori, inclusiv natura organismelor fungice, locul infecției și susceptibilitatea gazdei. De exemplu, subseturile de DC rezidente pe piele promovează răspunsuri T-helper specifice antigenului distincte și opuse. Morfologia fungică

poate determina, de asemenea, diferențierea celulelor T-helper (Salazar & Brown, 2018).

Alte celule implicate în răspunsul imun innăscut sunt celulele natural killer (NK). Funcția efectoră cea mai bine caracterizată a celulelor NK este citotoxicitatea care este însoțită de prezența perforinei. Ele produc citokine proinflamatorii, în special IFN- γ și alți factori solubili care reglează funcțiile altor celule imunitare. În general, celulele NK nu sunt celule fagocitare, dar experimente recente *in vitro* au demonstrat că pot fagocita *C. albicans*. Interesant este că unele ciuperci contracarează natura antifungică a celulelor NK. Se lucrează în prezent la modularea / stimularea răspunsului imun al gazdei prin transferul adoptiv al celulelor NK. În această linie, transferul adoptiv de celule NK la șoarecii cu criptococoză, crește eliminarea fungilor, în comparație cu șoarecii de control care au celule NK epuizate. Prin urmare, transferul adoptiv al celulelor NK la pacienții imunodeprimați ar putea fi un mare beneficiu (Pathakumari și colab,2020).

8.Imunitatea adaptativă

Spre deosebire de răspunsul imun innăscut, cel dobândit este foarte specific agenților patogeni sau antigenelor și execută mai multe funcții efectoră prin activarea diferitelor componente ale sistemului imunitar. În linii mari, există două răspunsuri imune adaptative clasice: răspuns mediat de celule care include activarea celulelor T și mecanisme efectoră și răspunsuri imune umorale constând în maturarea celulelor B și producerea de anticorpi (Pathakumari și colab,2020)

Răspunsul imun celular

Limfocitele T sunt celulele fundamentale în imunitatea mediată de celule și controlează proliferarea fungică în mod direct sau indirect. Răspunsul imun celular este indispensabil pentru protecția împotriva infecțiilor fungice și pentru dezvoltarea de vaccinuri emergente care se concentrează pe inducerea imunității celulare puternice și durabile. Sistemul imunitar celular este clasificat pe scară largă ca celule CD4 helper și celule T CD8 citotoxice. Deși imunitatea innăscută joacă un rol major în inițierea răspunsului antifungic, interacțiunea dintre gazdă și ciupercă este un eveniment important pentru declanșarea răspunsului imun adaptativ. După recunoaștere, proteinele fungice sunt procesate în peptide antigenice mici și asamblate cu MHC (complex major de histocompatibilitate)-I (proteine endogene) și II (proteine exogene) și ulterior transportate la suprafața celulelor dendritice activate. Apoi, celulele dendritice vor migra către organele limfoide secundare, cum ar fi ganglionii limfatici drenați, unde celulele T naive vor fi activate prin prezentarea peptidelor procesate. Receptorii celulelor T (TCR) se leagă în mod specific la modelele

antigenice enorme, care sunt dobândite prin variații ale secvențelor de aminoacizi. Activarea sau calitatea diferitelor celule T poate depinde de specificitatea peptidei / antigenului procesat. Cel mai frecvent, peptidele asociate cu MHC-I se vor prezenta celulelor T CD8, în timp ce peptidele asociate MHC-II se vor prezenta celulelor T CD4. Cu toate acestea, celulele T CD8 se vor activa și prin prezentarea peptidelor asociate MHC-II, acest fenomen este numit prezentare încrucișată (Verma și colab,2015; Pathakumari și colab,2020)

Celulele T CD4 sunt organizatorii centrali ai răspunsurilor imune adaptative împotriva ciupercilor. Aceste celule cresc recrutarea fagocitelor (macrofage, neutrofile) la locul infecției. Amorsarea celulelor T CD4 are loc la interacțiunea între TCR și antigenul său înrudit pe celulele dendritice. Celulele T activate secretă citokinele proinflamatorii, care la rândul lor conduc celulele T naive să se diferențieze în subseturi CD4 T helper (Th). Există multe subseturi de celule Th, iar fiecare subset produce un set unic de citokine. Dezvoltarea fiecărui subset Th depinde de citokine și micromediu în timpul interacțiunii celulelor T naive și celulelor dendritice. Diferențierea unui subset specific Th conduce inhibarea căilor de diferențiere a altor subseturi Th și aceasta se numește polarizare. Citokina IL-12 diferențiază celulele T naive de fenotipul Th1, în timp ce IL-4 este asociată cu diferențierea Th2. La diferențierea celulelor T CD4 în subseturi Th efectori, acestea vor migra la locul infecției pentru a îndeplini funcțiile efectoare (Pathakumari și colab,2020).

