



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

TIAGO LEMOS DO NASCIMENTO

**DESCRIÇÃO DO POLIMORFISMO DO *CHIT1* EM GRUPOS SUSCEPTÍVEIS À
INFECÇÃO PELO FUNGO *PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS*.**

Goiânia-GO

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Tiago Lemos do Nascimento

3. Título do trabalho

Descrição do polimorfismo do CHIT1 em grupos susceptíveis à infecção pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis*.

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Tiago Lemos Do Nascimento, Discente**, em 12/07/2024, às 18:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andre Correa Amaral, Professor do Magistério Superior**, em 14/08/2024, às 14:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4668417** e o código CRC **88DC8CE9**.

TIAGO LEMOS DO NASCIMENTO

**DESCRIÇÃO DO POLIMORFISMO DO *CHIT1* EM GRUPOS SUSCEPTÍVEIS À
INFECÇÃO PELO FUNGO *PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás como requisito para a obtenção do título de mestre em Genética e Biologia Molecular.
Área de concentração: Genética e Biologia Molecular.

Orientador: Prof. Dr. André Corrêa Amaral
Coorientadora: Dra. Livia do Carmo Silva

**Goiânia- GO
2024**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Nascimento, Tiago Lemos do
Descrição do polimorfismo do CHIT1 em grupos susceptíveis à infecção pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis*. [manuscrito] / Tiago Lemos do Nascimento. - 2024.
54, LIV f.

Orientador: Prof. Dr. André Corrêa Amaral; co-orientadora Dra. Lívia do Carmo Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Goiânia, 2024.
Bibliografia. Anexos.
Inclui siglas, mapas, abreviaturas, símbolos, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Infecção fúngica. 2. *Paracoccidioides* spp.. 3. Quitotriosidase. I. Amaral, André Corrêa, orient. II. Título.

CDU 577.2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 115 da sessão de Defesa de Dissertação de **Tiago Lemos do Nascimento**, que confere o título de Mestre em **Genética e Biologia Molecular**, na área de concentração em **Genética e Biologia Molecular**.

Aos **treze dias do mês de dezembro de dois mil e vinte e três**, a partir das **09h00**, na **sala 220 do ICB IV**, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “**Polimorfismo de CHIT1 e sua correlação com a infecção fúngica Paracoccidioidomicose**”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor **André Corrêa Amaral (IPTSP/UFG)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora **Daniela de Melo e Silva (ICB/UFG)**, membro titular interno; Professora Doutora **Juliana Santana de Curcio**, membro titular externo; Professora Doutora **Lívia Do Carmo Silva**, coorientadora, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **[fizeram]** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido o candidato **[aprovado]** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor **André Corrêa Amaral**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos **treze dias do mês de dezembro de dois mil e vinte e três**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Descrição do polimorfismo do CHIT1 em grupos susceptíveis à infecção pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis*.



Documento assinado eletronicamente por **Andre Correa Amaral, Professor do Magistério Superior**, em 13/12/2023, às 11:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Santana de Curcio, Usuário Externo**, em 15/12/2023, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniela De Melo E Silva, Professora do Magistério Superior**, em 15/12/2023, às 15:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4229945** e o código CRC **05384E27**.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: Tiago Lemos do Nascimento

Orientador: Prof. Dr. André Corrêa Amaral

Coorientador: Dra. Livia do Carmo Silva

Membros:

Prof.^a Dr.^a Daniela de Melo e Silva

Dr.^a Juliana Santana de Curcio

Data: 13/12/2023

Horário: 09:00

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo apoio financeiro concedido durante o meu mestrado. À Universidade Federal de Goiás (UFG), ao Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM) e ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) pelo corpo docente, administração e toda a estrutura, que viabilizou a minha formação acadêmica. Estendo meus agradecimentos aos funcionários e à direção do Hospital Estadual de Doenças Tropicais – Dr. Anuar Auad (HDT) pelo valioso suporte ao nosso trabalho. Agradeço, igualmente, a todos os pacientes, seus familiares e àqueles que gentilmente participaram desta pesquisa.

Ao meu orientador, Dr. André Corrêa Amaral agradeço imensamente pela orientação, paciência, compreensão, confiança, incentivo e amizade. Sou extremamente grato por aprender de um profissional extremamente competente como o senhor. O seu apoio foi essencial para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional, só tenho a agradecer-lo.

À minha coorientadora, Dra. Lívia do Carmo Silva, agradeço profundamente pelos ensinamentos, orientações, pela paciência e pelas ideias que enriqueceram esta pesquisa. Agradeço também por sua amizade e pelo ótimo senso de humor que sempre torna os momentos mais leves e divertidos.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Nano & Biotecnologia (LANAB), pelo companheirismo, apoio e pela valiosa troca de experiências durante nossas reuniões. Um agradecimento especial às minhas amigas Jacqueline e Juliana pelos ensinamentos, pela colaboração nas coletas e por tornado essa jornada mais leve e prazerosa, repleta de risadas compartilhadas.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Genética Molecular e Citogenética (LGMC), agradeço pelas trocas de experiências, ajuda mútua e companheirismo. Especial agradecimento à Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda por me receber de braços abertos no LGMC.

Aos membros que compuseram a banca, agradeço pelo tempo e empenho dedicados à avaliação e contribuição para o enriquecimento deste trabalho. Um agradecimento especial à Dra. Daniela de Melo e Silva por ceder amostras essenciais para este estudo. Muito obrigado!

RESUMO

Os fungos do gênero *Paracoccidioides*, são os agentes causadores da Paracoccidioidomicose (PCM), uma infecção prevalente na América Latina que atinge principalmente trabalhadores que tem como atividade laboral o manejo da terra. *Paracoccidioides* spp. possuem suas paredes celulares durante a fase leveduriforme, constituída principalmente por quitina, um polímero formado por ligações β -1,4-glicosídicas. Os humanos são capazes de produzir a quitotriosidase (CHIT-1), enzima que possui a capacidade de hidrolisar essas ligações presentes na quitina. A CHIT-1 é uma enzima codificada pelo gene *CHIT1*, com importante papel na defesa imune contra patógenos que contém quitina, tais como os fungos. Polimorfismo contendo a duplicação de 24 pares de bases no éxon 10 do cromossomo 1, vem sendo associado a diminuição da produção de CHIT-1. Assim, este estudo visou avaliar a prevalência do polimorfismo de duplicação de 24 pb em *CHIT1* em 138 indivíduos, divididos em quatro grupos. Grupo I: pacientes atendidos no Hospital Estadual de Doenças Tropicais – Dr. Anuar Auad (HDT) em Goiânia com diagnóstico confirmado para a PCM, Grupo II: pesquisadores que durante suas pesquisas manipularam o fungo e sem diagnóstico confirmado para PCM. Grupo III: trabalhadores rurais sem diagnóstico confirmado para PCM. Grupo IV: pessoas sem diagnóstico confirmado para PCM. A identificação do polimorfismo do gene foi realizada por meio da técnica de reação da polimerase em cadeia (PCR) observando o tamanho dos amplicons em gel de agarose. A prevalência da duplicação de 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1* na população total foi de 55,1% para o genótipo homozigoto selvagem, 40,6% para heterozigoto e de 4,3% para o genótipo homozigoto mutante.

PALAVRAS-CHAVES: Infecção fúngica, *Paracoccidioides* spp., Quitotriosidase.

ABSTRACT

Fungi of the genus *Paracoccidioides* are the causative agents of Paracoccidioidomycosis (PCM), an infection prevalent in Latin America that mainly affects workers whose work activity is land management. *Paracoccidioides* spp. have their cell walls during the yeast phase, consisting mainly of chitin, a polymer formed by β -1,4-glycosidic bonds. Humans are capable of producing chitotriosidase (CHIT-1), an enzyme that has the ability to hydrolyze these bonds present in chitin. CHIT-1 is an enzyme encoded by the *CHIT1* gene, with an important role in immune defense against chitin-containing pathogens, such as fungi. Polymorphism containing the duplication of 24 base pairs in exon 10 of chromosome 1 has been associated with decreased CHIT-1 production. Therefore, this study aimed to evaluate the prevalence of the 24 bp duplication polymorphism in *CHIT1* in 138 individuals, divided into four groups. Group I: patients treated at the State Hospital for Tropical Diseases – Dr. Anuar Auad (HDT) in Goiânia with a confirmed diagnosis of PCM, Group II: researchers who during their research manipulated the fungus and without a confirmed diagnosis of PCM. Group III: rural workers without a confirmed diagnosis of PCM. Group IV: people without a confirmed diagnosis of PCM. The identification of the gene polymorphism was carried out using the polymerase chain reaction (PCR) technique, observing the size of the amplicons in agarose gel. The prevalence of the 24 bp duplication in exon 10 of the *CHIT1* gene in the total population was 55.1% for the homozygous wild genotype, 40.6% for the heterozygous and 4.3% for the homozygous mutant genotype.

KEYWORDS: Fungal infection, *Paracoccidioides* spp., Chitotriosidase.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica das espécies de <i>Paracoccidioides</i> pela América Latina.....	13
Figura 2. Imagens representando as formas clínicas da paracoccidioidomicose.....	17
Figura 3. Imagens das formas morfológicas do fungo <i>Paracoccidioides</i> spp. (A) Forma micelial, (B) Forma leveduriforme.....	20
Figura 4. Imagem representando os locais de ação dos principais antifúngicos utilizados no tratamento da PCM.....	22
Figura 5. Imagem ilustrativa representando a capacidade das quitinases em romper as ligações β -1,4 da quitina, liberando assim (GlcNAc).	23
Figura 6: Representação esquemática da duplicação de 24 bp no éxon 10 presente no gene <i>CHIT1</i>	27
Figura 7. Gel de Agarose a 2% indicando a amplificação do gene <i>CHIT1</i>	35
Figura 8: Frequência genotípica da população total.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das quitinases de acordo com sua sequência de aminoácidos.....	24
Tabela 2. Caracterização dos indivíduos presentes em cada grupo.	36
Tabela 3. Frequências genotípicas e alélicas da duplicação de 24 pb no éxon 10 nos 4 grupos.....	38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Humana (do inglês *acquired immunodeficiency syndrome*)

AMCase: Quitinase ácida de mamíferos (do inglês *acidic mammalian chitinase* -)

bp: pares de bases (do inglês *base pair*)

CDC: Centros de Controle e Prevenção de Doenças (do Inglês *Centers for Disease Control and Prevention*)

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CHIT-1: quitotriosidase

CHIT1: gene responsável por codificar a enzima quitotriosidase

CID: Classificação Estatística Internacional de Doenças

°C: Grau Celsius

DNA: Ácido desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic acid*)

EDTA: Ácido etilenodiaminotetracético

GlcNac: N-Acetilglicosamina

HDT: Hospital Estadual de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad

HIV: vírus da imunodeficiência humana (do inglês *human immunodeficiency virus*)

Kb: Kilobases

kDa: Kilodaltons

mM: Milimolar

mRNA: ácido ribonucleico mensageiro

ng: Nanograma

PCR: Reação da Polimerase em Cadeia (do inglês *Polimerase Chain Reaction*)

PCM: Paracoccidioidomicose

TBE: mistura de base Tris, ácido Bórico e EDTA.

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UV: radiação ultravioleta

V: Volts

µg: Micrograma

µL: Microlitro

µM: Micromolar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 PARACOCCIDIOIDOMICOSE	12
1.1.1 Agente etiológico	19
1.1.2 Diagnóstico e tratamento	20
1.2 QUITINASES.....	23
1.2.1 Quitotriosidase	25
2 JUSTIFICATIVA	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVO GERAL	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO	32
4.2 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS	32
4.3 EXTRAÇÃO DE DNA	33
4.4 IDENTIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO NO GENE <i>CHIT1</i>	33
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5 RESULTADOS	34
5.1 INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS	34
5.2 PERFIL GERAL DOS INDIVÍDUOS ANALISADOS	36
5.3 PERFIL DO GENE <i>CHIT1</i> NO GRUPO 1: PACIENTES COM DIAGNÓSTICO PARA PCM	36
5.4 PERFIL DO GENE <i>CHIT1</i> NO GRUPO 2: PESQUISADORES QUE MANIPULARAM O FUNGO	36
5.5 PERFIL DO GENE <i>CHIT1</i> NO GRUPO 3: TRABALHADORES RURAIS	37
5.6 PERFIL DO GENE <i>CHIT1</i> NO GRUPO 4: INDIVÍDUOS SEM DIAGNÓSTICO CONFIRMADO PARA PCM	37
5.7 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS	37
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO	41
8 PERSPECTIVAS FUTURAS	41
REFERÊNCIAS	42
ANEXOS	49

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos eucariontes, pertencentes ao reino *Fungi*, que podem ser encontrados nos mais variados ambientes, são seres capazes de degradar matéria orgânica e podem existir como saprófitos, simbiontes, comensais ou parasitas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; OLIVEIRA; STARCK; OLIVEIRA, 2021). Existem mais de 100 mil espécies de fungos conhecidas, com cerca de 200 sendo responsáveis por causar doenças em humanos e animais (OLIVEIRA; STARCK; OLIVEIRA, 2021).

