



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: 929279

- Biologia Celular e Ultraestrutura dos fungos

Fungos são seres eucarióticos e heterotróficos, sendo que sua natureza eucariótica é um dos principais motivos para a limitação dos alvos antifúngicos, uma vez que as células do hospedeiro também são eucarióticas e compartilham com os fungos muitos componentes celulares.

A célula fúngica possui núcleo apomito e envoltório nuclear, DNA com regiões codificantes e não-codificantes, assim como diferentes organelas intracelulares, tais como: mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, lisossomos e diferentes vacúolos de armazenamento. Ao analisar aspectos ultraestruturais do interior das células fúngicas por microscopia eletrônica de transmissão, é possível observar um citoplasma com aspecto homogêneo e ultrarraro, diversas mitocôndrias, complexo de Golgi com aparência tubular (a não formando estruturas como as células de mamíferos) e diferentes vacúolos com conteúdo eletrônico e ultrarraro (podem ser muito próximos de diferentes composições).

A membrana plasmática das células fúngicas

① ✱

também é uma bicamada lipídica e a principal característica que a diferencia das células de mamíferos é a presença de ergosterol como o principal esterol das membranas, enquanto o colesterol é o principal esterol presente em membranas plasmáticas das células do hospedeiro mamífero. Esta característica é muito explorada na terapia antifúngica, onde as duas principais classes de antifúngicos atuam ligando-se nas práticas clínicas inibem a síntese de ergosterol (azóis) ou interagem com ester moleculares (poliêns).

Além das membranas plasmáticas atuar como compartimentalizando as células fúngicas e separando o meio interno do meio externo, há também um envoltório adicional que delimita a célula fúngica: a parede celular. A parede celular de fungos é uma estrutura dinâmica que está em constante remodelamento, atuando como uma barreira selectiva adicional para a passagem de componentes.

A parede celular de fungos é formada por quitina, glucanos e mananas, sendo a camada estrutural formada principalmente de quitina e formando veículas na parede, enquanto as camadas mais externas é formada principalmente de glucanos e mananas que se organizam formando uma estrutura de aspecto mais fibrilar. Quando observadas por microscopia eletrônica de transmissão, a parede celular exibe um aspecto eletro-luminoso em sua porção estrutural (formada por quitina) e um aspecto eletro-claro em sua porção mais externa (formada por diferentes glicoproteínas ligadas a glucanos e mananas).

A parede celular auxilia na manutenção das diferentes morfológicas do fungo. Fungos podem

apresentar aspecto de dendritos ou de fungos filamentosos, sendo estes últimos em número bem menor e produzidos por microscópicos ou mesoscópicos. Os dendritos são bem unicelulares e os fungos filamentosos são bem pluricelulares, formados por células tubulares (hifas) que se organizam e formam micélio.

Os hifos apresentam orientação polarizada e, além das paredes celulares, possuem organelas e dinâmicas de estas estruturas, a função dos microtúbulos também é importante para o transporte direcional de organelas e vesículas para a região do crescimento apical das hifas. Os fungos possuem um citoesqueleto formado de microtúbulos e filamentos de actina, onde a actina é importante na formação dos septos das hifas e no processo de brotamento das dendritas, por exemplo.

Além das paredes celulares, alguns fungos possuem também uma cápsula polissacarídica recoberta em exterior. Cryptococcus neoformans e Cryptococcus gattii possuem a cápsula e esta estrutura pode atingir tamanho maior do que a propagação dendritas. Ao ser analisada por microscopia eletrônica de varredura, as dendritas de Cryptococcus spp. apresentam a cápsula organizada em uma rede fibrosa, com incisão nas paredes celulares, apresentando interação entre as fibras polissacarídicas e um espaçamento regular.

