



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes
Concurso Público para provimento efetivo de vagas no cargo de
Professor da Carreira de Magistério Superior

Edital UFRJ nº 54, de 30 de janeiro de 2024 (Consolidado com
seus editais de retificação) Versão inicial publicada no DOU em:
02/02/2024 | Edição: 24 | Seção: 3 | Página: 71 a 80, código
MC-054 – Setor: Micologia – Departamento de Microbiologia
Geral – Instituto de Microbiologia Paulo de Góes – CCS –
UFRJ.

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 227188

Biologia Celular e Ultraestrutura fúngica

Os fungos são microrganismos eucaríotes, quimicamente heterotróficos e que utilizam o glicogênio como principal fonte para reserva energética. Durante o metabolismo secretam diferentes enzimas extracelulares como proteases, fosfolipases, lipases, entre outras envolvidas na degradação e digestão de substratos presentes no ambiente. Essas enzimas também desempenham papéis importantes durante as interações comensais e patogênicas dos quais podem estar associados. No ciclo de vida podem ser encontrados na fase vegetativa ou fase reprodutiva.

Na fase vegetativa são encontrados estruturas somáticas envolvidas na manutenção, crescimento e absorção de nutrientes. Essas estruturas incluem as hifas, brotos, pseudohifas, apressórios, hantéris e rizóides.

As hifas correspondem a estruturas tubulares, bicilínicas (sem melanina na parede), demáceas (com melanina), septadas ou aseptadas/emocíticas. A presença de septo não delimita uma célula, mas apenas uma região no segmento da hifa. Nos filos Ascomycota e Basidiomycota encontramos hifas septadas, enquanto nos filos Zygomycota, Chytridiomycota e Glomeromycota tem-se as hifas aseptadas/emocíticas.

(2)

O conjunto das hifas (multicelulares e multinucleadas) em um determinado substrato é denominado como micélio, sendo classicamente subdividido em micélio aéreo e micélio vegetativo. O micélio vegetativo encontra-se a brida diretamente ao substrato e está principalmente envolvido na absorção de nutrientes além de conferir sustentação ao micélio aéreo. O micélio aéreo, como o próprio nome indica, desenvolve-se em direção a porções aéreas do substrato. Além disso, ambos os micélios também podem se diferenciar em micélio reprodutivo. Durante o ciclo de vida alguns fungos também podem especializar-se em estruturas envolvidas na captura de nutrientes (haustórios e rizóides) ou adesão (Apressório). O aumento de hifas em um determinado substrato leva ao desenvolvimento de um micélio com aspecto algodãooso, acedado, pulverulento e geralmente de forma circular, devido ao crescimento radial. As colônias desenvolvidas podem apresentar diferentes colorações devido a presença de pigmentos na hifa (hifa branca - fungos negros) ou devido a pigmentos presentes na parede celular das estruturas de reprodução.

As leveduras, são estruturas unicelulares, globosas ou ovais, com múltiplas ou única brotamento na superfície. Algumas podem apresentar tapetes polissacarídicos (*Cryptococcus* e *Rhodotorula*) ou pigmentos na parede celular. O aumento de leveduras em um determinado substrato leva ao desenvolvimento de colônias com aspecto cremoso, maciço ou eflorescente. Podem apresentar coloração branca ou de outras tonalidades dependendo da presença de pigmentos na parede celular.

Além da fase filamentosa ou leveduriforme, alguns fungos apresentam a capacidade de transitar entre uma morfologia e outra, sendo denominados como dimórficos. Fatores como disponibilidade de nutrientes, CO_2 , temperatura, pH, entre outros, podem ordenar essa dinâmica morfológica. No contexto

(3)

ta da temperatura, temos os fungos termodimórficos. Na temperatura ambiente (25-30°C) são encontrados na forma miceliana e no hospedeiro humano ou animal na fase leveduriforme (temp 37°C). Entre os termodimórficos clássicos temos *Histoplasma*, *Pneumocystis* e *Sporothrix*.