Răspunsul imun al celulelor Th1 este esențial în apărarea gazdei împotriva majorității agenților patogeni fungici. După expunere, APC-urile produc IL-12, care este esențială pentru angajamentul descendenței Th1. Mutația genetică în calea de semnalizare a IL-12 este asociată cu predispoziția la o mare varietate de boli fungice, cum ar fi criptococoza, candidoza. Mai mult, s-a observat o susceptibilitate crescută la histoplasmoză la șoarecii lipsiți de IFN- γ În schimb, pacienții care primesc imunoterapie adjuvantă cu IFN- γ prezintă protecție sporită împotriva aspergilozei și criptococozei (Verma și colab,2015).

Celulele Th1 coordonează răspunsurile imune antifungice prin eliberarea de citokine proinflamatorii IFN- γ , TNF- α și GM-CSF. Citokina Th1, IFN- γ , manifestă efecte pleotrope asupra celulelor imune în timpul infecției. Induce activarea clasică a macrofagelor, care este critică pentru oprirea creșterii agenților patogeni fungici intracelulari (Verma et al., 2015). De asemenea, a fost demonstrat că pacienții cu candidoză sistemică au prezentat un răspuns imunologic îmbunătățit după tratarea cu terapie recombinată cu IFN- γ (Pathakumari et al., 2020).

TNF- α împărtășește mai multe funcții redundante cu IFN- γ , inclusiv activarea clasică a macrofagelor. Animalele cu deficit de TNF- α sunt foarte vulnerabile la o serie de infecții fungice. Efectele protectoare ale acestei citokine în timpul bolilor fungice au fost, de asemenea, coroborate la om. Prezența TNF- α este corelată rezistență crescută la aspergiloză. În schimb, pacienții cărora li s-a administrat blocați TNF- α pentru a trata bolile inflamatorii suferă de o multitudine de infecții fungice. Importanța GM-CSF în bolile fungice a fost elucidată în modelul murin de histoplasmoză pulmonară. Administrarea de anticorp anti-GM-CSF a redus imunitatea protectoare la *H. capsulatum*. Un raport recent a indicat că GM-CSF facilitează răspunsurile sale antifungice prin sechestrarea zincului din drojdiile intracelulare și stimularea speciilor reactive de oxigen în macrofage (Verma și colab, 2015). Citokinele secretate de celulele Th1 activează, de asemenea, celulele B, ducând la secreția de anticorpi specifici antigenului împotriva ciupercilor. Aceste date demonstrează în mod clar importanța răspunsului Th1 în rolul protector împotriva infecției fungice invazive (Pathakumari și colab, 2020).

Rolul răspunsului imun al celulelor Th2 este mai mult asociat cu sarcina fungică crescută și cu exacerbarea bolii (Pathakumari și colab, 2020). S-a raportat că supraexprimarea GATA-3, un factor de transcripție al celulelor Th2, crește susceptibilitatea la infecția sistemică cu *Candida*, prin reducerea nivelurilor de IFN- γ . Aceste celule Th2 produc în principal citokine antiinflamatorii, cum ar fi IL-4, IL-5, IL-10, TGF- β și IL-13 (Verma și colab, 2015; Pathakumari și colab, 2020). Sinteza exagerată a acestor factori solubili în majoritatea bolilor micotice interferează cu eliminarea agenților patogeni. Mecanismele prin care citokinele Th2 atenuază imunitatea gazdei sunt multifactoriale. Atât IL-4, cât și IL-13 conduc la activarea alternativă a macrofagelor care este asociată cu creșterea necontrolată a fungilor. Aceste fagocite activate alternativ prezintă niveluri amplificate de arginază-1, o enzimă care poate reduce cantitatea de oxid nitric necesară pentru activitatea fungicidă. În plus, IL-4 modulează accesul fungic la micronutrienți specifici din macrofage. În contrast puternic cu aceste constatări, răspunsurile Th2 oferă protecție gazdei în pneumocistoză (Verma și colab, 2015). Anticorpii dependenți de Th2 pot oferi o oarecare protecție, prin promovarea imunității Th1. Prin urmare, calitatea sau rezultatul infecției depinde de echilibrul dintre subseturile Th1 și Th2 (Pathakumari și colab, 2020).

Celulele Th17 sunt un subset de celule T CD4 + care sunt distincte din punct de vedere al dezvoltării de celulele Th1 și Th2 și sunt identificate prin expresia citokinelor IL-17A, IL-17F și IL-22. Diferențierea acestei linii de celule T necesită diferite citokine și factori de transcripție. TGF- β și IL-6 sunt utile la diferențierea inițială a celulelor T CD4 + naive la celulele Th17, iar IL-23 este

critică pentru menținerea și extinderea acestor celule. Au fost descrise două mecanisme prin care celulele Th17 manifestă răspunsuri antifungice. În modelele de infecție sistemică, aceste celule recrutează neutrofilele determinând eliberarea de chemokine. Neutrofilele, la rândul lor, prezintă o activitate anticandidică puternică și elimină agentul patogen. În modelele de infecție ale mucoasei, IL-17 determină keratinocitele și celulele epiteliale să elibereze peptide antimicrobiene (AMP). Pentru a depăși efectele antifungice ale căii IL-17, agenții patogeni au evoluat pentru a submina activitatea acestei citokine. Mai mult, IL-17 provoacă modificări morfologice în *C. albicans* și *A. fumigatus*. Această citokină se leagă direct de suprafața exterioară a acestor doi agenți patogeni și induce modificări transcripționale care sunt asociate cu creșterea hifelor și rezistența sporită la apărarea antifungică a gazdei (Verma și colab, 2015).