Na microbiologia médica os fungos ganharam muito destaque nas últimas décadas, principalmente devido ao aumento na incidência de infecções fúngicas oportunistas, provenientes do aumento de indivíduos imunossuprimidos (RAYENS; NORRIS, 2022). Em pacientes nestas condições as infecções fúngicas podem rapidamente se tornar graves e, conseqüentemente, resultar em alta taxas de morbidade e mortalidade (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; OLIVEIRA; STARCK; OLIVEIRA, 2021; RAYENS; NORRIS, 2022). De acordo com dados levantados pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), muitas das infecções oportunistas em pacientes HIV/AIDS são causadas por agentes fúngicos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2020).

As infecções fúngicas representam um problema relevante para a saúde global, de acordo com estimativas levantadas por Bongomin e colaboradores, as infecções fúngicas atingem mais de um bilhão de pessoas ao redor do mundo, levando a óbito cerca de 1,5 milhão por ano (BONGOMIN et al., 2017; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). No Brasil várias dessas infecções fúngicas acabam não entrando na lista das doenças com notificação compulsória, o que dificulta na precisão dos dados epidemiológicos (SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). Porém, com a ajuda de estudos como o realizado por Giacomazzi e colaboradores, estima-se que, no ano de 2016, mais de 3,8 milhões de brasileiros sofreram com infecções fúngicas graves (OLIVEIRA; STARCK; OLIVEIRA, 2021).

Desde o fim de 2019 o mundo passou por uma crise causada pelo novo coronavírus, nomeado SARS-CoV-2, foi o agente causador da pandemia de COVID-

19 (SOUZA et al., 2021). Com o avanço da pandemia, as infecções fúngicas aumentaram significativamente. Durante um estudo realizado por pesquisadores do CDC utilizando como base de dados, serviços de saúde dos Estados Unidos, entre os anos de 2020 e 2021, 13,4% das hospitalizações causadas por infecções fúngicas foram associadas à COVID-19, essas infecções associadas à COVID-19, tiveram um aumento de ≈ 2 vezes nas taxas de internação em UTI e de ≈ 4 vezes nas taxas de internação hospitalar (GOLD et al., 2023).

1.1 PARACOCCIDIOIDOMICOSE

A Paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica ocasionada por fungos de características termodimórficas, que possui como agente etiológico as espécies: *Paracoccidioides brasiliensis* (S1), *P. americana* (PS2), *P. restrepiensis* (PS3), *P. venezuelensis* (PS4), *P. lutzii*, *P. cetii* e *P. loboii* (TURISSINI et al., 2017; VILELA et al., 2021; WAGNER et al., 2021).

A PCM é endêmica na América Latina, com alta incidência nos países Sul Americanos (MENDES et al., 2017). A espécie *P. brasiliensis* como demonstrado pela Figura 1, pode ser encontrada no, Brasil, Argentina, Peru, Bolívia, Paraguai, Uruguai, Venezuela. Já a espécie *P. americana* é encontrada na Argentina, Brasil, Uruguai, Peru e Venezuela, a espécie *P. venezuelensis* é restrita à Venezuela. Já a espécie *P. loboii* podem ser encontradas em países localizados na bacia amazônica como o Brasil e Colômbia (RODRIGUES et al., 2023).

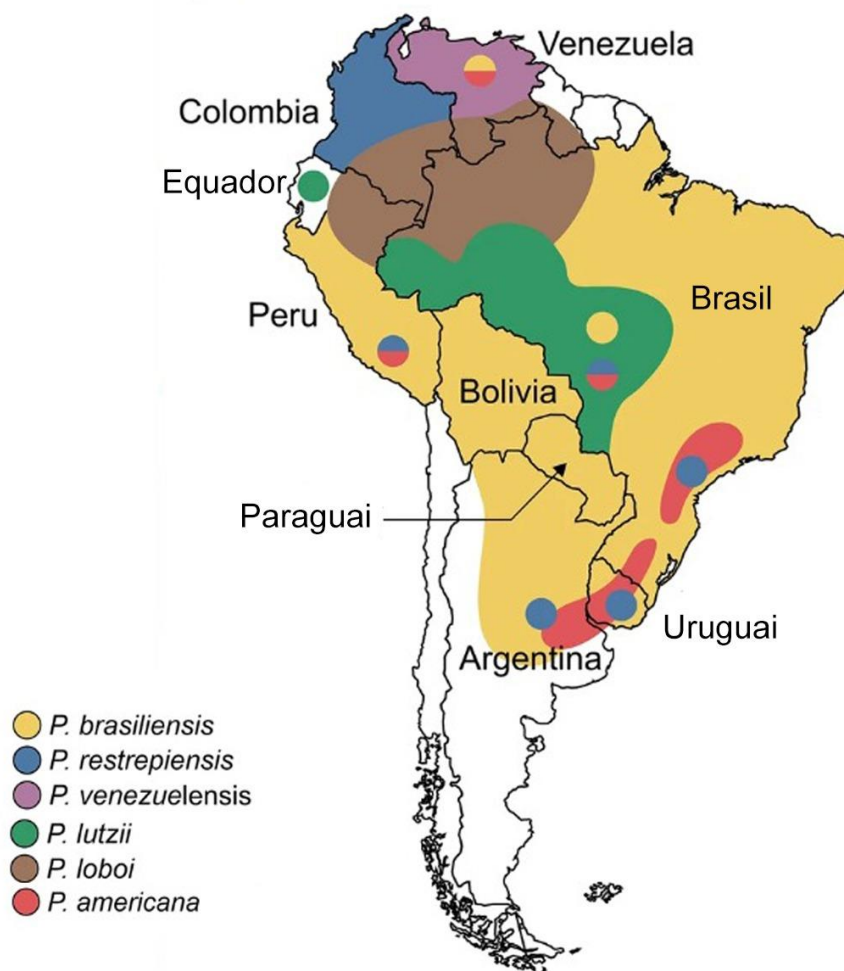


Figura 1: Distribuição geográfica das espécies de *Paracoccidioides* pela América Latina.

Fonte: Imagem adaptada de Rodrigues *et al.* (2023).

Os casos de PCM se estendem por toda a América Latina, do México à Argentina. Porém, a maioria dos casos se concentram no Brasil com cerca de 80% do total, seguido pela Colômbia, Venezuela, Equador e Argentina (MARTINEZ, 2015; PEÇANHA *et al.*, 2022). Há também registros de PCM fora da América Latina, tendo sido registrados mais de 100 casos na Europa, Estados Unidos, Canadá, África e Ásia. Esses casos correspondem a pacientes imigrantes ou viajantes de áreas endêmicas (PEÇANHA *et al.*, 2022).

Dentro do território brasileiro a incidência da PCM varia de 1 a 4 casos por 100.000 habitantes por ano, em áreas endêmicas presentes nas regiões Sul e Sudeste. Áreas de recente habitação no Norte do país, possuem maior incidência subindo para 9 a 40 casos por 100.000 habitantes (PEÇANHA et al., 2022). No ano de 2015 em um estudo realizado por Coutinho e colaboradores, no qual foi avaliada a morbidade hospitalar por PCM no Brasil no período de 1998 a 2006, foram registradas 6.732 internações hospitalares por PCM, com taxa de admissão de 4,3 internações por um milhão de habitantes (COUTINHO et al., 2015). Dados mais recentes mostram que a taxa de mortalidade está diminuindo nas regiões Sul e Sudeste do país e aumentando na região Norte e Centro Oeste (HAHN et al., 2022; PEÇANHA et al., 2022). É importante ressaltar que estes dados apresentados refletem apenas uma parte do panorama da PCM em áreas endêmicas, baseados principalmente em estudos de levantamentos epidemiológicos. A subnotificação emerge como um desafio substancial, uma vez que a notificação da doença não é compulsória em muitas regiões afetadas. A falta de obrigatoriedade na comunicação dos casos pode levar a uma subestimação significativa da verdadeira incidência da PCM.

Em áreas endêmicas, a PCM não apenas representa um desafio médico significativo, mas também exerce um impacto econômico e social abrangente. A cronicidade inerente à PCM impõe uma carga considerável aos sistemas de saúde locais, uma vez que os tratamentos prolongados e a necessidade de acompanhamento constante demandam quantias altas de recursos financeiros (SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). A longa duração do tratamento não apenas sobrecarrega os sistemas de saúde, mas também afeta diretamente a qualidade de vida dos pacientes, uma vez que a PCM frequentemente deixa sequelas que persistem mesmo após a finalização do tratamento, o que pode incapacitá-los para o trabalho e contribuir para um ciclo de pobreza em áreas já vulneráveis (MARTINEZ, 2006). Além disso, compreender a maneira como a PCM se propaga é fundamental para enfrentar seus desafios.

A infecção acontece através das vias respiratórias, quando há a inalação de partículas ou propágulos infectantes. Os propágulos invadem os bronquíolos terminais

e os alvéolos. A partir dessas áreas, se espalha utilizando as vias linfáticas principalmente para linfonodos, mucosa oral, laringe, pele, trato digestivo e sistema nervoso central (MENDES et al., 2017; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018; FRANZ et al., 2022).

A doença pode evoluir para as formas aguda/ subaguda, crônica e sequelar (Figura 2). A forma aguda/ subaguda, atinge principalmente crianças, adolescentes e adultos jovens, de ambos os sexos (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2018) e representa cerca de 5 a 25% dos casos, nesta forma, a doença tem rápida evolução, e alta disseminação do fungo para vários órgãos e sistemas. É característico desta forma o comprometimento do sistema fagocítico-mononuclear, sistema responsável por grande parte da imunidade celular, que compõem a defesa contra microorganismos. Nesta forma ocorre o surgimento de linfadenomegalia, ascite, e hepatoesplenomegalia, como é possível observar na (Figura 2A), além de sintomas digestivos, cutâneos e osteoarticulares, com presença de febre, perda de peso, anemia leve ou moderada e icterícia obstrutiva (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2018).

A forma crônica acomete principalmente adultos do sexo masculino na faixa etária entre 30 e 60 anos e constitui cerca de 74 a 96% dos casos, a PCM tende a se desenvolver de modo silencioso nesta forma, o que pode levar o diagnóstico ser feito depois de anos de infecção (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2018). A forma crônica pode se apresentar restrita a somente um órgão, chamada de unifocal, com até 25% dos casos afetando somente os pulmões, ou se apresentar como multifocal, acometendo vários órgãos simultaneamente, tais como pulmões, mucosas e pele (Figura 2B), sendo estes os locais mais atingidos pela infecção (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006; WANKE; AIDÊ, 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). Nesta forma da doença, é comum o comprometimento pulmonar, das vias aerodigestivas superiores e da pele, com o surgimento de fraqueza, emagrecimento, febre, tosse, dispneia, infiltrado reticulonodular e hipertransparência distal bibasal (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006; WANKE; AIDÊ, 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018).

A doença pode evoluir para a chamada forma residual ou sequelar (Figura 2C), caracterizada pela presença de alterações anatômicas e funcionais causadas pelas cicatrizes ao fim do tratamento. Pode ocorrer surgimento de sequelas cutâneas responsáveis pelo aparecimento de alterações estéticas e da mucosa oral, e possivelmente o aparecimento da microstomia, uma redução na abertura oral decorrente de cicatrização hipertrófica, um processo anormal de cicatrização que é formado devido a deposição excessiva de matriz extracelular, em especial o colágeno (WANKE; AIDÊ, 2009; BORGES; VIEIRA; BARRETO, 2011; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). As sequelas podem se apresentar como lesões cicatriciais nas vias aéreas superiores, dispneia proveniente da fibrose e enfisema pulmonar. As sequelas fibróticas alteram a função respiratória dos pacientes dificultando até mesmo, a realização de atividades normais do cotidiano (TOBON et al., 2003; WANKE; AIDÊ, 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017).