Alguns fungos também podem apresentar estruturas intermediárias entre a forma filamentosa e leveduriforme, como pseudohifas. Essas estruturas são caracterizadas por múltiplos brotamentos sequenciais na célula leveduriforme, em que a célula filha não se desprende da célula parental. *C. albicans* é um exemplo de fungo de importância médica em que essa estrutura pode ser observada.

Na fase reprodutiva observam-se estruturas tipicamente envolvidas na reprodução e dispersão no ambiente, denominadas como conídios. Os conídios podem desenvolver-se de forma assexuada (Anamorfo), sexuada (Telomorfo) ou ambas (Holomorfo). Na reprodução assexuada a mitose é o principal tipo de divisão celular envolvida. Nesse tipo de reprodução diferentes tipos de conídios podem desenvolver-se, incluindo: blastoconídio, clamidocóndio, arthroconídio, conídio endósporo e conídio ectósporo.

O blastoconídio consiste em um broto que desenvolve-se na superfície da célula parental, sendo tipicamente observado em leveduras, que podem se multiplicar por brotamento ou fissão binária. O conídio ectósporo é aquele que se desenvolve de forma livre a partir de um conidióforo. Enquanto aqueles que se desenvolvem internalizados por uma bolsa/saco (ex. esporângio) são denominados como conídios endósporos. Os arthroconídios consistem em estruturas de parede espessa formadas a partir da fragmentação de hifas. Quando os clamidocóndios correspondem as estruturas arredondadas de parede espessa que se desenvolvem no segmento da hifa ou na sua porção terminal.

Durante a reprodução sexuada observam-se estruturas que podem

4

variante da parede com o filo fungico enrolado (zigoporo, blastoporo, ascoporo, etc). Nesse tipo de reprodução a meiose é o principal tipo de divisão celular enrolada, sendo dividida em três etapas: karyogamia, kariogamia e meioses.

Seja na fase vegetativa ou reprodutiva, os fungos apresentam uma ultraestrutura com aspectos básicos similares. A superfície celular pode ser dividida em três matrizes celulares: A matriz extracelular, parede celular e membrana citoplasmática. A matriz extracelular é composta por substâncias mucilaginosas e hidrôgenos. A parede celular, que encontra-se ancorada a membrana, possui uma porção amorfa (mais externa, composta por manoproteínas) e fibrilar (mais interna e diretamente aderida a membrana, composta por glucanos, quitina e quitosana). A parede celular confere resistência a pressão de turgor interna, define a forma e direciona o crescimento fungico, sendo alvo para a ação de alguns antifúngicos devido a sua importância. A quitina é o componente de parede conservado em todos os fungos. Além dessa composição básica, alguns fungos também podem apresentar outros componentes na parede celular, como melanina e β -1,3 glucanos.

A membrana citoplasmática apresenta uma bicamada lipídica, que a confere aspectos estruturais, embebida por proteínas intermembrana, β -1,3 glucana sintase (síntese de β -glucanos) e outras proteínas envolvidas na transdução de sinais do meio extra para o meio intracelular. São as proteínas intermembrana que conferem o caráter funcional da membrana. Além disso, apresentam o ergosterol como principal esteroide de membrana. No citoplasma, a célula fungica independente da morfologia, possui organelos típicos de uma célula eucaríota e núcleo envolto por dupla carioteca. Entre

(5)

tanto algumas estruturas exclusivamente púngicas podem ser observadas intracelularmente, como Splanterpor e corpo de Woroni. O Splanterpor está envolvido na extensão ligal, sendo um complexo de vesículas envolto por uma membrana, derivada na porção apical da liza. À medida que o crescimento é interrompido, a estrutura desaparece. O corpo de Woroni consiste em estrutura protica envolvida na obstrução de poros septais durante danos clúber a célula púngica.

6

8

Micoses Superficiais, Cutâneas e Subcutâneas

De acordo com o sítio anatomico acometido as micoses podem ser classificadas como: Superficiais, Cutâneas, Subcutâneas e Sistêmica. As micoses superficiais correspondem as infecções fungicas restritas a camada córnea da pele, haste do pelo ou cabelo. Devido a essa característica, geralmente a resposta inflamatória é mínima ou ausente, levando apenas a um comprometimento estético. Entre elas temos a Píedra Branca, Píedra Negra, Tinta Negra e a Malassezia.