Celulele T reglatoare (Treg) acționează ca o interfață între răspunsul imun al gazdei și interacțiunile cu patogeni. Treg inhibă deteriorarea țesutului gazdă prin reglarea inflamației, dar permit persistența fungică și, ulterior, provoacă suprimarea sistemului imunitar al gazdei. Treg pot exista în condiții naturale (nTreg) sau pot fi induse în infecție (iTreg). nTreg reglează activitatea neutrofilelor în stadiul incipient al infecției, în timp ce iTreg-urile suprimă imunitatea mediată de Th2 în stadiile ulterioare în aspergiloză. Rapoartele sugerează că Treg-urile preexistente au un rol benefic în stadiul incipient al infecției cronice cu candidoză mucocutanată prin activarea celulelor Th17 și urmată de secreția de citokine proinflamatorii, cu toate acestea, exercită efect supresor în timpul fazei târzii a infecției (Pathakumari și colab, 2020). Pe lângă funcțiile imunosupresoare, o componentă remarcabilă a biologiei celulelor Treg este capacitatea lor de a promova diferențierea celulelor Th17 și de a contribui la apărarea gazdei împotriva *C. albicans*. Celulele Treg manifestă un astfel de efect prin sechestrarea IL-2, o citokină care inhibă diferențierea celulelor Th17. În consecință, răspunsul robust Th17 a generat ajutoare în rezolvarea candidozei orale. În mod intrigant, oamenii cu un defect genetic în gena celulelor Treg sunt, de asemenea, predispuși la candidoza mucocutanată cronică. Astfel, celulele Treg reprezintă o sabie cu două tăișuri; sunt cruciale pentru atenuarea răspunsurilor inflamatorii, dar funcțiile lor supresive pot fi nedorite în anumite situații de micoze (Verma și colab, 2015).

Celulele T CD8 + sunt vitale pentru protecția împotriva agenților patogeni virali și a tumorilor; cu toate acestea, contribuția lor relativă la imunitatea gazdei împotriva infecțiilor fungice nu este la fel de înțeleasă ca celulele T CD4 + (Verma și colab, 2015). Celulele T CD8 controlează infecția fungică prin medierea unor funcții efectoare specifice, cum ar fi activarea celulelor imune înnăscute, liza celulelor gazdă infectate și uciderea directă a

ciupercilor patogene. Depleția celulelor T CD8 murine a redus rata de supraviețuire în modelul de infecție criptococică și, de asemenea, limitează creșterea *C. neoformans* în macrofage prin secretarea IFN- γ . Celulele prezentatoare de antigen prezintă încrucișat antigenele exogene fungice la celulele T CD8 și acestea se diferențiază în subtipurile Tc1, Tc2, Tc3. Aceste subtipuri prezintă funcțiile efectoare directe, cum ar fi secreția de granule care conțin molecule citotoxice perforină, granzime și granulizină. Celulele Tc2 CD8 secretă niveluri ridicate de IL-4 și IL-10 și provoacă supresie imună. Celulele Tc3 CD8 prezintă caracteristici fenotipice ale celulelor Th17. Ele secretă citokine IL-17, care la rândul lor activează eliberarea de peptide antimicrobiene, defensine din celulele epiteliale. Recent s-a raportat că subtipul Tc3 se diferențiază în celule Tc17 de memorie și stabilește imunitatea antifungică pe termen lung. Deoarece pacienții infectați cu HIV sunt mai predispuși la infecții fungice oportuniste, celulele T CD8 joacă un rol major în controlul infecțiilor fungice în absența sau numărul scăzut de CD4. Pe baza acestora, celulele T CD8 sunt obligatorii pentru apărare împotriva agenților patogeni extracelulari și intracelulari (Pathakumari și colab, 2020).

Răspunsul imun umoral

Anticorpii sunt moleculele efectoare ale răspunsului imun adaptativ și limitează sarcina fungică. Aceștia controlează agenții infecțioși prin prevenirea pătrunderii fungilor și inhibarea replicării acestora, modularea imunității, suprimarea eliberării polizaharidelor și a formării tubului germinativ, neutralizarea toxinelor de la agenți patogeni și inhibarea formării de biofilme. Mecanismul de control al infecțiilor fungice depinde de tipul speciei fungice și de specificul epitopilor. Stimulează citotoxicitatea celulară dependentă de anticorpi (ADCC) care duce la opsonizare care, la rândul său, activează cascada complementului și provoacă în final fagocitoză. Alți anticorpi împotriva antigenelor fungice mediază efectul antifungic direct. De exemplu, anticorpii monoclonali (mAb) la manoproteina de *C. albicans* inhibă aderența, germinația și prezintă activitate candidacidă directă prin inaniția de fier mediată de anticorpi. Anticorpii împotriva β -glucanilor peretelui celular mediază activitatea antifungică directă prin inhibarea creșterii *C. albicans* și *C. neoformans*. Deoarece celulele B sunt și celule prezentatoare de antigen, reglează activarea și diferențierea celulelor T față de anumiți microbi intracelulari. Majoritatea anticorpilor interacționează în primul rând cu agenții patogeni extracelulari pentru a controla infecția, dar interacționează și cu agenții patogeni intracelulari (Pathakumari și colab, 2020).