Alguns fungos apresentam em sua parede celular a melanina, tais como: C. neoformans, C. gattii, fungos dematiáceos e Sporothrix spp. A melanina é formada por polímeros fenólicos e indólicos, tem alto peso molecular e é hidrofóbica. Sua presença na parede celular confere ao fungo proteção contra agentes externos (tais como radiação).

UV, calor, anti-fúngicos, ROS e RNS) e proteção contra as faixas UV. A melanina também atua em papel estrutural na parede celular, como observado em condições de Aspergillus fumigatus. As principais vias de produção de melanina em fungos de relevância médica são a via DAH (em S. schenckii, Fonsecaea pedrosoi e A. fumigatus, por exemplo) e a via G-OPA (em C. neoformans e C. guillierii, por exemplo).

Ao observar alguns fungos melanizados por microscopia eletrônica de transmissão, é possível identificar organelas citoplasmáticas com acúmulo de pigmentos melanizados semelhantes à melanina depositada na parede celular. Tais organelas podem corresponder a melanosomas, que são organelas especializadas na produção de melanina em células de mamíferos. A presença destes possíveis melanosomas em células fúngicas foi observado em F. pedrosoi e S. schenckii, no entanto, entendendo relacionais ainda são necessários para elucidar a existência destas organelas em fungos e caracterizá-las mais estruturalmente.

Grupos podem viver como células de vida livre (células planctônicas) ou como biofilmes. Acredita-se que a maioria dos fungos patogênicos aos seres humanos formam biofilmes durante a infecção, e não existem como células isoladas. Biofilmes são comunidades microbianas de células aderidas a um substrato (podendo ser biótico ou abiótico), que vivem diferentes níveis de organização e que estão embutidas em uma matriz extracelular polimérica. As células vividas como biofilmes vivem uma organização única distinta daquelas vividas na forma planctônica, sendo a capacidade de formar biofilmes um importante atributo de virulência.

★ ①

que inclui desde o adiante.

~~Definição de biofilme~~

A matriz extracelular de biofilmes é composta por componentes secretados pelo fungo, como: polissacarídeos, proteínas, lipídios, DNA, entre outros, além de possuir uma estrutura hidratada. Os biofilmes protegem as células fúngicas em seu interior contra a ação de anti-fúngicos e do reconhecimento por células perseguidoras, por exemplo, e a matriz extracelular também atua como um local de aquisição de nutrientes e de digestão intracelular. Ao observar biofilmes fúngicos por microscopia eletrônica de varredura em modo ambiental (que permite a observação de amostras hidratadas), é possível notar que a matriz extracelular envolve as células e estas de uma forma compacta e robusta. Tal estrutura fornece pela matriz também atuação como uma barreira relativa adicional para as células invasoras no biofilme. Também é possível observar a presença de canais de água no interior dos biofilmes fúngicos após observação em microscópio eletrônico de varredura, feita através de cortes de amostra e observação convencional.

Atributos de virulência fúngica

A virulência é uma capacidade variável do organismo de causar doença a um hospedeiro. Os atributos de virulência irão favorecer o fungo a causar a virulência, mas não irão necessariamente reduzir a viabilidade. A ausência dos atributos de virulência reduzirá ou eliminará a capacidade do fungo de causar doença, mas ainda permitirá que o mesmo viva.

inteligência, em condições definidas.

A natureza dos fungos dermatófitos pertencentes ao Reino Fungi não é patológica aos seres humanos porque não é capaz de sobreviver nas condições do hospedeiro.

A elevação da temperatura corporal, a forma, a fisiologia corporais com pH alcalino e os mecanismos de resposta imune inata e adaptativa protegem os seres humanos da infecção por grande parte dos fungos.

A seguir serão descritos alguns atributos de virulência de grande relevância para fungos de importância médica:

1) Termotolerância:

Fungos patógenos precisam ser capazes de sobreviver a temperaturas de 37°C . Esta habilidade é essencial para o fungo colonizar e causar danos ao hospedeiro.