A píedra branca é uma micose superficial causada por fungos do gênero *Trichosporum*, um fungo geofílico e queratinofílico, também encontrado em bates e outros animais. Clinicamente a píedra branca é caracterizada pelo desenvolvimento de nódulos micóticos aderidos a haste do pelo/cabelo. Apresentam coloração branca ou levemente acastanhada. Fatores como o aumento da umidade capilar e higiene deficiente, podem predispor para infecção.

A píedra negra é uma micose superficial comum em regiões tropicais e subtropicais. Sua etiologia está associada ao fungo *Piedraia Hortaea*, um fungo demáceo, queratinofílico típico no solo das regiões litorâneas. Clinicamente é caracterizada por nódulos micóticos tanto escalo/pelo aderidos a haste do pelo ou cabelo. Aumento da oleosidade e umidade capilar podem predispor a infecção.

A tinta negra é causada pelo fungo *Hortaea werneckii*, ~~um~~ um fungo demáceo, halofílico e geofílico típico das regiões litorâneas onde há maior concentração de sal. Clinicamente caracteriza-se pelo desenvolvimento de máculas enegrecidas que se desenvolvem na região palmoplantar.

Por fim, a malassezia (tríose vericiforme) apresenta etiologia associada ao fungo *Malassezia*, sendo a espécie *Malassezia*

7

surfur a mais frequente. Trata-se de um fungo lipofílico tipicamente encontrado na microbiota da pele de humanos e animais. Clinicamente a infecção é caracterizada por máculas hipopigmentadas, sendo mais frequentemente observadas na região do torax, costas e ombros.

Em geral, o tratamento das micoses superficiais envolve o uso de substâncias estáblicas (ácido salicílico, α -azaleico) imidazólicos ou kuterapina.

As micoses cutâneas representam o grupo de infecções fúngicas que acometem os porcos ligeiramente mais profundas da epiderme, levando a respostas inflamatórias mais intensas. Além disso, podem acometer porcos queratinizados da pele, como unha, pelos e cabelos. Historicamente, podem ser divididas em dermatomycoses (Onicomycoses, Epidermofitoses, tinea capitis, tinea cruris e tinea barbae), lamelioidose cutânea (Onicomycose, Intertrigo e dermatite da fralda), lamelioidose cutânea mucosa (lamelioidose oral, ~~cutânea~~ vulvovaginal e balanopostite) e onicomycoses não dermatomycóticas (ex. causadas por *Fusarium* e *Sporoglyphus*).

As dermatomycoses representam o grupo de micoses cutâneas causadas por dermatófitos, grupo de fungos que apresentam a atividade queratolítica como característica em comum. Entre os principais dermatófitos, temos os gêneros *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. Podem apresentar transmissão antropofílica (*T. rubrum*, *T. interdigitale*, *E. floccosum* e *T. tonsurans*), zoonótica (*M. canis*, *T. mentagrophytes*, *T. verrucosus*) e geofílica (*M. gypseum* - atual *Hannizia gypseum*). As infecções ^{antropofílicas} causadas por dermatófitos geofílicos ou zoonofílicos geralmente apresentam evolução mais aguda e com intensa resposta inflamatória associada. Enquanto as de etiologia antropofílica apresentam evolução mais crônica, menor inflamação. Geralmente são de tratamento mais difícil e prolongado, quando complicada ou causadas por dermatófitos

8

fitos zoofílicos ou geofílicos,

As onicomicoses correspondem as micose superficiais que acometem o tecido ungueal, sendo os dermatófitos os mais frequentes e associados. Embora, fungos não dermatofíticos como *Candida albicans* e *Fusarium* também possam levar a quadro de onicomicose. Entre os dermatófitos, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* e *M. canis* são os mais frequentes clinicamente pode resultar em onicomicose subungueal ~~distal~~ ^{distal} e lateral, onicomicose superficial, ~~ou~~ onicomicose subungueal proximal e onicomicose distrofica total.