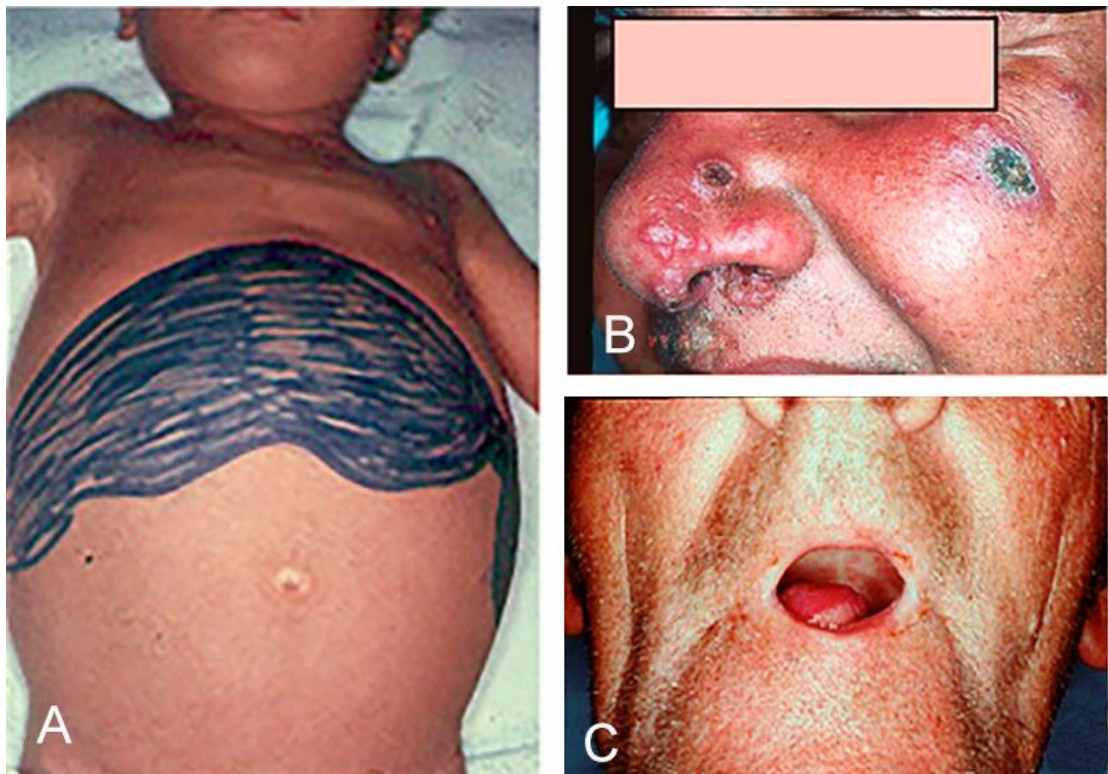


Figura 2: imagens representando as formas clínicas da paracoccidiodomicose. Forma aguda/subaguda (A), paciente com acometimento linfático-abdominal, ascite (condição caracterizada pelo acúmulo de líquido livre com origem patológica na região da cavidade abdominal), e hepatoesplenomegalia (condição na qual ocorre o aumento do tamanho do fígado e do baço). Forma crônica (B), paciente apresentando lesões cutâneas papulosas e ulcerocrostosas na face. Forma sequelar (C), paciente apresentando microstomia como resultado das lesões periorais.

Fonte: Imagem adaptada de Shikanai-Yasuda et al. (2017).

O desenvolvimento da infecção depende de vários fatores como a quantidade de inóculos, a patogenicidade, a virulência do fungo e o estado imunológico dos indivíduos (WANKE; AIDÊ, 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). Profissões nas quais faz parte o manejo do solo, constitui um alto fator de risco para a aquisição da infecção, já que o fungo está presente no solo de forma comensal em áreas endêmicas (MARTINEZ, 2006; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018).

Indivíduos imunodeprimidos também compreendem um alto fator de risco, já que a PCM é uma doença que tem caráter oportunista nestes pacientes, afetando cerca de 1,5% dos casos de AIDS no Brasil. Em pacientes infectados pelo *Paracoccidioides* spp. juntamente ao HIV, as lesões e o avanço da doença tendem a evoluir mais rapidamente, o que pode levar o paciente a óbito (WANKE; AIDÊ, 2009; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018).

O controle da infecção depende principalmente da resposta imune celular do hospedeiro, tendo como mediador os linfócitos T. Indivíduos infectados que não desenvolvem a doença, apresentam resposta imune do tipo T-helper 1 (Th), com produção de citocinas que ativam macrófagos e linfócitos TCD4+ e TCD8+. Essa resposta imune é caracterizada pelo controle da replicação do fungo, por meio da formação de granulomas compactos (RAMOS-E-SILVA; SARAIVA, 2008; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018; WAGNER et al., 2021).

Em indivíduos que apresentam a forma crônica, a resposta Th-1 é deficiente, ocorrendo as respostas do tipo Th-17 e Th-22, que promovem resposta inflamatória de mucosas e intensa participação de neutrófilos. Nesta resposta imune também ocorre a formação de granulomas que restringem o fungo (BENARD et al., 2001; DE

CASTRO et al., 2013; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). As formas mais graves como a forma aguda, também são caracterizadas pela deficiência em Th-1, com predomínio da resposta Th-2 e Th-9, ativação de linfócitos B, e altos títulos de anticorpos (BENARD et al., 2001; DE CASTRO et al., 2013; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). Um dos fatores de risco mais importantes são as profissões ou atividades relacionadas ao manejo do solo contendo o fungo, como as atividades agrícolas, preparo do solo, terraplanagem (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017).

O sexo masculino também é considerado fator de risco já que é predominante mais afetado pela doença, isso ocorre pelo efeito protetor que o hormônio β estradiol confere às mulheres, apesar de possuírem a mesma capacidade de ser infectadas que os homens, os hormônios estrogênicos são capazes de afetar a transição do micélio para levedura. Outro fator importante é a capacidade destes hormônios em aumentar a secreção de interferon- γ e também os níveis de células Th1, além de diminuir os níveis de interleucina (IL) -10 (BRITO et al., 2021; TRINDADE et al., 2022).

1.1.1 AGENTE ETIOLÓGICO

Os fungos *Paracoccidioides* spp. quando em temperatura ambiente se apresentam na forma micelial (Figura 3A), encontrada no ambiente, principalmente *In vitro*. Quando estão a 37 °C se desenvolvem na forma de leveduras esféricas. mesma forma encontrada nos tecidos humanos infectados (Figura 3B) (PALMEIRO et al., 2005; GÓES et al., 2014). A forma micelial quando observada microscopicamente, é caracterizada pela presença de hifas finas e septadas, que podem apresentar artroconídios infecciosos, que variam de tamanho e abundância, conforme as espécies crípticas do *Paracoccidioides* spp. (GÓES et al., 2014; BOSCO; BAGAGLI, 2018). A forma leveduriforme é caracterizada pela presença de células arredondadas medindo entre 6 e 30 μm de diâmetro, com paredes celulares espessas, birrefringentes, com presença de brotamentos que variam em número e tamanho (GÓES et al., 2014; BOSCO; BAGAGLI, 2018). A presença de células grandes,

cercadas por numerosos brotamentos, é conhecida comumente como “roda-de-leme” ou “timão” (PALMEIRO et al., 2005; BOSCO; GÓES et al., 2014; BAGAGLI, 2018).

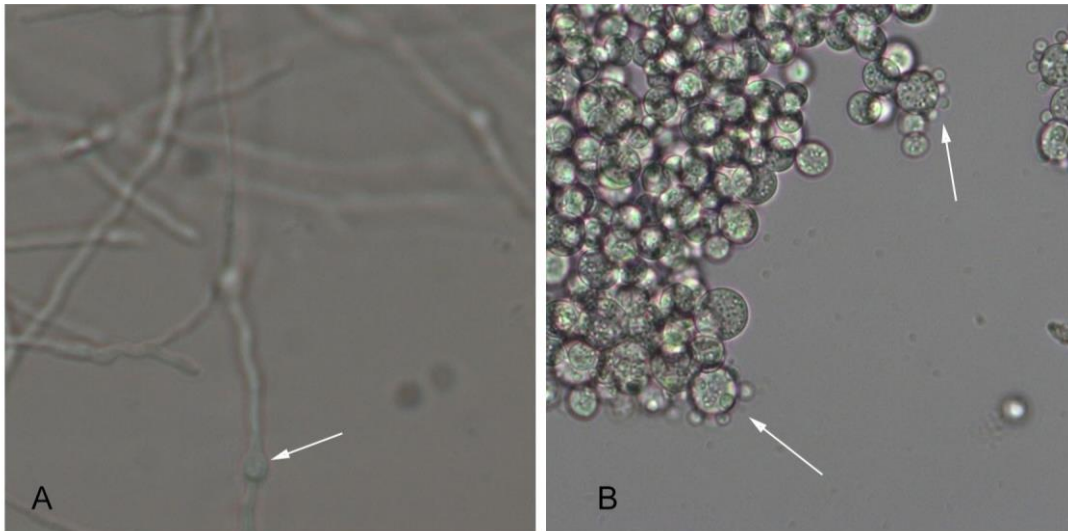


Figura 3: Imagens das formas morfológicas do fungo *Paracoccidioides spp.* (A) Forma micelial, que se apresenta em temperatura ambiente, em torno de 24 °C, com destaque para presença de artroconídio, indicado pela seta branca. Imagem obtida a partir do aumento 400 \times . (B) Forma leveduriforme, que se apresenta em temperatura de 36 °C, com presença de leveduras em brotamento, indicadas pelas setas, conhecidas como roda-de-leme. Imagem obtida a partir do aumento 400 \times . Fonte: Imagens cedidas pela Dra. Lívia do Carmo Silva (Laboratório de Genética Molecular e Citogenética da Universidade Federal de Goiás – LGMC/UFG).

O *Paracoccidioides spp.* assim como outros fungos, possuem a parede celular constituída por polissacarídeos, proteínas e lipídios. A parede celular passa por constante mudança em sua composição e organização estrutural. O termodimorfismo é um importante fator para que essas mudanças ocorram garantindo ao fungo a capacidade de se adaptar a nichos ecológicos distintos (SAN-BLAS et al., 2000; TEIXEIRA et al., 2014).

Entre os polissacarídeos presentes na parede celular dos fungos se destaca a quitina, um polímero formado por N-acetilglucosamina ligada a β -1.4 (GlcNAc) (SANTANA et al., 2012; ARANTES et al., 2015), componente essencial, que garante integridade estrutural à parede celular do *Paracoccidioides spp.* (SCHÜTTELKOPF et

al., 2010). Na forma micelial, é menos abundante que os polissacarídeos glucanos. Porém, durante a forma leveduriforme, a quitina representa quase metade do peso total da parede celular (FREE, 2013; CHAVES et al., 2021). No *P. brasiliensis* a quitina presente na parede celular, pode variar de 7-18% em hifas e de 37-48% em leveduras (SANTANA et al., 2012). A rigidez da quitina acaba dificultando nos processos de divisão celular e morfogênese. Em resposta a isto, os fungos são capazes de produzir enzimas chamadas de quitinases, que conseguem hidrolisar parcialmente a camada de quitina (SCHÜTTELKOPF et al., 2010).

1.1.2 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

O diagnóstico da PCM é feito a partir da identificação de elementos fúngicos indicativos da presença de *Paracoccidioides* spp., por meio de exame a fresco de escarro, raspado de lesão, aspirado de linfonodos, e até mesmo de biopsia de órgãos acometidos (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017, 2018). Podendo ser realizado também o isolamento fúngico por meio de cultura, exames hematológicos, sorológicos, de detecção de antígenos, de biologia molecular, funcionais e de imagem (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2017).

O tratamento da PCM depende de vários fatores, como o estado imunológico dos pacientes, idade, avaliação das lesões e a forma clínica (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2017). Os antifúngicos mais utilizados são, itraconazol, o cotrimoxazol (associação sulfametoxazol/trimetoprim) e a anfotericina B (MALUF et al., 2003; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). Para as formas mais leves e moderadas o itraconazol é o mais recomendado. A duração do tratamento com esse fármaco pode variar de 9 a 18 meses, sendo essencial a avaliação dos critérios de cura clínicos, imunológicos e radiológicos (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2017, 2018).

O itraconazol pertence a classe dos azóis, é um fármaco antifúngico que exerce ação fungistática (MARTINEZ, 2006; SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). Age diretamente sobre as enzimas do citocromo P450 dos fungos, ocasionando o bloqueio da demetilação do lanosterol e também da síntese do ergosterol (MARTINEZ, 2006;

LEWIS, 2011). Sua ação é responsável pela alteração da membrana fúngica (Figura 4), por modificar a síntese de lipídeos e inativar as enzimas que participam do processo oxidativo dos fungos (LEWIS, 2011; MARTINEZ, 2006).