Rolul protector al anticorpilor în infecțiile fungice a fost dovedit de prezența anticorpilor antifungici la pacienții cu infecții fungice progresive. Este bine cunoscut faptul că câțiva anticorpi antifungici împotriva derivaților fungici

specifici, cum ar fi glicoproteinele, glicolipidele, peptidele, polizaharidele, oferă protecție gazdei. Deoarece majoritatea acestor componente sunt prezente în peretele celular al ciupercilor, anticorpii vizează formarea peretelui celular, dinamica și remodelarea acestuia. Se crede că răspunsul imun celular joacă un rol semnificativ în protecție, iar imunitatea umorală acționează ca un rol de susținere a imunității celulare (Pathakumari și colab,2020).

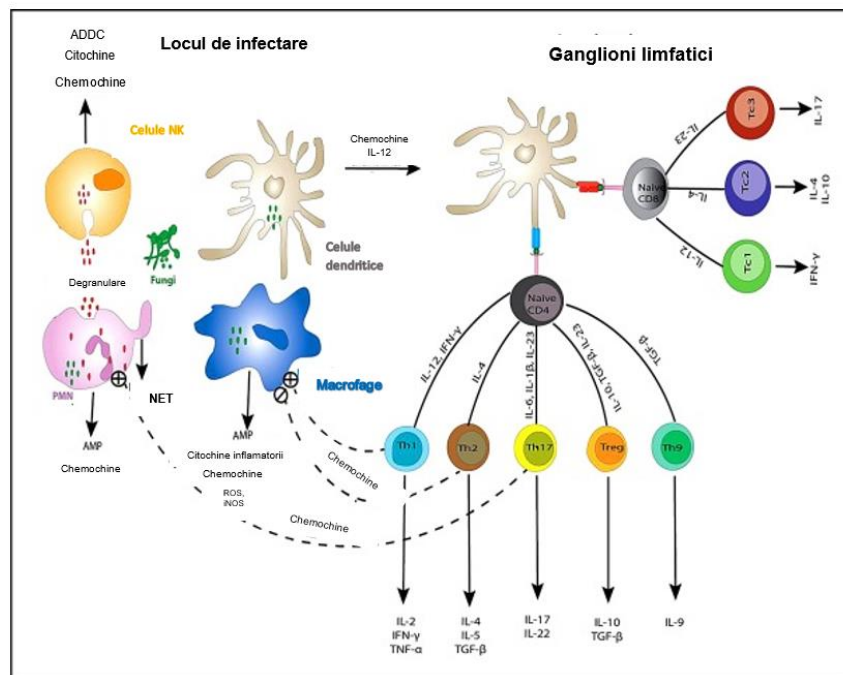


FIG. 2. Răspunsul imun la patogenii fungici (modificat după Pathakumari și colab,2020)

Mecanismele prin care anticorpii mediază protecția la gazdă sunt clasificate în linii mari în mecanisme directe și indirecte. Mecanismele directe sunt cele care au ca rezultat inhibarea creșterii sau a activității microbicide atunci când imunoglobulinele se leagă de agentul patogen. Activitatea fungicidă a anumitor anticorpi monoclonali este bine ilustrată împotriva *C. albicans*, *C. neoformans* și *A. fumigatus*. În plus, legarea anticorpilor de suprafața exterioară a ciupercilor determină modificarea expresiei genelor și a metabolismului fungic, care în cele din urmă suprimă virulența agentului patogen (Verma și colab,2015).

Mecanismele indirecte cuprind rezoluția mediată de imunoglobuline a infecției prin creșterea potențialului microbicid al celulelor efectoare. Oponizarea, activarea căii complementului și toxicitatea celulară dirijată de

anticorpi (ADCC) sunt asociate cu efectele indirecte ale anticorpilor în timpul infecției și formează componente integrale ale apărării gazdei împotriva agenților patogeni fungici, cum ar fi *C. albicans*, *C. neoformans* și *H. capsulatum*. ADCC induce liza celulelor decorate cu anticorpi, în timp ce primele două acțiuni declanșează mecanisme de apărare înnăscute, inclusiv fagocitoza. În criptococoză murină, administrarea unui anticorp monoclonal anticapsular IgG1 este asociată cu producția crescută de IL-10 în plămâni și niveluri scăzute de IFN- γ (Verma și colab, 2015). Mecanismele imunitare implicate în micoze sunt prezentate în FIG 2.