As epidermofitoses correspondem as dermatofitoses que acometem a pele glabra. A etiologia está principalmente associada a *T. rubrum* e *E. floccosum*. Clinicamente é caracterizada pelo desenvolvimento de placas eritematoescamosas com eritema mais intenso nos bordos irregulares da lesão. Geralmente apresentam prurido intenso associado.

As tineas capitis, tinea barbae e tinea cruris correspondem as dermatofitoses que acometem as regiões pilosas da pele. Tinea capitis está associada a região do couro cabeludo. Tinea barbae a região de barba e pescoço e tinea cruris a região de virilha podendo estender-se para a coxa. A etiologia envolve principalmente dermatófitos do gênero *Microsporum* e *Trichophyton*. Clinicamente é caracterizada pelo desenvolvimento de placas eritematoescamosas com alopecia associada. Dependendo da etiologia pode haver parasitismo endotrix (*Trichophyton*) ou ectotrix (*Microsporum*). Na tinea capitis, a infecção por dermatófitos geralmente está associada ao desenvolvimento de placas eritematoescamosas espessas, enquanto na etiologia por *Microsporum* observam-se placas mais pulverulentas.

Em geral, o tratamento dos dermatófitos pode envolver o uso de Itraconazol, griseofulvina ou terbinafina.

9

A predisposição a infecção por dermatófitos pode envolver vários fatores, como: hiperqueratose, remoção de cutícula, banhos em banheiros públicos, uso de sauna, diabetes, compartilhamento de objetos pessoais, imunossupressão infecciosa ou medicamentosa, entre outras.

As candidíases são infecções fúngicas causadas por fungos do gênero *Candida*, se *C. albicans* a mais prevalentemente associada. No quadro abaixo estão representadas as candidíases cutâneas e cutâneas mucosas.

Candidíase cutânea		Fatores predisponentes
Tipo	Região acometida	
Onicomicose	Unhas	Imunossupressão, aumento da umidade das unhas, remoção de cutícula, bolhas
Intertrigo	Região interdigital da pele	Imunossupressão, aumento da umidade cutânea
Dermatite da FRALDA	Região perineal/perianal/nadega	Aumento da umidade associado ao acúmulo de urina e material fecal durante o uso de fralda.

Candidíase cutânea mucosa		
Candidíase oral/orofaríngea	Cavidade oral/Esôfago	Imunossupressão, antibiótico-terapia, diabetes.
Candidíase vulvovaginal	Vulva e vagina	Imunossupressão, antibiótico-terapia, flutuação hormonal
Balanopostite	Glândula e prepúcio	Bolhas, higiene inadequada, imunossupressão.

O tratamento das candidíases cutâneas e cutâneas mucosas pode variar de acordo com o tecido acometido. Em geral, pode envolver o uso de Imidazólicos, Fluconazol, Itraconazol e Nistatina.

As micoses subcutâneas são infecções fúngicas caracterizadas pela acometimento do tecido subcutâneo. Geralmente apresentam a implantação traumática como via de inoculação, sendo também conhecidos como micoses de implantação. Entre elas temos a esporotricose, cromoblastomicose, pediformicose e eumicetoma.

A esporotricose é uma ~~infecção~~ micose subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix*, sendo as espécies *S. schenckii* e *S. brasiliensis* as espécies mais frequentes na América Latina. Trata-se de um fungo termodimórfico e geófilo encontrado na fase micelial no ambiente, cuja transmissão para humanos pode ser sapronótica ou zoonótica. Clinicamente é caracterizada por uma infecção piogranulomatosa, que pode apresentar-se na forma cutânea linfática (ocorre em 70% dos casos, forma o cordão esporotricóide), cutânea fixa ou disseminada; sendo a última a forma mais grave com manifestações osteoarticulares e cutâneas. A infecção atenuada pelo HIV está associada como um fator de risco para a letalidade na forma disseminada da esporotricose. Tratamento geralmente envolve o uso de Itraconazol ou Fluconazol B (na forma disseminada).