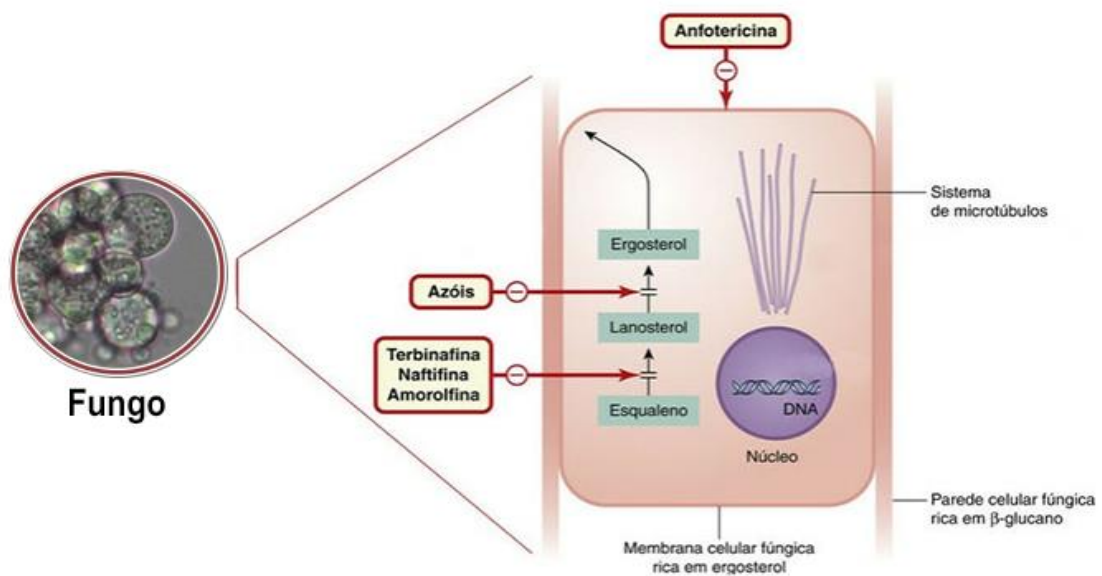


Figura 4: Imagem representando os locais de ação dos principais antifúngicos utilizados no tratamento da PCM. A anfotericina B age diretamente na membrana celular fúngica, interferindo na permeabilidade e as funções de transporte, formando poros na membrana. Os azóis agem inibindo a enzima fúngica responsável pela conversão do lanosterol em ergosterol, o principal esterol na membrana celular fúngica. Fonte adaptada: Rang e Dale., 2012.

O co-trimoxazol, associação de sulfametoxazol e trimetoprim, vem sendo empregado no Brasil com distribuição gratuita pelo sistema único de Saúde (MALUF et al., 2003; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). Porém, a principal desvantagem do uso do cotrimoxazol é o tempo de tratamento, sendo necessário tratamentos de longa duração, com mais de 12 meses de uso em casos leves e moderados (MALUF et al., 2003; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2018).

Para as formas graves e disseminadas, a anfotericina B em desoxicolato ou em formulação lipídica (lipossomal ou em complexo lipídico) é o mais recomendado

Saúde (MALUF et al., 2003; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). Porém, devido a ação nefrotóxica da anfotericina B, a duração do tratamento é limitada, visando à estabilidade clínica do paciente. O tratamento deve ocorrer no menor tempo possível, com a média de duas a quatro semanas (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2018). A anfotericina B é um fármaco fungicida que se liga ao ergosterol, que está presente na membrana fúngica, sendo capaz de alterar a permeabilidade e ocasionar a perda de constituintes citoplasmáticos. Ocorre assim uma lesão oxidativa, que prejudica o funcionamento celular (MARTINEZ, 2006; SHIKANAI-YASUDA et al., 2006, 2018). Devido a composição da parede celular fúngica, novas abordagens ao tratamento de infecções fúngicas vêm sendo discutidas, como o uso de quitinases.

1.2 QUITINASES

As quitinases são enzimas capazes de hidrolisar as ligações β -1,4-glicosídicas presentes na quitina (Figura 5) (YOO; CHOI, 2014). Possuem tamanhos que variam entre 20 kDa a 90 kDa (HAMID et al., 2013). É uma enzima que está presente em vários organismos, como as bactérias, fungos, vírus, plantas e mamíferos (RATHORE; GUPTA, 2015).

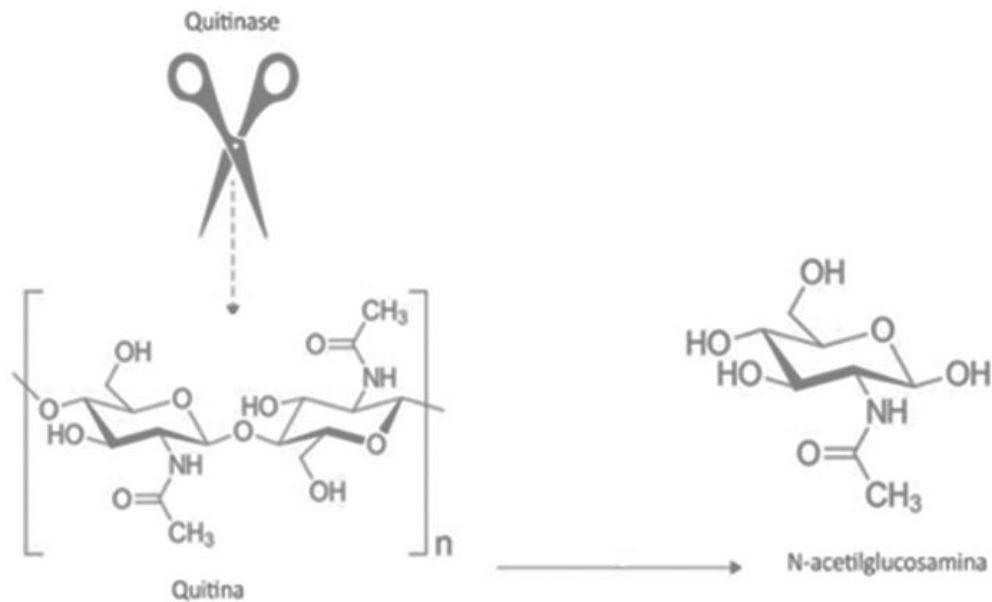


Figura 5: Imagem ilustrativa representando a capacidade das quitinases em romper as ligações β -1,4 da quitina, liberando assim (GlcNAc). Fonte adaptada: Chang *et al.* 2020.

As quitinases podem ser classificadas de acordo com os seus locais de clivagem (DU *et al.*, 2021). As endoquitinases que clivam os sítios internos da quitina de forma aleatória, e conseqüentemente acabam formando o dímero dicetilquitobiose e múltiplos solúveis de baixa massa molecular de GlcNAc, como a quitotriose e a quitotetraose (HAMID *et al.*, 2013; CARDOZO *et al.*, 2019). E as exoquitinases que podem ser subdivididas em duas subcategorias: as quitobiosidases, que começam clivando a extremidade não redutora da microfibrila de quitina, participando na liberação progressiva de diacetilquitobiose (HAMID *et al.*, 2013) e as 1-4- β -glucosaminidases que clivam os produtos oligoméricos das endoquitinases e quitobiosidases que conseqüentemente geram monômeros de GlcNAc (COTTAZ; BRASME; DRIGUEZ, 2000; HAMID *et al.*, 2013).

Outra forma de classificar as quitinases é de acordo com a sua sequência de aminoácidos, agrupando-as em três famílias diferentes (18, 19 e 20) (VELIZ; MARTÍNEZ-HIDALGO; HIRSCH, 2017; SINGH; SINGH; PANDEY, 2019). Com as

famílias 18 e 19 subdivididas em classes (Tabela 1). As classes I, II e IV fazendo parte da família 19 enquanto as classes III e V a família 18 (HAMID et al., 2013; RATHORE; GUPTA, 2015).

Tabela 1: Classificação das quitinases de acordo com a sua ocorrência em diferentes organismos. A família 18 engloba as classes I, II e IV, e inclui as quitinases de vírus, bactérias, fungos, animais e plantas. A família 19 engloba as classes III e V, e inclui quitinases de plantas e bactérias do gênero *Streptomyces sp.* A família 20 inclui quitinases encontradas em bactérias fungos e humanos. Fonte: Rathore et al. 2015.

Classificação	Ocorrência	Classes
Família 18	Vírus, Bactérias, Fungos, Animais e Plantas	I, II e IV
Família 19	Plantas e <i>Streptomyces sp</i>	III e V
Família 20	Bactérias, Fungos e Humanos	-

As quitinases desempenham funções distintas nos diferentes organismos. Nas plantas, as quitinases demonstram participar na defesa contra patógenos, estando presentes nos caules, sementes, flores e tubérculos (PATIL; GHORMADE; DESHPANDE, 2000; KUMAR; ZHANG, 2019). Estudos demonstram que o aumento na expressão de genes de quitinases garante à planta maior resistência a agentes agressores, como os fungos e insetos (BOAVA et al., 2010; KUMAR; ZHANG, 2019).

Nas bactérias, a função das quitinases está relacionada com a obtenção de energia, sendo essas enzimas secretadas durante o processamento e digestão de macromoléculas contendo ligações glicosídicas (BHATTACHARYA; NAGPURE; GUPTA, 2007). As quitinases bacterianas participam da degradação de quitina liberando carbono e nitrogênio, elementos essenciais para esses microrganismos (BHATTACHARYA; NAGPURE; GUPTA, 2007; RATHORE; GUPTA, 2015).

Para os fungos, as quitinases tem importância na degradação e síntese da parede celular (morfogênese) (DAHIYA; TEWARI; HOONDAL, 2006). Além de participarem na germinação de esporos, crescimento de hifas e ramificação,

desenvolvimento de micélio e estruturas, separação celular e parasitismo (LOPES et al., 2008; IKEDA; KAKIZAKI; MATSUMIYA, 2017).

Nos animais vertebrados, as quitinases podem ser encontradas em vários órgãos e tecidos, como por exemplo no trato digestivo de peixes que possuem como fonte de alimentação crustáceos e insetos. As quitinases neste caso, participam do metabolismo de carboidratos nestes animais (VEGA; KALKUM, 2012; IKEDA; KAKIZAKI; MATSUMIYA, 2017). Os humanos expressam duas quitinases ativas: quitotriosidase (CHIT-1) e quitinase ácida de mamíferos (AMCase) (CSONGRÁDI et al., 2021). Nos mamíferos a função fisiológica dessas enzimas está relacionada principalmente com a defesa contra patógenos e parasitas que possuem a quitina em sua composição (VEGA; KALKUM, 2012; CSONGRÁDI et al., 2021).

1.2.1 QUITOTRIOSIDASE

A CHIT-1 é classificada como quitinase pertencente à família 18. Possui duas formas principais: uma predominante na circulação sanguínea com 50 kDa e outra predominante nos tecidos com 39 kDa (FUSETTI et al., 2002; ELMONEM; VAN DEN HEUVEL; LEVTCHENKO, 2016). Inicialmente, a CHIT-1 foi classificada como uma exoquitinase devido à sua capacidade de hidrolisar resíduos de quitotriose; porém, recentemente estudos revelaram que a enzima possui mais características de endoquitinase do que exoquitinases (ELMONEM; VAN DEN HEUVEL; LEVTCHENKO, 2016).

Nos humanos, os macrófagos e neutrófilos são responsáveis pela síntese de CHIT-1 e, mediante a uma estimulação apropriada, como a exposição a quitina, um potente ativador da expressão da quitotriosidase, que pode ocorrer através da fagocitose pelo macrófago de quitina presente na paredes celulares de diferentes fungos e protozoários. (ELMONEM; VAN DEN HEUVEL; LEVTCHENKO, 2016). os macrófagos teciduais humanos são capazes de produzir grandes quantidades de enzima (BOOT et al., 2005; ELMONEM; VAN DEN HEUVEL; LEVTCHENKO, 2016;

KUUSK; SØRLIE; VÄLJAMÄE, 2017). Além da associação da CHIT-1 com a imunidade inata, esta enzima é considerada um biomarcador da ativação de macrófagos, que pode estar aumentado em várias doenças lisossômicas de armazenamento de lipídios como a doença de Gaucher, doença de Niemann-Pick, galactosialidose e doença de armazenamento de éster de colesterol (ELMONEM; VAN DEN HEUVEL; LEVTCHENKO, 2016; KIMURA et al., 2020).

O gene *CHIT1* é o responsável por codificar a enzima CHIT-1, esse gene está localizado no cromossomo 1q32 (GORDON-THOMSON et al., 2009). Engloba 12 exons e mede aproximadamente 20 kb. O polimorfismo neste gene, principalmente a duplicação de 24 bp no éxon 10, uma deficiência herdada recessivamente, representado na Figura 6, vem sendo associado a síntese de proteína não funcional, devido a deleção de dois aminoácidos 344-372 (ELMONEM; VAN DEN HEUVEL; LEVTCHENKO, 2016; MAVRIKIOU et al., 2016). A presença desse polimorfismo promove a deleção *in-frame* (remoção de uma ou mais bases sem alteração do quadro de leitura), de 87 nucleotídeos e a produção de um mRNA anormal (GORDON-THOMSON et al., 2009; MAVRIKIOU et al., 2016).