9.Strategii de creștere a imunității

Există numeroase strategii de creștere a imunității, printre acestea numărându-se terapia cu citokine, terapia cu celule NK, transfer adoptiv de celule T, precum și vaccinarea.

Terapia cu citokine. Utilizarea citokinelor recombinante, cum ar fi factorul de stimulare a coloniilor de macrofage-granulocite umane (GM-CSF), factorul de stimulare a coloniilor de granulocite (G-CSF), factorul de stimulare a coloniilor de macrofage (M-CSF) și interferon-gamma (IFN γ), au fost explorate ca agenți de îmbunătățire a sistemului imunitar. GM-CSF, G-CSF și M-CSF aparțin familiei de citokine hematopoietice. Ele stimulează proliferarea celulelor progenitoare de granulocite și/sau macrofage, induc diferențierea și maturarea și stimulează activitatea funcțională a celulelor hematopoietice mature (Pikman & Ben-Ami, 2012). S-a demonstrat că GM-CSF singur sau în combinație cu IFN- γ îmbunătățește activitatea fungicidă a celulelor fagocitare înnăscute in vitro și in vivo. S-a demonstrat că GM-CSF îmbunătățește în mod preferențial atât numărul, cât și activitatea DC-urilor. M-CSF uman a sporit activitatea celulelor fagocitare și supraviețuirea prelungită singur sau în combinație cu amfotericina B la șoarecii imunodeprimați cu infecție sistemică cu *Candida*. În mod similar, M-CSF când a fost adăugat la tratamentul antifungic standard a 46 de primitori cu transplant de celule stem cu infecții fungice progresive a arătat rate de supraviețuire globale mai bune (Ravikumar și colab, 2015).

G-CSF este utilizat pe scară largă în practica clinică în timpul neutropeniei induse de chimioterapie. În timp ce G-CSF reduce în mod clar zilele neutropenice și spitalizările legate de neutropenie, eficacitatea sa în rezultatele clinice, inclusiv ratele de infecție și mortalitate, rămân mai puțin clare. Într-o analiză a 925 de cazuri de mucormicoză, 15 din 18 pacienți au prezentat un răspuns clinic favorabil atunci când au primit terapie adjuvantă cu G-CSF. Recent, a fost efectuată o evaluare retrospectivă a 66 de pacienți cu cancer cu risc ridicat și primitorilor de transplant de celule stem cărora li s-a

administrat GM-CSF în timpul terapiei antifungice. Un răspuns complet sau parțial a apărut la mai mult de jumătate dintre pacienții tratați cu GM-CSF, în ciuda tratamentului recent cu terapie antineoplazică și a prezenței altor predicatori ai rezultatelor slabe (Ravikumar și colab,2015).

IFN γ , produs de celulele T și NK, crește capacitatea citotoxică a celulelor prezentatoare de antigen și uciderea intracelulară. Într-o serie de cazuri prospective recente, opt pacienți cu infecții invazive cu *Candida* și/sau *Aspergillus* au fost tratați cu IFN- γ recombinant timp de 2 săptămâni în plus față de terapia antifungică standard. Tratamentul cu IFN- γ recombinant la pacienții cu infecții invazive cu acești agenți patogeni a restabilit parțial funcția imună, caracterizată printr-o producție îmbunătățită de citokine proinflamatorii implicate în apărarea antifungică. IFN γ este, de asemenea, utilizat în tratamentul aspergilozei recalcitrante (Ravikumar et al., 2015).

Studiile preclinice au evaluat alte citokine proinflamatorii care reglează ascendent răspunsul antifungic Th1, cum ar fi IL12, IL15 și TNF α ca adjuvanți candidați. IL12 este necesară pentru diferențierea indusă de *Candida* a celulelor Th1 in vivo și pentru activitatea antifungică a monocitelor împotriva formelor hifale de *A. fumigatus* in vitro. Utilitatea IL12 ca amplificator imun este controversată. Infecțiile invazive cu mușcăi au fost raportate la doi primitori de transplant de celule stem autologe tratați cu IL12, ridicând îngrijorarea că IL12 poate provoca, în mod paradoxal, o criză imunitară la agenții patogeni fungici. IL15 este, de asemenea, un potențial nou medicament. Această citokină, împărtășește activități biologice cu IL2, în creșterea activității granulocitelor antifungice în culturile celulare (Ravikumar și colab,2015).

Terapie cu celule natural killer. În anii din urmă se investighează rolul celulelor NK în imunitatea antifungică. S-a descoperit că celulele NK amorsate de IL2 sunt citotoxice *A. fumigatus*, un efect care nu este mediat prin degranularea proteinelor sale citotoxice precum perforina, granzimele etc., ci mediat de secreția de IFN γ și TNF α (Bouzani și colab,2011; Schmidt și colab,2011). Celulele NK s-au dovedit a fi cea mai importantă sursă de IFN- γ în plămâni gazdelor neutropenice în timpul stadiilor incipiente ale aspergilozei invazive (Ravikumar și colab,2015).