A natureza dos fungos ~~colônias~~ apresenta uma ampla gama de temperaturas entre $25-28^{\circ}\text{C}$, impedindo a viabilidade destes fungos dentro do hospedeiro humano. Um grande problema que as alterações clínicas e o aumento das temperaturas do planeta pode causar é a indução de novas espécies de microrganismos na natureza, e tais espécies poderão surgir como novos patógenos humanos no futuro.

2) Dimorfismo:

O dimorfismo é uma importante habilidade que permite que certos fungos se adaptem à temperatura mais elevada do hospedeiro alterando sua forma.

Por definição, fungos dimórficos se encontram na natureza em sua forma filar multicelular (forma saprofítica) e convertem para a forma de leveduras (forma parasitária) quando encontram o hospedeiro.

O principal fator responsável pelo dimorfismo é a temperatura (Ex: ~~Exemplo~~ os fungos *Trichosporon*),

mas outros fatores (como pH, fonte de nutrientes, teor de CO_2 , entre outros) também estão relacionados a conversão das formas filamentosas para duras. São importantes fatores não físicos, tais como: Histoplasma capsulatum, Pneumocystis spp., Coccidioides spp., Blastomycosis e Sporothrix spp. Além de alterar sua morfologia, fungos dimórficos também alteram sua expressão gênica ao converter para duras, podendo alterar a expressão de componentes da parede celular (e, por isso, o reconhecimento pelas células do sistema imune) dependendo das formas, por exemplo.

É importante ressaltar que, apesar de não ser considerada um fungo dimórfico, Candida albicans é capaz de alterar sua forma dependendo das condições ambientais. Candida albicans é um fungo pleomórfico, podendo apresentar diferentes morfologias, tais como: duras, pseudo-hifa e hifa. A transição morfológica de C. albicans de duras (forma comunal) para hifa (forma parasitária) está relacionada a outros fatores ambientais de pontos de temperatura, mas esta capacidade adaptativa é um atributo de virulência para a espécie.

3) Adesinas

Diferentes espécies fúngicas expressam glicoproteínas em sua parede celular que são responsáveis pela adesão do fungo a componentes da matriz extracelular do tecido do hospedeiro e a células epiteliais e endoteliais. A adesão ou brincar expressões destas adesinas irá variar drasticamente a virulência do fungo, pois após a etapa inicial de adesão maximiza para a colonização e, posterior, danos ao tecido. Um exemplo de adesinas bem estudadas em C. albicans são as Als. Algumas Als, além de atuarem

4) Spindro larvae:

Um partido político que foi eleito em 2016 o C. albicans, a candidataria, tem um ^{um} papel central na promoção de doenças sexualmente transmissíveis e outras doenças. A candidataria é um grupo de pessoas (31 anos) que se encontra pela primeira vez C. albicans e se encontra na primeira linha de defesa da saúde do indivíduo, promovendo uma desatualização e perda de controle educacional, levando a uma morte. É possível que a promoção de doenças com

função é ter e também ocorre em outros fungos patogênicos, mas estes ainda não foram completamente descritos.

5) Cápsula polissacarídica

A presença de uma cápsula polissacarídica em bactérias do Cryptococcus spp. prova que o fungo contém aglutininas e que isso é importante para que o fungo seja patogênico em que outros não o são. Já foi demonstrado que fungos com cápsula têm mais resistência a radiação UV, calor, ROS e RNS, anti-fúngicos, por exemplo. Se isolados a cápsulas podem a capacidade de causar a infecção.

6) Melanina

Como mencionado anteriormente, a presença de melanina na parede celular de alguns fungos é um importante atributo de resistência, pois sendo a célula fúngica contra diferentes agentes externos. Considerando diferentes espécies fúngicas, já foi demonstrado que isolado com menos melanina em mutantes em melanina têm menos resistência do que cepas melanizadas. Além disso, estudos demonstram que o uso combinado de inibidores da biossíntese de melanina aumenta a atividade de inibidores *in vitro* de anti-fúngicos comerciais, demonstrando o papel da melanina na resistência a anti-fúngicos.