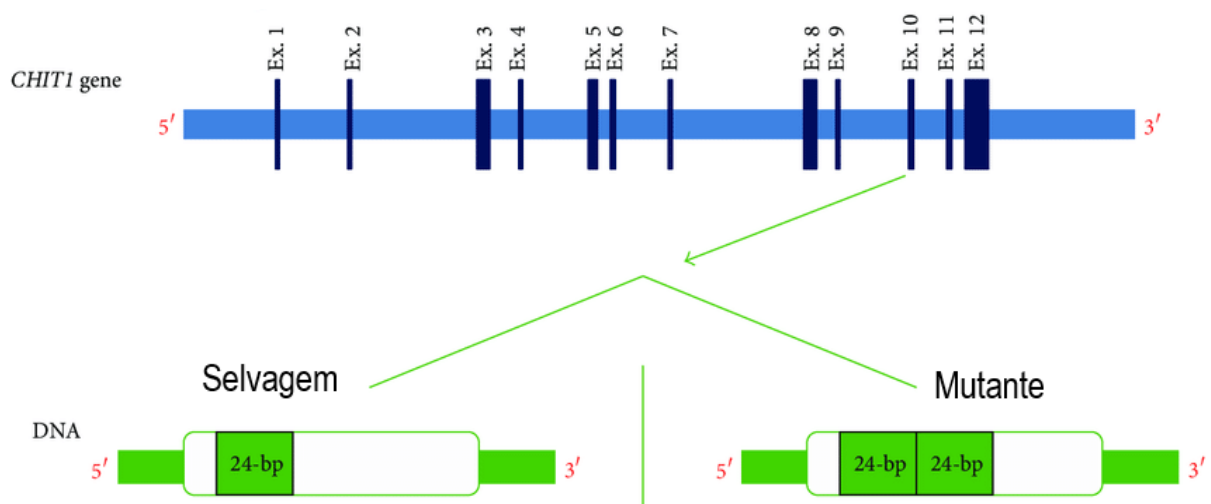


Figura 6: Representação esquemática da duplicação de 24 bp no éxon 10 presente no gene *CHIT1*.

Fonte adaptada: Elmonem *et al.* 2016.

Estudos, como o realizado por Boot *et al.* (1998), indicam que os macrófagos de sangue periférico, de indivíduos que possuem deficiência para CHIT-1, possuem muito pouco mRNA e quase nenhuma secreção desta proteína (BOOT *et al.*, 1998). Em indivíduos homocigotos para essa duplicação, a enzima chega a ser totalmente inativa (PIRAS *et al.*, 2007; OBER; CHUPP, 2009).

A literatura enfatiza que indivíduos portadores do alelo mutante exibem uma maior suscetibilidade a patógenos contendo quitina. Estes achados ressaltam que CHIT1 é uma enzima com importância para regular a suscetibilidade à infecção com os organismos que contêm quitina como componentes estruturais (KANNEGANTI, 2012). Em estudos com crianças com asma grave e sensibilização fúngica, foi possível observar a presença da duplicação dos 24 pb no éxon 10, tanto a forma homocigota quanto a heterocigota do polimorfismo (VICENCIO *et al.*, 2010).

Overdijk *et al.* (1996) ao observar cobaias infectadas com *Aspergillus fumigatus* identificaram aumento nos níveis de quitinases com decorrer do tempo (OVERDIJK; VAN STEIJN; ODDS, 1996). Hector *et al.* (2016) observaram que pacientes com fibrose cística colonizados por *Candida albicans* também apresentaram níveis elevados de quitinase. Assim como pacientes que possuíam alguma deficiência de CHIT-1 proveniente de mutações genéticas, tiveram a maior suscetibilidade a infecção por *C. albicans* (HECTOR *et al.*, 2016). Por meio de estudo foi descoberto que concentrações de CHIT-1 humana recombinante era capaz de inibir o crescimento do fungo *Cryptococcus neoformans in vitro*, degradando a sua parede celular (GORDON-THOMSON *et al.*, 2009).

Eijk *et al.* (2005) demonstraram que a CHIT-1 pode exercer atividade quitinolítica nos fungos *C. neoformans*, *Mucor rouxii* e *C. albicans*, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Nos experimentos *in vivo* os autores relataram que camundongos com candidíase e aspergilose tratados com injeção via intraperitoneal, contendo CHIT-1 recombinante humana, tiveram aumento considerável na sobrevivência (VAN EIJK *et al.*, 2005).

Além de infecções fúngicas, a duplicação dos 24 pb no éxon 10, também parece aumentar a suscetibilidade a infecções por outros patógenos que contêm quitina,

como foi observado por Pant e colaboradores em pacientes com quilúria filarial (CHOI et al., 2001). Na Índia, Choi e colaboradores relataram que pacientes com a duplicação dos 24 pb no éxon 10, eram mais suscetíveis à infecção por *Wuchereria bancrofti* (CHOI et al., 2001).

2. JUSTIFICATIVA

A PCM é uma doença que possui alta incidência na América Latina, representando para essa região um grande desafio médico, social e econômico. A cronicidade da doença e os tratamentos prolongados, com necessidade de monitoramento, são fatores que levam a grandes gastos pela saúde pública destes países. Além dos impactos financeiros, os tratamentos prolongados são responsáveis pela desistência por parte dos pacientes, afetando diretamente a qualidade de vida dos mesmos, já que a PCM é capaz de deixar sequelas persistentes, os incapacitando de realizar suas atividades laborais e cotidianas.

Diversos fatores de risco têm sido identificados como contribuintes para a suscetibilidade a PCM, incluindo condições imunossupressoras, exposição ocupacional a ambientes rurais ou manejo do solo e hábitos como tabagismo e etilismo. Contudo, apesar do avanço no entendimento desses fatores, a investigação das bases genéticas subjacentes à suscetibilidade a infecções fúngicas tem emergido como uma área que demanda atenção.

Dentre os genes que têm despertado interesse, destaca-se o gene *CHIT1*, responsável pela codificação da quitotriosidase. Esta enzima, conhecida por sua participação na degradação da quitina, tem sido alvo de investigações como um possível fator de suscetibilidade a doenças fúngicas. Já que a quitina é um componente essencial, presente na parede celular dos fungos. A parede celular é muito importante para virulência e patogenicidade dos fungos, fornecendo

propriedades adesivas que auxiliam a invasão ao tecido do hospedeiro além de garantir proteção aos mecanismos de defesas de seu hospedeiro.

Polimorfismos presentes nesse gene, principalmente a duplicação de 24pb no éxon 10, parecem indicar que indivíduos portadores do alelo mutante para esse polimorfismo possuem a síntese de enzima não funcional, como evidenciado nos trabalhos de Boot e colaboradores. Embora os humanos não possuam quitina em seus tecidos, as quitinases humanas, incluindo a CHIT-1, são amplamente distribuídas em diferentes órgãos, desempenhando funções diversas que transcendem a mera resposta à presença de fungos.

Neste contexto a compreensão do polimorfismo de *CHIT1* como um potencial modulador genético na suscetibilidade a essa doença fúngica abre novas perspectivas para a compreensão da interação entre o polimorfismo de *CHIT1* e a PCM. Ao abordar essa lacuna no conhecimento, visamos contribuir para o desenvolvimento de estratégias mais refinadas no manejo clínico da PCM, considerando não apenas os fatores externos, mas também a predisposição genética como elemento fundamental na abordagem preventiva e terapêutica dessa importante doença fúngica. Dentre essas estratégias se destaca o uso de um medicamento mais eficiente para o combate à doença, mesmo que seu custo seja superior. O aconselhamento genético é uma estratégia que pode ser utilizada pelos médicos para esclarecer o paciente e a família dos recursos de tratamento, além de esclarecer como a herança deste polimorfismo pode contribuir para o desenvolvimento da PCM.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Rastrear o polimorfismo do gene *CHIT1* entre grupos de risco à infecção fúngica Paracoccidioidomicose, como, pacientes diagnosticados com paracoccidioidomicose, trabalhadores rurais, pesquisadores que tiveram contato com o fungo e indivíduos sem confirmação para a doença.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Obter amostras de DNA de pacientes diagnosticados com paracoccidioidomicose (PCM), e de indivíduos sem diagnóstico confirmado, tais como pesquisadores que foram expostos ao fungo durante suas atividades laborais, trabalhadores rurais e da comunidade acadêmica;
- b) Extrair o DNA das amostras;
- c) Isolar o DNA e amplificar o gene *CHIT1*;
- d) Investigar a frequência genotípica da duplicação de 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1* em pacientes diagnosticados com PCM, em indivíduos que foram expostos ao fungo como trabalhadores rurais e pesquisadores e em indivíduos sem diagnóstico confirmado para PCM;
- e) Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes diagnosticados com PCM;
- f) Verificar se a presença da duplicação de 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1* é fator de risco para o desenvolvimento da PCM.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Foram incluídos nessa pesquisa 138 indivíduos, divididos em quatro grupos. Grupo I: incluiu cinco pacientes atendidos no Hospital Estadual de Doenças Tropicais – Dr. Anuar Auad (HDT) em Goiânia com diagnóstico confirmado para a PCM, os quais apresentaram cultura positiva para *Paracoccidioides* spp. Esses pacientes possuem o diagnóstico confirmado para a PCM de acordo com a Classificação Estatística Internacional de Doenças (CID): CID10-B41 (Paracoccidioidomicose), CID10-B41.0 (Paracoccidioidomicose pulmonar), CID10-B41.7 (Paracoccidioidomicose disseminada), CID10-B41.8 (outras formas de Paracoccidioidomicose); CID10-B41.9 (Paracoccidioidomicose não especificada), independente de terem iniciado ou não a terapia antifúngica.

Grupo II: incluiu 10 pesquisadores que durante suas pesquisas manipularam o fungo e sem diagnóstico confirmado para PCM.

Grupo III: incluiu 20 trabalhadores rurais sem diagnóstico confirmado para PCM, considerados grupo de risco por ter contato direto com o solo que pode estar contaminado com conídios de *Paracoccidioides* spp.

Grupo IV: foi formado por 103 pessoas sem diagnóstico confirmado para PCM.

O critério de inclusão dos indivíduos no estudo foi a sua concordância em participar do estudo pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e serem pertencentes aos grupos da pesquisa. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Goiás, com o número de protocolo 4.726.745.

4.2 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

Para a identificação do polimorfismo do gene *CHIT1*, foram coletados 4 mL de sangue através de punção venosa em tubos contendo EDTA. As amostras foram transportadas até o laboratório em caixa térmica refrigerada, sendo armazenadas a 80 °C até o momento das análises.

4.3 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração do DNA foi realizada a partir de uma alíquota de 300 µL de sangue total contendo EDTA, utilizando o kit Wizard® *Genomic DNA Purification* (Promega) de acordo com o protocolo sugerido pelo fabricante. Para verificação da integridade do DNA, foi realizado eletroforese em gel de agarose a 2,0 % com o corante SYBR® *Safe DNA Gel Stain* (Thermo Fisher Scientific) (0,5 mg/mL) em tampão TBE em cuba de eletroforese (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, EUA), para aplicar a alta tensão foi utilizando a fonte (Eletrophoresis Power Supply EPS. 601, Amersham Pharmacia Biotech).

A visualização das bandas formadas pareadas com marcador de peso molecular de 50 pb (DNA Ladder, Ludwig Biotecnologia) foi feita sob luz UV. A captura das imagens foi realizada por meio de um fotodocumentador (Electronic UV Transilluminator, Ultra-Lum). A quantificação do DNA foi realizada empregando o fluorímetro NanoDrop ND-1000® (Thermo Fisher) de acordo com as informações do próprio fabricante. Posteriormente, o DNA foi armazenado a -80 °C até o momento das análises.

4.4 IDENTIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO NO GENE *CHIT1*

A identificação do polimorfismo no gene *CHIT1* foi realizada seguindo a metodologia descrita por Manno et al (2014), analisando a presença da duplicação de 24 pb no *éxon* 10. Para isso, foram utilizados os primers *forward* 5'- CCTGTCCAGAAGAGGTAGCC-3' e *reverse* 5'- CCTCCAAATTCCACCACTG-3'. A reação total foi de 25 µL, composta por Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen) (5U), 50 mM buffer de MgCl₂, 2,5 µM de Primer Forward, 2,5 µM de Primer reverse, 10 mM de dNTPs (Thermo Fisher Scientific), 150 µg de DNA.

A amplificação foi realizada em termociclador empregando a seguinte programação: Desnaturação inicial 94 °C durante 4 min, seguidos de 10 ciclos [Desnaturação (94 °C por 40 s), Anelamento (69 a 71 °C por 40 s), Extensão (72 °C por 40 s)], seguidos por 33 ciclos de 94 °C por 40 s, 60 °C por 40 s, 72 °C por 40 s, e uma extensão final a 72 °C por 7 min. O resultado da amplificação foi visualizado

mediante eletroforese em gel de agarose a 2,0% sob luz UV sendo fotografado com auxílio de um fotodocumentador.

Bandas de 249 pb indicam a presença do alelo selvagem, por ser um polimorfismo no qual ocorre a duplicação de 24 pb, bandas de 273 pb indicam o alelo mutante. Indivíduos homocigotos para o alelo selvagem apresentaram somente uma banda de 249 pb, indivíduos homocigotos para o polimorfismo apresentaram somente uma banda de 273 pb, já indivíduos heterocigotos para o polimorfismo apresentaram uma banda de 249 pb e uma banda de 273 pb.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As frequências genotípicas e alélicas foram determinadas por contagem. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi analisado por meio do teste Qui-quadrado ($p > 0,05$). Sendo este teste necessário para verificar se a população estudada segue os princípios da genética de populações.