Transfer adoptiv de celule T. Funcționarea defectuoasă a celulelor T este un obstacol în calea unui răspuns imun robust la vaccinuri și tratament antimicrobian. Conceptual, această problemă ar putea fi depășită prin vaccinare independentă de celule T. Una dintre strategiile de reducere a riscului de aspergiloză invazivă este inducerea răspunsului imun de tip Th1, care poate fi obținut, fie prin transferul clonelor Th specifice pentru *Aspergillus*, fie prin DC care au fost pregătite pentru a declanșa imunitatea specifică *Aspergillus*. S-a demonstrat că transferul adoptiv de celule T scade

semnificativ nivelurile de galactomanani cu rate de supraviețuire mai mari în comparație cu pacienții care nu au primit imunoterapie (Ravikumar și colab,2015).

Proteinele specifice peretelui celular al *Candida* exprimate în timpul infecției invazive au fost sintetizate ca epitop peptidic imunogen – conjugat β -manan. DC pulsate cu trei dintre acești epitopi au conferit protecție împotriva candidozei diseminate la șoareci. Au fost studiate diferite formulări de vaccin care utilizează DC pentru a induce imunitatea adoptivă la *Aspergillus*. Ulterior, s-a demonstrat că DC transfectate cu ADN IL-12 și pulsate cu *A. fumigatus* inactivat la căldură au indus imunitate protectoare împotriva aspergilozei pulmonare invazive, așa cum se reflectă prin scăderea sarcinii fungice și supraviețuirea crescută (Ravikumar și colab, 2015).

Anticorpi. Era terapiei pe bază de anticorpi pentru infecțiile fungice invazive a început odată cu descoperirea anticorpilor monoclonali de protecție (mAb) împotriva polizaharidei capsulare a *Cryptococcus neoformans*. Ulterior, anticorpii de protecție împotriva *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* și alte ciuperci au fost elucidate. Două mAb antifungice au fost evaluate în studii clinice. 18B7, un mAb împotriva polizaharidei capsulare a *C. neoformans* s-a dovedit a fi sigur într-un studiu de fază I, dar există o lipsă de date de eficacitate. Efungumab (Mycograb) este un anticorp uman recombinat modificat genetic împotriva proteinei fungice de șoc termic 90. HSP90 este un antigen imunodominant al peretelui celular *Candida* și este necesar pentru supraviețuirea acestuia. În studiile preclinice, Mycograb a arătat activitate împotriva unei game largi de specii de *Candida* și a făcut sinergie cu medicamente antifungice. Rezultatele unui studiu clinic la 117 pacienți cu candidoză invazivă cărora li sa administrat Amfotericină B lipozomală cu sau fără Mycograb, au arătat că până în ziua 10, grupul de pacienți care a primit și Mycograb a avut un răspuns complet cu eliminarea rapidă a culturilor fungice și rata redusă de mortalitate la infecția cu *Candida* (Ravikumar și colab, 2015).

Într-o notă similară, anticorpii monoclonali mAb C7 și mAb A9, împotriva manoproteinei peretelui celular *Candida* și, respectiv, a glicoproteinei peretelui celular *A. fumigatus*, prezintă activitate fungicidă cu o sarcină fungică redusă și creșterea ratei de supraviețuire în modelele murine de infecție invazivă. Au fost dezvoltate anticorpi ucigași anti-idiotipici, care imită peptidele antimicrobiene cu spectru larg. Acești anticorpi, la administrarea intranasală la șoareci imunodeprimați cu aspergiloză invazivă au dus la vindecare și supraviețuire pe termen lung (Ravikumar și colab,2015). Radioimunoterapia este un alt concept nou bazat pe anticorpi, prin care anticorpii radiomarcați care recunosc antigenele fungice sunt utilizați pentru a furniza radiații microbicide cu o toxicitate sistemică mai mică (Bryan și colab,2010).

Vaccinare. Descoperirea vaccinurilor antifungice este un domeniu care a atras un interes din ce în ce mai mare în ultimii ani. Utilizarea eficientă a vaccinurilor fungice este limitată la gazdele imunocompromise. Acestea nu numai că tind să creeze răspunsuri de protecție slabe la vaccinuri, dar sunt, de asemenea, expuse riscului de la formulările vii atenuate. Prin urmare, vaccinurile fungice se bazează adesea pe subunități celulare standardizate, care necesită un adjuvant pentru a induce imunitatea protectoare. Proteinele de șoc termic pot servi ca adjuvanți puternici, în timp ce răspunsul imun poate fi îmbunătățit prin manozilarea antigenelor. Imunitatea de protecție apare atât din răspunsurile celulelor T, în special Th1 și/sau Th17, cât și din răspunsurile anticorpilor (Ravikumar și colab, 2015).

Au fost efectuate evaluări preclinice a vaccinurilor pentru un număr de agenți patogeni fungici importanți și cel puțin două au fost supuse unor studii clinice de fază I. Vaccinurile fungice universale pot fi înlocuite cu un vaccin conjugat care evocă anticorpi la β -glucani care oferă protecție încrucișată împotriva a trei agenți patogeni fungici majori: *C. albicans*, *A. fumigatus* și *C. neoformans* (Ravikumar și colab, 2015).