7) Biofilmes

A capacidade de formar biofilmes é um dos principais atributos de resistência descritos em espécies de Candida, especialmente C. albicans. Como descrito anteriormente, a matriz extracelular dos biofilmes protege as células que estão no interior da ação de anti-fúngicos, componentes do Sistema Complemento e reconhece muito por meios físicos e químicos. Candida spp. é capaz de formar biofilmes

superfícies cutâneas como cateteres, próteses e sondas, sendo um grande problema em ambientes hospitalares.

Como biofilmes são resistentes a maioria dos antifúngicos comerciais, quando há suspeita de formação de biofilmes em dispositivos hospitalares, é necessário retirar o dispositivo antes do início da terapia antifúngica. Outros fungos de importância médica também são capazes de formar biofilmes em condições *in vitro*, tais como: Saccharomyces spp., Aspergillus spp., Candida spp., entre outros. Condições em que as infecções observadas na aspergilose pulmonar (verer fúngica) sugere biofilmes de Aspergillus spp. e que a maioria dos pacientes fúngicos formam biofilmes ao permanecer o hospedeiro.

— microrganismos superficiais, cutâneos e subcutâneos

Os microrganismos podem ser classificados de acordo com o local do crescimento, podendo ser superficiais, cutâneos, subcutâneos ou sistêmicos. Os microrganismos superficiais vivem em relação às camadas ^{mais superficiais} da pele, pelo e cabelo. Os microrganismos cutâneos vivem ao redor das camadas queratinizadas da pele, unhas, pelo e cabelo. Os microrganismos subcutâneos vivem atingir camadas mais profundas da pele, enquanto os microrganismos sistêmicos podem ao redor de vários órgãos, geralmente, iniciando a partir da infecção de urros e chegando aos pulmões.

Nos microrganismos superficiais, o foco está restrito a camada córnea da pele (ou cutícula de pelos e cabelos) e não causa resposta imune, sendo uma infecção oportunística e crônica. Um exemplo de microrganismo superficial muito conhecido em feridas de pele

Tropical e subtropical é a pele com vari color, também conhecida popularmente como "Franco Branco" ou "Mico de pele". A pele com vari color é causada por infecções de Melanospiza, sendo a mais comum delas a Melanospiza purpurea. Pelo menos 18 diferentes espécies de Melanospiza são conhecidas em humanos.

M. purpurea é um integrante da micro biota de humanos e, em condições de imunidade baixa, pode causar a doença. Como comunal, M. purpurea encontra-se na pele de indivíduos no estado, mas é possível observar a formação de pequenas lesões de hiperpigmentação (além de lesões) quando o fungo está ^{proliferando} ~~se multiplicando~~.

Uma importante característica das espécies de Melanospiza é que elas são diploides (como M. parvichlamydia), sendo a presença de fontes de lipídios essenciais para a proliferação no hospedeiro e cultivo em ambiente laboratorial.

Na pele com vari color, as regiões de proliferação microbiana de M. purpurea estão hiperpigmentadas. São áreas pequenas e focais de formação de placas e presença de lesões de hiperpigmentação, sendo um dos produtos quando o ácido argênico. O ácido argênico interfere na síntese de melanina nos melanócitos, por inibir a atividade da tirosinase durante a conversão de tirosina para L-DOPA. Dessa forma, a inibição da síntese de melanina em regiões específicas do tecido promove o aspecto hiperpigmentado da pele.

Além de estar relacionada aos quadros de pele com vari color, M. purpurea também vem sendo detectada em outras doenças, como dermatite atópica. Em casos onde há danos às células do hospedeiro (e não apenas hiperpigmentação), um dos responsáveis por

por este motivo é a produção de insetos por M. furfur. Diversos insetos são para a identificação de lesões e alguns são capazes de causar a morte de queratinócitos e melanócitos, via difusão ou via de pontos de contato.