A cromoblastomicose é uma infecção ~~subcutânea~~ de evolução crônica, causada principalmente por fungos de mofo dos gêneros *Fonsecaea*, *Phialophora* e *Cladophiala*. Clinicamente pode apresentar-se: forma nodular, forma em placa, forma cicatricial ou forma tumoral. No diagnóstico laboratorial é caracterizada pela detecção de corpos escleróticos no exame micológico direto ou histopatologia. A pediformicose apresenta etiologia similar, porém clinicamente é caracterizada por lesões nódulos císticos bem delimitados. Nesse caso não observam-se corpos escleróticos no exame laboratorial, diferenciando da cromoblastomicose.

O eumicetoma representa ~~uma~~ as micoses subcutâneas supurativas

13

e nodulares, causados por fungos principalmente dos gêneros *Rhizoglyphus* e *Mucor*. Clinicamente é caracterizada por lesões nodulares purpúreas que drenam exudato rico em granulos compostos por elementos fúngicos. Essa característica ocorre devido o desenvolvimento de fistulas drenantes a medida que a infecção progride.

Em geral, o tratamento da leiomiossarcoma, polipomiossarcoma e sarcoma pode envolver o uso de Itraconazol, Terbinafina combinada a Itraconazol, além de remoção cirúrgica, crioterapia ou termoterapia.

Atributos de virulência fúngica

Os atributos de virulência envolvem características que permitem microrganismos patogênicos se multiplicarem e colonizarem os tecidos e evadir da resposta imune em hospedeiros suscetíveis. Os fungos patogênicos podem apresentar diferentes atributos de virulência, incluindo a termotolerância, produção de adesinas, enzimas extracelulares, variações morfológicas, síntese de capsula polissacarídica e melanina.

A termotolerância é uma característica crucial para os fungos patogênicos; sejam saprófitas, comensais ou dependentes de um hospedeiro, devem tolerar a temperatura basal de humanos e animais para serem capazes de promover doença. Em geral, os fungos se multiplicam melhor na temperatura de 28°C (ambiente), sendo essa característica uma importante barreira ecológica para muitos fungos. Entretanto, alguns fungos como *P. fumigatus* podem tolerar temperaturas mais elevadas, entre 39 - 45°C. Do ponto de vista ecológico, o aumento da temperatura global pode romper um risco na quebra dessa barreira ecológica natural, favorecendo a emergência de infecções fúngicas. Prevede-se, por exemplo, que a emergência de *C. auris* como patógeno humano, pode estar atrelada, entre outros fatores, ao aumento da temperatura global devido as mudanças climáticas.

As adesinas (proteínas ou outras moléculas) medeiam a adesão fúngica aos tecidos do hospedeiro sendo um ponto chave durante a interação fungo-hospedeiro. *C. albicans* por exemplo é capaz de aderir a superfícies bióticas e abióticas para formar biofilme. Para isso utiliza diferentes tipos de adesinas como Als, Hwp e Capsp que permitem a adesão em superfícies abióticas, a lamina própria, colágeno, endotélio e epitélio. Devido a sua importância, novos antifúngicos

Com isso na adesina Als3 tem sido estudados como estratégia para a prevenção da candidíase invasiva. Outros patógenos fúngicos como *Cryptococcus*, *Sporothrix*, *Paracoccidioides*, *Histoplasma*, *Aspergillus*, *Pneumocystis*, *etc.* também apresentam propriedades que permitem a adesão tecidual.