Deși studiile pe animale cu antigene brute de *A. fumigatus* sunt promițătoare, doza ideală care poate fi administrată în siguranță la oameni nu este bine înțeleasă. S-a demonstrat că vaccinarea șoarecilor cu un antigen *Aspergillus* distinct înainte de imunosupresie conferă protecție împotriva provocării ulterioare prin inhalare cu *A. fumigatus*. S-a demonstrat că imunizarea conferă mai degrabă imunitate celulară (Ravikumar și colab, 2015).

Concluzii

Infecțiile fungice sunt cauze importante de morbiditate și mortalitate în întreaga lume, variind de la infecții ușoare, superficiale, până la infecții grave, invazive, care pot duce la deces. Printre genurile de ciuperci care provoacă micoze se numără genul *Candida*, genul *Aspergillus* și genul *Cryptococcus*. Interacțiunile dintre gazdă și agentul patogen fungic declanșează un răspuns imun complex, care implică atât sistemul imun înăscut reprezentat de neutrofile, macrofage, monocite, celule dendritice, celule NK, cât și sistemul imun adaptativ evidențiat prin celulele T și anticorpi. Există numeroase strategii de creștere a imunității, printre acestea numărându-se terapia cu citokine, terapia cu celule NK, transfer adoptiv de celule T, precum și vaccinarea.

Bibliografie

- Banushree C.S., Madhusudhan N.S. 2019. Pathogenesis of Fungal Infections, pp 31-42. In: *Fungal Infections of the Central Nervous System*. Turgut M., Challa S., Akhaddar A. (eds), Springer Publishing, New York, USA.

- Bergman A, Casadevall A. 2010. Mammalian endothermy optimally restricts fungi and metabolic costs. *mBio* 1: e00212-10.
- Bouzani M., Ok M., McCormick A., Ebel F., Kurzai O., Morton C.O. 2011. Human NK cells display important antifungal activity against *Aspergillus fumigatus*, which is directly mediated by IFN- γ release. *J. Immunol.* 187: 1369-1376.
- Brown G.D., Denning D.W., Gow N.A.R., Levitz S.M., Netea M.G., White T.C. 2012. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med.* 4(165):165rv13.
- Bryan R.A., Jiang Z., Howell R.C., Morgenstern A., Brushertseifer F., Casadevall A. 2010. Radioimmunotherapy is more effective than antifungal treatment in experimental cryptococcal infection. *J. Infect. Dis.* 202: 633-637.
- Cramer R., Garbani M., Rhyner C., Huitema C. 2014. Fungi: the neglected allergenic sources. *Allergy.* 69:176–185
- Diaz P.I., Xie Z., Sobue T., Thompson A., Biyikoglu B., Ricker A. 2012. Synergistic interaction between *Candida albicans* and commensal oral streptococci in a novel in vitro mucosal model. *Infect. Immun.* 2: 620-632.
- Drummond R.A., Gaffen S.R., Hise A.G., Brown G.D. 2015. Innate Defense against Fungal Pathogens. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 5(6): a019620.
- Figueiredo R.T., Carneiro L.A.M., Bozza M.T. 2011. Fungal surface and innate immune recognition of filamentous fungi. *Front. Microbiol.* 2: 248.
- Ianovici N. 2016. Atmospheric concentrations of selected allergenic fungal spores in relation to some meteorological factors, in Timișoara (Romania), *Aerobiologia*, 32 (1): 139-156.
- Ianovici N. 2016. Methods of biological monitoring in urban conditions: quantification of airborne fungal spores, *Annals of West University of Timișoara, ser. Biology*, 19 (1):87-100.
- Ianovici N. 2017. Summer airborne mycoflora of Timisoara (Romania) and relationship to meteorological parameters, *Grana*, 56 (6): 424-435
- Ianovici N. 2020. The fluctuations of airborne fungal components in western Romania, *Turkish Journal of Botany*, 44: 358-366
- Ianovici N., Dumbravă M. 2008. Airborne *Alternaria* spores in four monitoring stations from Romania in 2005, *Lucrări Științifice. Seria Agronomie*, 51(1): 78-83
- Ianovici N., Dumbravă-Dodoacă M., Filimon M.N., Sinitean A. 2011. A comparative aeromycological study of the incidence of allergenic spores in outdoor environment, *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*, XVIII: 88-98
- Ianovici N., Faur A., Rusza A. 2004. Quantitative and qualitative study on the pneumoallergenic bioparticles during July 2003, *Annals of West University of Timișoara, ser. Biology*, 7: 25-34
- Ianovici N., Maria C., Răduțoiu M.N., Haniș A., Tudorică D., 2013. Variation in airborne fungal spore concentrations in four different microclimate regions in Romania, *Not Bot Horti Agrobo.* 41(2):450-457
- Ianovici N., Popescu A., Nemeș C. 2008. Aeromycological monitoring of *Cladosporium* spores in Timisoara, *Annals of West University of Timișoara, ser. Biology*, 11: 1-8
- Ianovici N., Tudorică D. 2009. Aeromycoflora in Outdoor Environment of Timisoara City (Romania), *Not Sci Biol* 1 (1): 21-28
- Jerez Puebla L.E. 2012. Fungal Infections in Immunosuppressed Patients, pp. 149-175. In: *Immunodeficiency*. Metodiev K. (eds.), IntechOpen, London, UK.
- Juvvadi P.R., Lee S.C., Heitman J., Steinbach W.J. 2017. Calcineurin in fungal virulence and drug resistance: prospects for harnessing targeted inhibition of calcineurin for an antifungal therapeutic approach. *Virulence.* 8:186-197.
- Köhler J.R., Casadevall A., Perfect J. 2015. The Spectrum of Fungi That Infects Humans. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 5:a019273
- Kousha M., Tadi R., Soubani, A.O. 2011. Pulmonary aspergillosis, a clinical review. *Eur. Respir. Ver.* 20: 156-174.
- Kwon-Chung KJ. 2012. Taxonomy of fungi causing mucormycosis and entomophthoromycosis (Zygomycosis) and nomenclature of the disease: Molecular mycologic perspectives. *Clin Infect Dis* 54: S8–S15