Nos microrganismos, os fungos são capazes de colonizar regiões queratinizadas. Tais fungos montam quartéis que irão degradar os componentes do hospedeiro e poderão danificar o tecido. Este processo irá causar a inflamação das regiões afetadas, provocando vermelhidão e coceira.

Um exemplo de microrganismos são as dermatofitoses, que poderão colonizar diferentes regiões no hospedeiro (causando diferentes nomes, dependendo da região afetada) e são transmissíveis entre humanos e de animais. O contato com materiais ou objetos contaminados com dermatofitos pode levar a aquisição da doença.

As principais espécies descritas em quadros de dermatofitoses em humanos são Microsporum sp., Epidermophyton sp. e Trichophyton sp. Tais espécies apresentam-se com aspectos que permitem a identificação, sendo possível identificá-las apenas após isolamento e cultivo em laboratório. As diferentes espécies apresentam características microscópicas distintas, tais como aspectos dos micélio e micósporos.

Para aquisição de uma lesão micótica é necessário que ocorra um trauma da região afetada, sendo o fungo inoculado com auxílio de agulhas, agulhas ou outros materiais. Nestes casos, o fungo está presente no solo em um ambiente úmido. Além disso, também é possível que ocorra a inoculação direta do fungo a partir

de corrente dura ou mordedura de animais, ou alguma infecção subcutânea.

Um exemplo de micose superficial é a esporotricose, que é a micose de implantação causada por fungos no solo.

As principais formas de esporotricose são as formas linfocutâneas e cutâneas e duas agudas atóxicas: são os fungos termodinâmicos do gênero Sporothrix.

A esporotricose pode ser adquirida como uma zoonose, ou seja, a partir da inoculação transmitida do fungo para a natureza orgânica em decomposição. Esta forma de contaminação ocorre em diferentes locais do mundo e acomete principalmente indivíduos que lidam com material de solo ou outros tipos de materiais de origem vegetal. A esporotricose também pode ser adquirida como uma zoonose, a partir do contato com gatos infectados com o fungo. Neste caso, a transmissão ocorre através de mordidas, arranhões ou do contato direto com a pele dos felinos (que podem ser fonte de lesões e áreas infectadas por inoculação em micotas, por exemplo). Na transmissão saprofítica, o fungo inocula do ambiente em sua forma filamentosa, um fungo que durante a transmissão zootica, as lesões são inoculadas.

Diferentes espécies do gênero Sporothrix já foram descritas, sendo algumas caracterizadas como ambientais e outras como patógenas. As principais espécies patógenas são: Sporothrix schenckii, Sporothrix brasiliensis e Sporothrix globosa. Schenckii é uma espécie cosmopolita, S. globosa é mais frequente na América e S. brasiliensis foi descrita apenas na América Latina. Há pouco tempo atrás, S. brasiliensis estava restrita ao Brasil, mas houve expansão geográfica desta espécie para países que fazem fronteira com o Brasil.

S. brachycolus é a espécie mais frequente em relação com a leishmaniose zoonótica e também é a espécie mais encontrada em casos de leishmaniose no Brasil. Esta espécie se adapta bem aos hospedeiros felinos, provavelmente por ser mais tolerante do que os outros (a baixa temperatura na exposição dos gatos é mais elevada, em torno de 39°C). A espécie também é a responsável pela atual epidemia de leishmaniose observada em diferentes regiões do país e está sendo apontada como causadora de formas atípicas da doença (com manifestações cutâneas).

A leishmaniose é um importante problema de saúde pública no Brasil e, em 2020, foi incluído na lista de Doenças Tropicais Negligenciadas pela OMS. Sua elevada incidência em humanos e animais ~~afirma~~ reflete a importância de medidas que envolvam os animais de Saúde Pública nas tomadas de decisão para controle da doença.