5. RESULTADOS

5.1 Interpretação dos resultados

No total foram analisadas amostras de 138 indivíduos, agrupados em 4 grupos. Os resultados da PCR de todas as amostras foram visualizados em gel de agarose a 2%, o qual por meio do tamanho do amplicon, foi possível determinar a presença dos alelos do tipo selvagem e do mutante; Na Figura 7 estão representadas algumas amostras indicando as possíveis visualizações das bandas das regiões amplificadas. A figura 7A apresenta os perfis genotípicos do homocigoto selvagem, caracterizado por dois alelos do tipo selvagem e presença de somente uma banda de 249 pb (*lane* 01) e o perfil genotípico do homocigoto mutante, com a presença de dois alelos mutantes, caracterizado por somente uma banda de 273 pb (*lane* 2), indicando a adição de 24 pb em função da sua duplicação.

Na Figura 7 B, está indicada a visualização do heterocigoto, ou seja, o terceiro perfil possível, o qual possui a presença de um alelo selvagem e um alelo mutante. É

caracterizado pela presença de duas bandas uma de 249 pb e uma de 273 pb (*lane* 02).

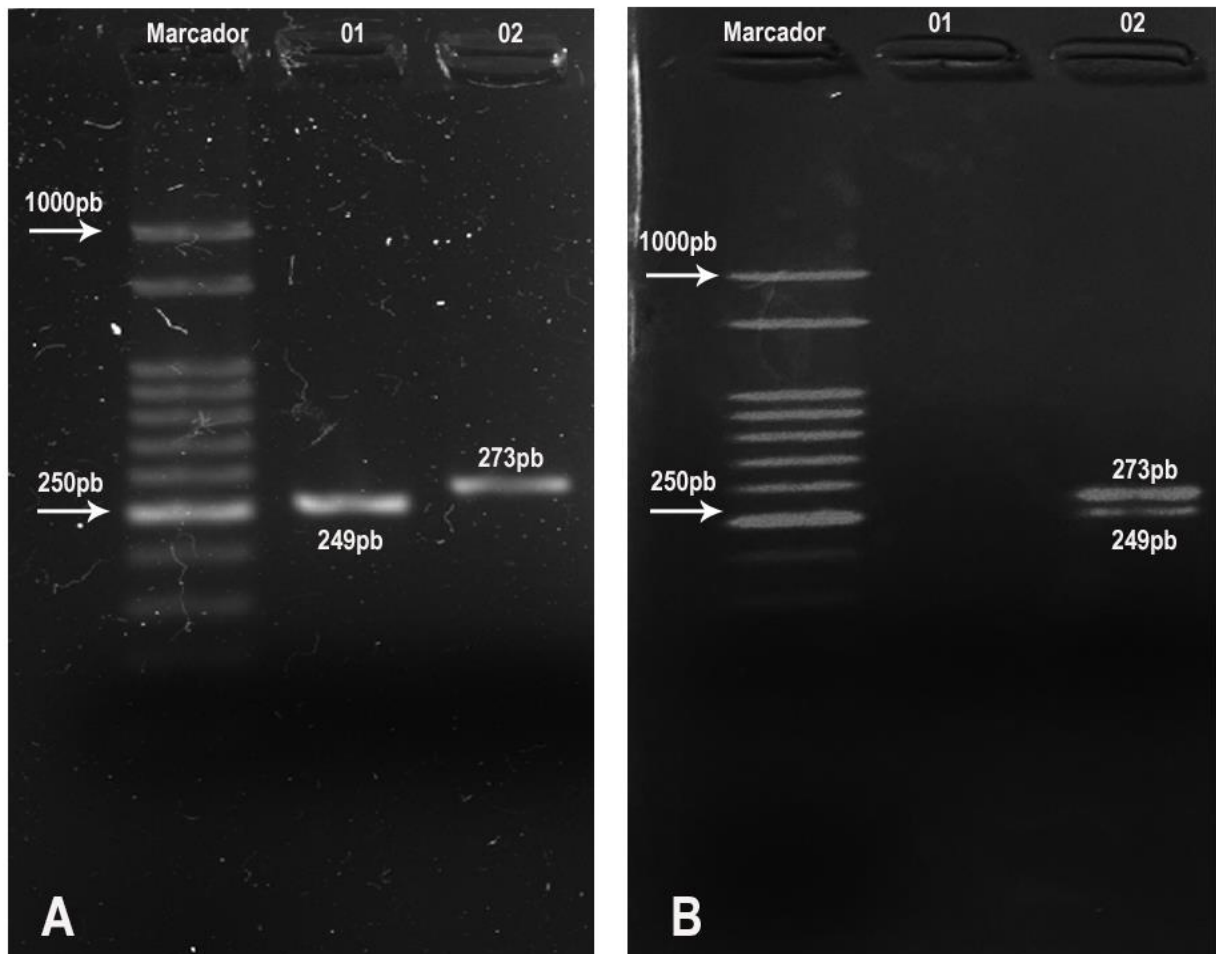


Figura 7: Gel de Agarose a 2% indicando as possíveis visualizações das bandas como resultado da amplificação do gene *CHIT1*. Na Figura (A) é possível visualizar na *lane* de número 01 o perfil homocigoto selvagem com uma banda de 249 pb, na *lane* de número 02 o perfil homocigoto para o polimorfismo, com uma única banda de 273 pb. Na figura (B) é possível observar o perfil heterocigoto, presente na *lane* 02, caracterizados pela presença de duas bandas uma com 249 pb e outra com 273 pb. Foi utilizado marcador de 1000 pb. A *lane* 01 da Figura (B) corresponde ao controle negativo.

5.2 Perfil geral dos indivíduos analisados

O grupo 1 (Tabela 2), composto por pacientes diagnosticados com PCM, apresentou idade média de $30,3 \pm 15,3$ anos, enquanto os grupos 2, 3 e 4 tiveram médias de $41,5 \pm 16,8$, $55,2 \pm 14,0$ e $43,8 \pm 6,6$, respectivamente. Ao total as amostras foram constituídas de 54,3% indivíduos do sexo masculino e 45,7% do sexo feminino.

Tabela 2: Caracterização do gênero e faixa etária dos indivíduos presentes em cada grupo.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Total
Número de indivíduos	5	10	20	103	138
Idade em anos*	$30,3 \pm 15,3$	$41,5 \pm 16,8$	$55,2 \pm 14,0$	$43,8 \pm 6,6$	$45,6 \pm 16,9$
Gênero Masculino %	6,7	4	21,3	68	54,3
Gênero Feminino %	0	11,1	6,3	82,5	45,7

*Média \pm DP: as médias das idades foram calculadas a partir dos dados informados pelos participantes.

5.3 Perfil do gene *CHIT1* no grupo 1: pacientes com diagnóstico para PCM

Ao todo foram obtidas amostras de cinco pacientes diagnosticados com PCM, todos eles do sexo masculino (Tabela 2, grupo 1). Dentre os pacientes foi possível observar a presença da duplicação de 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1*, em dois deles. Esses pacientes apresentaram um alelo selvagem (A) e um mutante (B), caracterizando-os como heterozigotos (AB). Os dois alelos do tipo selvagem (A) foram observados em três deles (Tabela 3), sendo classificados como homozigotos selvagens (AA). Curiosamente, um dos pacientes que apresentou os dois alelos do tipo selvagem, foi diagnosticado com coinfeção fúngica de *Paracoccidioides* spp. e *Histoplasma capsulatum*. Era esperado que este paciente apresentasse a duplicação dos 24 pb no éxon 10, porém nenhum alelo do tipo mutante foi observado.

5.4 Perfil do gene *CHIT1* no grupo 2: pesquisadores que manipularam o fungo

Foram analisadas amostras de dez pesquisadores que fizeram a manipulação de fungos do gênero *Paracoccidioides* spp. durante suas atividades laborais e que não tiveram diagnóstico confirmado para PCM. Dentre os pesquisadores seis apresentaram o genótipo do tipo homozigoto selvagem (AA), conseqüentemente não apresentam o polimorfismo. Três apresentaram o genótipo heterozigoto (AB), com a

presença de um alelo selvagem e um alelo mutante. E um pesquisador demonstrou ser homozigoto para a duplicação dos 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1* (BB), caracterizado pela presença de dois alelos mutantes.

5.5 Perfil do gene *CHIT1* no grupo 3: trabalhadores rurais

Dentre as amostras dos vinte trabalhadores rurais sem diagnóstico confirmado para PCM, foi possível observar que oito possuem o perfil homozigoto selvagem (AA). Para os perfis contendo o polimorfismo, foi observado que dez amostras apresentaram perfil heterozigoto (AB), e duas perfil homozigoto (BB).

5.6 Perfil do gene *CHIT1* no grupo 4: indivíduos sem diagnóstico confirmado para PCM

O grupo contendo indivíduos sem diagnóstico confirmado para PCM, foi caracterizado pela presença do genótipo homozigoto selvagem (AA) em cinquenta e nove indivíduos, genótipo heterozigoto (AB) em quarenta e um e genótipo homozigoto mutante (BB) presente em três.

5.7 Frequências alélicas e genotípicas

As frequências alélicas e genotípicas dos quatro grupos estudados são mostradas na tabela 3. Os resultados demonstram que todos estavam em equilíbrio de Hardy–Weinberg ($p > 0,05$). A frequência alélica do alelo mutante na população total foi de 24,6% enquanto o alelo selvagem foi de 75,4%. A frequência genotípica dos perfis homozigoto selvagem, homozigoto mutante e heterozigoto na população total (Figura 8) foram de 55,1%, 4,3% e 40,6%, respectivamente.

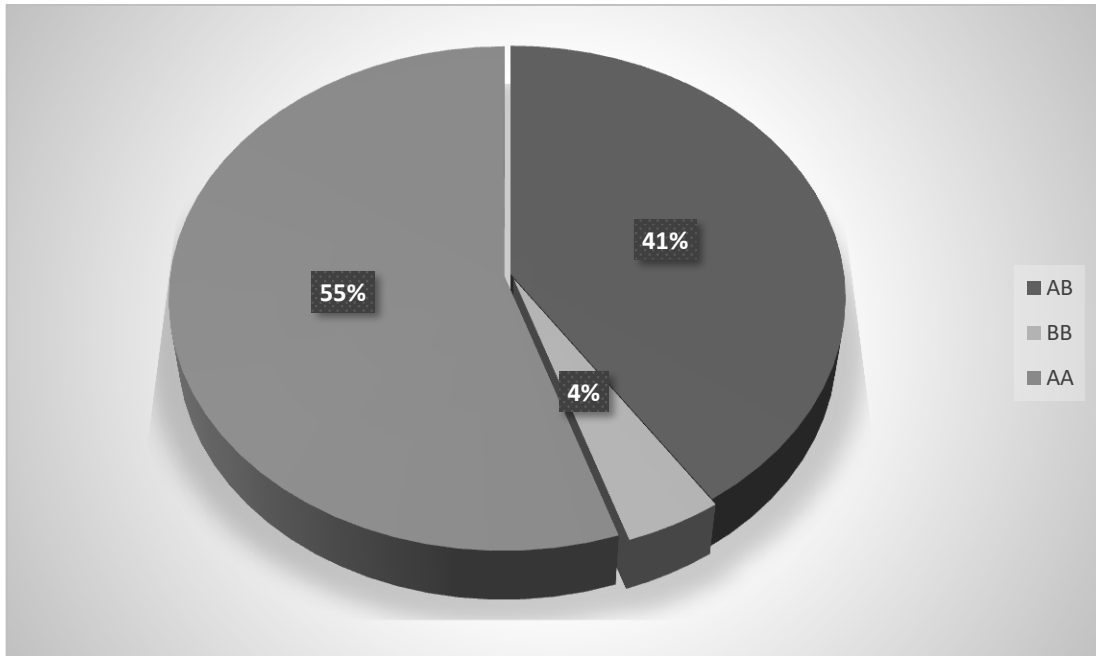


Figura 8: Frequência genotípica da população total: (AB) heterozigoto 55%, (BB) homozigoto mutante 41% e (AA) homozigoto selvagem 4%.

Tabela 3: Frequências genotípicas e alélicas da duplicação de 24 pb no éxon 10 nos grupos. O alelo (A) representa o alelo selvagem, já o alelo (B) representa o alelo mutante. Genótipos (AA) representam homozigoto do tipo selvagem, ou seja, sem mutação, genótipos (AB) representam caráter heterozigoto para mutação e (BB) representam caráter homozigoto para a mutação.

Grupos	<i>n</i>	Frequência genotípica <i>n</i> (%)			Frequência alélica (%)		Hardy–Weinberg <i>P</i>
		AA	AB	BB	A	B	
1	5	3(60)	2(40)	0(0)	80	20	0,576
2	10	6(60)	3(30)	1(10)	75	25	0,496
3	20	8(40)	10(50)	2(10)	65	35	0,658
4	103	59(57,3)	41(39,8)	3(2,9)	77,2	22,8	0,184
Total	138	76(55,1)	56(40,6)	6(4,3)	75,4	24,6	0,271

6. DISCUSSÃO

Apesar dos dados mostrarem um elevado número de pacientes diagnosticados com PCM por ano no Brasil (MARTINEZ, 2006; SHIKANAI-YASUDA et al., 2018), o

número de pacientes atendidos no hospital HDT em Goiânia no período do estudo foi consideravelmente baixo, o que dificultou uma associação mais ampla do polimorfismo de *CHIT1* com a gravidade da PCM na população com diagnóstico para essa micose. Este baixo número pode ser resultado da baixa procura do atendimento médico desses pacientes devido às dificuldades trazidas pela pandemia de COVID-19 e a baixa atenção dada a essa micose.