- Mișcă C., Damiescu L., Jianuc., David I., Mărginean O., Rădoi B., Rinovetz A., Bujancă G., Velciov A., Ianovici N. 2014. The incidence of the strains of *Fusarium* sp. and of zearalenone in cereals analyzed from the south west of Romania, *Annals of West University of Timișoara*, ser. Biology, XVII (2),137-144
- Naglik J.R., Moyes D.L., Wächter B., Hube B. 2011. *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes Infect.* 13 (12-13): 963-976.
- Park B.J., Wannemuehler K.A., Marston B.J., Govender N., Pappas P.G., Chiller T.M. 2009. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *Aids.* 23 (4): 525-530.
- Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. 2009. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* 23: 525–530.
- Pathakumari B., Liang G., Liu W. 2020. Immune defence to invasive fungal infections: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 130: 110550.
- Pikman R., Ben-Ami R. 2012. Immune modulators as adjuncts for the prevention and treatment of invasive fungal infections. *Immunotherapy* 4:1869-1882.
- Prabhu RM, Patel R. 2004. Mucormycosis and entomophthoromycosis: A review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Infect* 10: 31–47.
- Ravikumar S., Win M.S., Chai L.Y.A. 2015. Optimizing Outcomes in Immunocompromised Hosts: Understanding the Role of Immunotherapy in Invasive Fungal Diseases. *Front. Microbiol.* 6: 1322.
- Salazar F, Brown G.D. 2018. Antifungal Innate Immunity: A Perspective from the Last 10 Years. *J Innate Immun.* 10:373-397.
- Schmidt S., Tramsen L., Hanisch M., Latge J.P., Huenecke S., Koehl U. 2011. Human natural killer cells exhibit direct activity against *Aspergillus fumigatus* hyphae, but not against resting conidia. *J. Infect. Dis.* 203: 430-435.
- Smith RM, Schaefer MK, Kainer MA, Wise M, Finks J, Duwve J, Fontaine E, Chu A, Carothers B, Reilly A, și colab.,2013. Fungal infections associated with contaminated methylprednisolone injections. *N Engl J Med* 369: 1598– 1609.
- Springer DJ, Phadke S, Billmyre B, Heitman J. 2012. *Cryptococcus gattii*, no longer an accidental pathogen? *Curr Fungal Infect Rep* 6: 245–256.
- Terra L., Abreu P.A., Teixeira V.L., Paixão I.C.P, Pereira R., Leal B., Lourenço A.L., Rampelotto P.H., Castro H.C. 2014. Mycoses and Antifungals: reviewing the basis of a current problem that still is a biotechnological target for marine products. *Front. Mar. Sci.* 1: 12.
- Verma A., Wüthrich M., Deepe G., Klein B. 2015. Adaptive Immunity to Fungi. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 5(3): a019612.
- Vikram HR, Smilack JD, Leighton JA, Crowell MD, De Petris G. 2012. Emergence of gastrointestinal basidiobolomycosis in the United States, with a review of worldwide cases. *Clin Infect Dis* 54: 1685–1691
- Wächter B., Wilson D., Haedicke K., Dalle F., Hube B. 2011. From attachment to damage: defined genes of *Candida albicans* mediate adhesion, invasion and damage during interaction with oral epithelial cells. *PLoS One.* 6 (2): e17046.
- Walsh T.J., Dixon D.M. 1996. Spectrum of Mycoses, pp. 1162-1171. In: *Medical Microbiology*. Baron S. (eds.), The University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas.
- Zmeili O.S., Soubani A.O. 2007. Pulmonary aspergillosis: a clinical update. *QJM.* 100: 317-334.