~~Porém~~ Além de aderir aos tecidos os fungos devem ser capazes de colonizar e se estabelecer nos tecidos. Para isso utilizam diferentes enzimas extracelulares envolvidos na captura de nutrientes, invasão tecidual e escape da resposta imune. *C. albicans* secreta diferentes proteases, fosfolipases e ~~fosfo~~ lipases envolvidos na invasão tecidual, captura de ferro e outras fontes nutricionais. As candidalinas (toxina) também auxiliam na aquisição de ferro ao promoverem poros nas membranas celulares. De outro lado *Candida albicans* também é capaz de secretar uma lipase, que ao degradar lipídios pode atenuar a resposta imune via $TH17$. Em *Aspergillus*, proteases e fosfolipases são secretadas durante a aspergilose pulmonar para degradar elastina e aumentar a invasão tecidual. Enquanto em *Cryptococcus* estas enzimas promovem a digestão do surfactante pulmonar, aumentando a adesão tecidual. Durante a infecção *Cryptococcus* também é capaz de secretar ~~urea~~ urease, enzima envolvida no mecanismo de parasitismo, pelo qual o fungo pode ultrapassar a barreira hematoencefálica e causar meningoencefalite. Em geral, durante a infecção os fungos também podem secretar enzimas antioxidantes, como catalase, peroxidase, superóxido dismutase, conferindo resistência ao estresse oxidativo promovido por macrófagos após a fagocitose.

As variações morfológicas também conferem estratégias importantes para a sobrevivência fúngica no contexto do hospedeiro. *Candida albicans* por exemplo é encontrada tipicamente na ~~forma micelial~~ na fase leveduriforme

Como microrganismo comensal da microbiota humana. Entretanto, a sua mudança de leitura para a forma filamentosa é classicamente associada a sua transição de comensal para patógeno oportunista. Essa transição para a forma patógena é fundamental para invasão tecidual. Além disso ocorre associada a expressão de vários genes que codificam enzimas importantes para a invasão tecidual, obtenção de nutrientes e escape do reconhecimento. Interessantemente, na forma filamentosa *C. albicans* apresenta mais estido de manoproteínas e menos glucanos na parede celular, o que protege a célula, em parte, do reconhecimento por receptores do tipo ~~de~~ lectina 1, auxiliando no escape imunológico. Por outro lado, fungos ambientais termotrópicos passam da transição da fase micelial (28°C) para a fase hifóide, para serem capazes de promover infecções fúngicas. Nesse caso a forma hifóide possui características e mais de sobrevivência ~~mais~~ reguladas importantes para a ~~inter~~ interação com o hospedeiro. Já em *Cryptococcus* observa-se uma importante plasticidade morfológica durante a infecção, caracterizada pela observação de microcúlos, células de tamanho normal, células titânicas e red cells. Os microcúlos por apresentarem tamanho reduzido e maior relação superfície volume, possuem maior fitness reprodutivo, característica importante para a infecção fúngica durante o início da infecção. Além disso podem ultrapassar mais facilmente as barreiras do hospedeiro. As células titânicas, com tamanho superior a 20µm, também apresentam ~~mais~~ relevância durante a infecção, principalmente devido as propriedades antifagocíticas.

Durante a infecção alguns fungos, como *Cryptococcus*, podem produzir capsula polissacarídica. Em *Cryptococcus*, essa estrutura é composta principalmente por GXM e encontra-se

ancorada a porção amorfa da parede celular. Longe propriedades anti-fagocíticas ~~de~~ e anti-oxidantes, ~~int~~ reduz a opsonização por anticorpos e pode promover a polarização da resposta imune para TH2, que é ineficaz no clearance fúngico.

Alguns fungos como *Cryptococcus*, *Basidiomycetes* e *Sporothrix* e fungos demais podem produzir melanina durante a infecção. A melanina é um pigmento localizada na parede celular entre as lamelas de glucanos e manoproteína. Sua síntese pode ocorrer através da oxidação de compostos fenólicos ou via *tyrosinase*. Na interação com o hospedeiro longe resistir ao estresse oxidativo e nitrosativo promovido pela resposta imune ou pelo tratamento antifúngico. Além disso, por apresentar carga elétrica positiva, também longe propriedades anti-fagocíticas.

Compreender os atributos de virulência fúngica é fundamental para ampliar a ^{compreensão} complexidade biológica envolvida nas interações fungo-hospedeiro. Além disso possibilita o desenvolvimento de novas terapias antifúngicas que apresentem como alvo a atenuação da virulência, como remissão ~~de~~ aplicada principalmente no contexto de infecções causadas por *Candida*.