A PCM por não ser uma doença de notificação compulsória, possui seus dados de prevalência, incidência e morbidade, formados a partir de inquéritos epidemiológicos, séries de casos e registros hospitalares (SHIKANAI-YASUDA et al., 2018). Esses fatores tiveram grande impacto no baixo número amostral, consequentemente impossibilitando o presente estudo de estabelecer se a presença da duplicação de 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1* é realmente fator de risco para a evolução para um quadro mais grave ou para predisposição do indivíduo em ser acometido pela PCM. Diante disto, o estudo tomou outro viés que foi o de incluir amostras de pacientes sem infecção confirmada para a PCM, incluindo trabalhadores rurais, pesquisadores com fungos e acadêmicos.

Este estudo avaliou a prevalência da duplicação de 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1*, na população de Goiás. Até então, não existe na literatura dados que contribuam para avaliar a prevalência do polimorfismo na população brasileira. Os resultados obtidos indicam que as frequências alélicas e genotípicas para a duplicação dos 24 pb no éxon 10 na população total estudada se assemelham com achados de populações europeias. Estudos como o realizado por Piras e colaboradores mostram frequência de 77,2% e 75%, em populações da Espanha e França, respectivamente para o alelo selvagem, frequências muito próximas aos 75,4% encontrado no presente estudo. Outras populações europeias como a holandesa, representada em estudo por Boot e colaboradores, e portuguesa representadas por estudo de Rodrigues e colaboradores, reforçam esse achado com a presença de 76% e 79,9% respectivamente (BOOT et al., 1998; RODRIGUES; SÁ MIRANDA; AMARAL, 2004; PIRAS et al., 2007;).

As frequências genotípicas encontradas para a população total neste estudo foram de 55,1% de homozigotos do tipo selvagem, 40,6% para heterozigotos e 4,3% para os homozigotos mutante. Esses achados parecem estar alinhados com as frequências genotípicas ao redor do mundo. Rodrigues e colaboradores ao analisar a frequência alélica da duplicação dos 24 pb na população portuguesa, observaram que 60% da população estudada apresentava o genótipo selvagem sem a presença do polimorfismo, com 37,3% heterozigótica e 2,7% homozigota (RODRIGUES; SÁ MIRANDA; AMARAL, 2004). Em uma população iraniana, os resultados foram semelhantes com a frequência de 62,2% do alelo homozigoto selvagem, 31,7% apresentaram um alelo mutante, e 6,1% apresentaram os dois alelos para a mutação (MOTLAGH et al., 2016). O mesmo acontece com as frequências encontradas por Juárez-Rendón e colaboradores em uma população mexicana, na qual 57,8% eram homozigotos selvagens, 36,6% heterozigoto e 5,5% homozigoto mutante (JANETT; RENDÓN; GARCIA-ORTIZ, 2012).

Em populações pertencentes a países asiáticos como China, Japão, Coréia e Taiwan, a prevalência do genótipo homozigoto mutante, vem sendo observada com maior frequência, quando comparada ao restante do mundo. Woo e colaboradores ao analisarem uma população coreana encontraram valores de 47,2% para o genótipo heterozigoto, e 32,5% para o genótipo homozigoto mutante. Chien e colaboradores ao analisarem uma população de Taiwan observaram valores muito semelhantes, com 30,5% dos indivíduos apresentando o genótipo homozigoto mutante. Esses valores sugerem que possivelmente o alelo mutante (B) tenha surgido entre as populações asiáticas, e tenha se espalhado para o Ocidente (CHIEN; CHEN; HWU, 2005; LEE et al., 2007; WOO et al., 2014).

A presença do alelo selvagem parece garantir níveis eficientes da enzima CHIT1 contra patógenos fúngicos, como foi observado por Moubarz e colaboradores, em trabalhadores que foram expostos em função das suas atividades ocupacionais a fungos do gênero *Aspergillus* spp. A atividade da enzima CHIT1 em indivíduos

mutantes homocigotos demonstrou ser aproximadamente um quarto da atividade apresentada por indivíduos do tipo selvagem (MOUBARZ et al., 2022).

A análise na prevalência do polimorfismo de *CHIT1* em populações que possuem fatores de risco para o desenvolvimento para PCM, como aqueles que possuem contato com o solo de áreas endêmicas e manipulação do fungo, é importante para elaboração de estratégias preventivas, como a conscientização sobre o perigo desta doença.

7. CONCLUSÃO

A dificuldade em obtermos amostras de sangue de pacientes diagnosticados com PCM, devido ao baixo número de pacientes atendidos no hospital HDT, impossibilitou a associação entre a doença e o polimorfismo de *CHIT1*. Diante disto, amostras de indivíduos sem diagnóstico confirmado para a PCM foram incluídos no estudo. De acordo com dados da literatura, a presença da duplicação das 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1*, aumenta a suscetibilidade a infecções por patógenos contendo quitina. Dentre os pacientes diagnosticados com PCM não foi possível observar o genótipo homocigoto, porém esse perfil genético foi observado nos demais grupos. A prevalência alélica e genotípica da duplicação dos 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1* na população total, formada por pessoas residentes do estado de Goiás, foi semelhante às frequências observadas em outros estudos com populações de diferentes países.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Este estudo terá continuidade na tentativa de obtermos mais amostras de pacientes com PCM e outras micoses, para entender a prevalência da duplicação de 24 pb no éxon 10 do gene *CHIT1* na população de pessoas que residem no estado de Goiás.

REFERÊNCIAS

- ARANTES, T. D. et al. Paracoccidioides brasiliensis AND Paracoccidioides lutzii, A SECRET LOVE AFFAIR. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. suppl 19, p. 25–30, set. 2015.
- ARTIGO DE REVISÃO, Y. L. et al. **Paracoccidioidomicose-revisão da literatura Paracoccidioidomicose-Revisão da Literatura Paracoccidioidomycosis-Literature ReviewScientia Medica**. [s.l: s.n.].
- BENARD, G. et al. IMBALANCE OF IL-2, IFN- γ AND IL-10 SECRETION IN THE IMMUNOSUPPRESSION ASSOCIATED WITH HUMAN PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS. **Cytokine**, v. 13, n. 4, p. 248–252, fev. 2001.
- BHATTACHARYA, D.; NAGPURE, A.; GUPTA, R. K. Bacterial Chitinases: Properties and Potential. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 21–28, 10 jan. 2007.
- BOAVA, L. P. et al. Atividade de quitinases e peroxidases em folhas de eucalipto em diferentes estágios de desenvolvimento após tratamento com acibenzolar-S-metil (ASM) e inoculação com Puccinia psidii. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 2, p. 124–128, abr. 2010.
- BONGOMIN, F. et al. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 4, p. 57, 18 out. 2017.
- BOOT, R. G. et al. The Human Chitotriosidase Gene. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 40, p. 25680–25685, out. 1998.
- BOOT, R. G. et al. Marked Differences in Tissue-specific Expression of Chitinases in Mouse and Man. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 53, n. 10, p. 1283–1292, 27 out. 2005.
- BOSCO, S. DE M. G.; BAGAGLI, E. Paracoccidioidomycosis in Animals and Humans. Em: **Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals**. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 129–145.
- BRITO, T. G. N. DE et al. A Case-Control Study of Paracoccidioidomycosis in Women: The Hormonal Protection Revisited. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 8, p. 655, 13 ago. 2021.
- CARDOZO, F. A. et al. Bioproduction of N-acetyl-glucosamine from colloidal α -chitin using an enzyme cocktail produced by *Aeromonas caviae* CHZ306. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 8, p. 114, 22 ago. 2019.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **People living with HIV/AIDS**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/fungal/infections/hiv-aids.html>>. Acesso em: 14 nov. 2023.

- CHAVES, A. F. A. et al. Updates in Paracoccidioides Biology and Genetic Advances in Fungus Manipulation. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 116, 4 fev. 2021.
- CHIEN, Y.-H.; CHEN, J.-H.; HWU, W.-L. Plasma chitotriosidase activity and malaria. **Clinica Chimica Acta**, v. 353, n. 1–2, p. 215, mar. 2005.
- CHOI, E. et al. Genetic polymorphisms in molecules of innate immunity and susceptibility to infection with *Wuchereria bancrofti* in South India. **Genes & Immunity**, v. 2, n. 5, p. 248–253, 1 ago. 2001.
- COTTAZ, S.; BRASME, B.; DRIGUEZ, H. A fluorescence-quenched chitopentaose for the study of *endo* -chitinases and chitobiosidases. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 17, p. 5593–5600, 3 set. 2000.
- COUTINHO, Z. F. et al. Hospital morbidity due to paracoccidioidomycosis in Brazil (1998–2006). **Tropical Medicine & International Health**, v. 20, n. 5, p. 673–680, 26 maio 2015.
- CSONGRÁDI, A. et al. Chitotriosidase gene polymorphisms and mutations limit the determination of chitotriosidase expression in sarcoidosis. **Clinica Chimica Acta**, v. 513, p. 50–56, fev. 2021.
- DAHIYA, N.; TEWARI, R.; HOONDAL, G. S. Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 71, n. 6, p. 773–782, 21 ago. 2006.
- DE CASTRO, L. F. et al. Characterization of the immune response in human paracoccidioidomycosis. **Journal of Infection**, v. 67, n. 5, p. 470–485, nov. 2013.
- DU, J. et al. Purification and characterization of chitinase from *Paenibacillus* sp. . **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 68, n. 1, p. 30–40, 19 fev. 2021.
- ELMONEM, M. A.; VAN DEN HEUVEL, L. P.; LEVTCHENKO, E. N. Immunomodulatory Effects of Chitotriosidase Enzyme. **Enzyme Research**, v. 2016, p. 1–9, 3 jan. 2016.
- FRANZ, A. P. G. et al. Paracoccidioidomycose: perfil clínico e epidemiológico de pacientes internados em Passo Fundo - RS. **Revista de Medicina**, v. 101, n. 2, 25 mar. 2022.
- FREE, S. J. Fungal Cell Wall Organization and Biosynthesis. Em: [s.l: s.n.]. p. 33–82.
- FUSETTI, F. et al. Structure of Human Chitotriosidase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 28, p. 25537–25544, jul. 2002.
- GÓES, A. M. DE et al. Paracoccidioidomycosis disease (Lutz-Splendore-Almeida): etiology, epidemiology, and pathogenesis. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 24, n. 1, 2014.

GOLD, J. A. W. et al. Increased Hospitalizations Involving Fungal Infections during COVID-19 Pandemic, United States, January 2020–December 2021. **Emerging Infectious Diseases**, v. 29, n. 7, jul. 2023.

GORDON-THOMSON, C. et al. Chitotriosidase and gene therapy for fungal infections. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 6, p. 1116–1125, 28 mar. 2009.

HAHN, R. C. et al. Paracoccidioidomycosis: Current Status and Future Trends. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 35, n. 4, 21 dez. 2022.

HAMID, R. et al. Chitinases: An update. **Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences**, v. 5, n. 1, p. 21, 2013.

HECTOR, A. et al. Chitinase activation in patients with fungus-associated cystic fibrosis lung disease. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 138, n. 4, p. 1183- 1189.e4, out. 2016.

IKEDA, M.; KAKIZAKI, H.; MATSUMIYA, M. Biochemistry of fish stomach chitinase. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1672–1681, nov. 2017.

JANETT, K.; RENDÓN, J.; GARCIA-ORTIZ, J. E. **24-bp Duplication on CHIT1 gene in Mexican population** *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/233908190>>.

KANNEGANTI, M. Role of Chitotriosidase (Chitinase 1) Under Normal and Disease Conditions. **Journal of Epithelial Biology and Pharmacology**, v. 5, n. 1, p. 1–9, 6 jan. 2012.

KIMURA, M. et al. Comparative functional analysis between human and mouse chitotriosidase: Substitution at amino acid 218 modulates the chitinolytic and transglycosylation activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 2895–2902, dez. 2020.

KUMAR, A.; ZHANG, K. Y. J. Human Chitinases: Structure, Function, and Inhibitor Discovery. Em: [s.l: s.n.]. p. 221–251.

KUUSK, S.; SØRLIE, M.; VÄLJAMÄE, P. Human Chitotriosidase Is an Endo-Processive Enzyme. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0171042, 27 jan. 2017.

LEE, P. et al. Human chitotriosidase polymorphisms G354R and A442V associated with reduced enzyme activity. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 39, n. 3, p. 353–360, nov. 2007.

LEWIS, R. E. Current Concepts in Antifungal Pharmacology. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 86, n. 8, p. 805–817, ago. 2011.

- LOPES, M. A. et al. Use of response surface methodology to examine chitinase regulation in the basidiomycete *Moniliophthora perniciosa*. **Mycological Research**, v. 112, n. 3, p. 399–406, mar. 2008.
- MALUF, M. L. F. et al. Prevalência de paracoccidiodomicose-infecção determinada através de teste sorológico em doadores de sangue na região Noroeste do Paraná, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 11–16, jan. 2003.
- MANNO, N. et al. High prevalence of chitotriosidase deficiency in Peruvian Amerindians exposed to chitin-bearing food and enteroparasites. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 607–614, nov. 2014.
- MARTINEZ, R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, n. 5, p. 449–460, out. 2006.
- MARTINEZ, R. EPIDEMIOLOGY OF PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. suppl 19, p. 11–20, set. 2015.
- MAVRIKIOU, G. et al. Chitotriosidase deficiency in the Cypriot population: Identification of a novel deletion in the CHIT1 gene. **Clinical Biochemistry**, v. 49, n. 12, p. 885–889, ago. 2016.
- MENDES, J. F. et al. Paracoccidiodomycosis infection in domestic and wild mammals by *Paracoccidioides lutzii*. **Mycoses**, v. 60, n. 6, p. 402–406, 10 jun. 2017a.
- MENDES, R. P. et al. Paracoccidiodomycosis: Current Perspectives from Brazil. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, n. 1, p. 224–282, 31 out. 2017b.
- MOTLAGH, B. et al. Allelic Frequency of a 24-bp Duplication in Exon 10 of the *CHIT1* Gene in the General Iranian Population. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 20, n. 1, p. 31–36, jan. 2016.
- MOUBARZ, G. et al. Influence of chitotriosidase gene polymorphisms on oxidative stress and susceptibility to *Aspergillus* infection among exposed workers. **International Journal of Environmental Health Research**, p. 1–10, 26 maio 2022.
- OBBER, C.; CHUPP, G. L. The chitinase and chitinase-like proteins: a review of genetic and functional studies in asthma and immune-mediated diseases. **Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology**, v. 9, n. 5, p. 401–408, out. 2009.
- OLIVEIRA, A. DE; STARCK, É.; OLIVEIRA, G. G. DE. Doenças causadas por fungos. Em: **Sinalização purinérgica: implicações fisiopatológicas**. [s.l.] Editora UFFS, 2021. p. 321–336.

OVERDIJK, B.; VAN STEIJN, G. J.; ODDS, F. C. Chitinase levels in guinea pig blood are increased after systemic infection with *Aspergillus fumigatus*. **Glycobiology**, v. 6, n. 6, p. 627–634, 1996.

PATIL, R. S.; GHORMADE, V.; DESHPANDE, M. V. Chitinolytic enzymes: an exploration. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, n. 7, p. 473–483, abr. 2000.

PEÇANHA, P. M. et al. Paracoccidioidomycosis: What We Know and What Is New in Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 10, p. 1098, 18 out. 2022.

PIRAS, I. et al. Human CHIT1 gene distribution: new data from Mediterranean and European populations. **Journal of Human Genetics**, v. 52, n. 2, p. 110–116, 15 fev. 2007.

RAMOS-E-SILVA, M.; SARAIVA, L. DO E. S. Paracoccidioidomycosis. **Dermatologic Clinics**, v. 26, n. 2, p. 257–269, abr. 2008.

RATHORE, A. S.; GUPTA, R. D. Chitinases from Bacteria to Human: Properties, Applications, and Future Perspectives. **Enzyme Research**, v. 2015, p. 1–8, 19 nov. 2015.

RAYENS, E.; NORRIS, K. A. Prevalence and Healthcare Burden of Fungal Infections in the United States, 2018. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, 1 jan. 2022.

RODRIGUES, A. M. et al. Paracoccidioides and Paracoccidioidomycosis in the 21st Century. **Mycopathologia**, v. 188, n. 1–2, p. 129–133, 12 abr. 2023.

RODRIGUES, M. R.; SÁ MIRANDA, M. C.; AMARAL, O. Allelic frequency determination of the 24-bp chitotriosidase duplication in the Portuguese population by real-time PCR. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 33, n. 3, p. 362–364, nov. 2004.

ROSE DE ANDRADE BORGES, G. et al. 35 Avaliação da sensibilidade cutânea em pés de pacientes diabéticos Queimadura de face: abordagem fonoaudiológica na prevenção de microstomia Face burn: speech-language approach in the prevention of microstomia. [s.l: s.n.].

SAN-BLAS, G. et al. Fungal morphogenesis and virulence. **Medical mycology**, v. 38 Suppl 1, p. 79–86, 2000.

SANTANA, L. A. DA P. et al. Distinct chitinases are expressed during various growth phases of the human pathogen *Paracoccidioides brasiliensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 3, p. 310–316, maio 2012.

SCHÜTTELKOPF, A. W. et al. Acetazolamide-based fungal chitinase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 23, p. 8334–8340, dez. 2010.

- SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. Consenso em paracoccidioidomicose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, p. 297–310, jun. 2006.
- SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p. 715–740, 12 jul. 2017.
- SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. II Consenso Brasileiro em Paracoccidioidomicose - 2017*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, n. esp, nov. 2018.
- SINGH, R. S.; SINGH, T.; PANDEY, A. Microbial Enzymes—An Overview. Em: **Advances in Enzyme Technology**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 1–40.
- SOUZA, A. S. R. et al. General aspects of the COVID-19 pandemic. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 21, n. suppl 1, p. 29–45, fev. 2021.
- TEIXEIRA, M. M. et al. Paracoccidioides Species Complex: Ecology, Phylogeny, Sexual Reproduction, and Virulence. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 10, p. e1004397, 30 out. 2014.
- TOBON, A. M. et al. Residual Pulmonary Abnormalities in Adult Patients with Chronic Paracoccidioidomycosis: Prolonged Follow-Up after Itraconazole Therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 37, n. 7, p. 898–904, 1 out. 2003.
- TRINDADE, J. B. DE S. et al. Avanços e desafios no diagnóstico de paracoccidioidomicose causada pelo complexo de espécies da paracoccidioides: revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e13911326152, 16 fev. 2022.
- TURISSINI, D. A. et al. Species boundaries in the human pathogen Paracoccidioides. **Fungal Genetics and Biology**, v. 106, p. 9–25, set. 2017.
- VAN EIJK, M. et al. Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity. **International Immunology**, v. 17, n. 11, p. 1505–1512, 1 nov. 2005.
- VEGA, K.; KALKUM, M. Chitin, Chitinase Responses, and Invasive Fungal Infections. **International Journal of Microbiology**, v. 2012, p. 1–10, 2012.
- VELIZ, E.; MARTÍNEZ-HIDALGO, P.; HIRSCH, A. Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. **AIMS Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 689–705, 2017.
- VICENCIO, A. G. et al. *CHIT1* Mutations: Genetic Risk Factor for Severe Asthma With Fungal Sensitization? **Pediatrics**, v. 126, n. 4, p. e982–e985, 1 out. 2010.
- VILELA, R. et al. The taxonomy of two uncultivated fungal mammalian pathogens is revealed through phylogeny and population genetic analyses. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 18119, 13 set. 2021.

WAGNER, G. et al. Paracoccidioidomycosis Diagnosed in Europe—A Systematic Literature Review. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 157, 23 fev. 2021a.

WAGNER, G. et al. Paracoccidioidomycosis Diagnosed in Europe—A Systematic Literature Review. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 157, 23 fev. 2021b.

WANKE, B.; AIDÊ, M. A. Capítulo 6 - Paracoccidioidomicose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 12, p. 1245–1249, dez. 2009.

WOO, K. H. et al. Allele frequency of a 24 bp duplication in exon 10 of the CHIT1 gene in the general Korean population and in Korean patients with Gaucher disease. **Journal of Human Genetics**, v. 59, n. 5, p. 276–279, 13 maio 2014.

YOO, Y.; CHOI, H. T. Antifungal chitinase against human pathogenic yeasts from *Coprinellus congregatus*. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 441–443, 17 maio 2014.

ANEXOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do polimorfismo de CHIT1 como fator de risco para Paracoccidioidomicose e seu efeito como adjuvante ao tratamento da Paracoccidioidomicose

Pesquisador: ANDRE CORREA AMARAL

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 45060220.6.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.736.745

Apresentação do Projeto:

Paracoccidioidomicose (PCM) é uma infecção restrita à América Latina, causada por fungos pertencentes ao gênero Paracoccidioides e responsável por altas taxas de mortes prematuras e repercussão socioeconômica, principalmente em segmentos sociais específicos, como os trabalhadores rurais residentes em áreas endêmicas, entre 30 a 50 anos de idade e do sexo masculino. A hipótese que norteia esta proposta é que o polimorfismo do gene CHIT 1 esteja relacionado com a prevalência e agravamento micose. Além disso, considerando que a CHIT1, juntamente com a quitosana, ao estimularem de modo positivo o sistema imunológico do hospedeiro, poderá auxiliar o antifúngico a combater a infecção. De modo geral, esta proposta visa obter informações a respeito do papel da quitotriosidase (CHIT1) na infecção fúngica Paracoccidioidomicose (PCM). Em paralelo, objetiva-se obter a CHIT1 recombinante para ser encapsulada em um sistema nanoestruturado para a entrega de fármacos juntamente com o antifúngico sulfametoxazol-trimetropim no polímero quitosana.

Espera-se que este projeto possa contribuir para o conhecimento científico e, em caso de os resultados serem positivos, a proposta possa servir como ferramenta para auxiliar na tomada de decisões quanto ao combate e desenvolvimento de uma terapia mais eficiente para as infecções fúngicas, principalmente a PCM.

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação - Agência UFG de Inovação, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **E-mail:** cep.prpi@ufg.br



Continuação do Parecer: 4.736.745

Objetivo da Pesquisa:

Coletar amostras de saliva e/ ou sangue de pacientes internados em hospitais na região de Goiânia com manifestação clínica da PCM;

- Investigar o polimorfismo do gene CHIT1 nas amostras de saliva e/ ou sangue dos pacientes;
- Correlacionar o polimorfismo do gene CHIT1 com a PCM;
- Obter a CHIT1 recombinante (CHIT1r);
- Preparar nanopartículas de quitosana contendo a CHIT1r (nanoCHIT1r);
- Caracterizar as nanopartículas obtidas em função da sua morfologia e das propriedades físico-químicas;
- Avaliar a toxicidade da CHIT1 associada às nanopartículas poliméricas em cultura de macrófagos J774;
- Determinar a Concentração Mínima Inibitória para a CHIT1 livre e/ ou associada em nanopartículas poliméricas e suas combinações com a sulfametoxazol-trimetoprim em cultura de Paracoccidioides spp.
- Induzir a PCM em camundongos;
- Avaliar o efeito da terapia combinada da CHIT1 associada às nanopartículas poliméricas e da sulfametoxazol-trimetoprim no modelo murinho da PCM.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O procedimento para a coleta da saliva não acarretará nenhum desconforto para você. A coleta do sangue será feita por uma pessoa treinada e o procedimento será semelhante ao que você já deve ter feito, por exemplo, quando coletou sangue para fazer exames de rotina. Em todos os momentos da coleta serão respeitadas as condições de segurança, as mesmas já mantidas no ambulatório do hospital. Em algumas pessoas pode aparecer uma área arroxeadada/ escurecida no local onde foi injetada a agulha e que desaparecem em poucos dias. A todo momento você pode perguntar sobre o procedimento que será realizado. Benefícios: ao aceitar participar desta pesquisa, saiba que os dados poderão ser usados para ajudar o seu médico a escolher um tratamento mais apropriado e eficiente para tratar a sua doença. Além de você, muitas outras pessoas que sofrem com a paracoccidioidomicose poderão ser beneficiadas e ajudadas com este seu gesto de colaboração

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

projeto propõe avaliar o polimorfismo do gene CHIT1 em pacientes com diagnóstico comprovado para PCM e propor uma prova de conceito para uma terapia mais eficiente para esta micose pelo uso de um sistema nanoestruturado para a entrega de fármacos contendo a CHIT1 e o fármaco

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação - Agência UFG de Inovação, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **E-mail:** cep.prpi@ufg.br



Continuação do Parecer: 4.736.745

convencional sulfametoxazol-trimetoprim em nanopartículas de quitosana. Espera-se que a nanoencapsulação da CHIT1 possa evitar a sua degradação in vivo e, desta forma, ela possa estimular o sistema imunológico do hospedeiro ao mesmo tempo em que o fármaco possa atuar em sinergia para combater o patógeno

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos exigidos pela plataforma foram apresentados

Recomendações:

Apesar de estar faltando o documento de termo de anuência do HDT e PUC , o pesquisador se comprometeu a entregar essa documentação , assim que estiver pronta, a urgência em relação a aprovação deve-se ao fato de que este projeto foi aprovado no edital FAPEG/PPSUS e que foi cobrada a documentação para a contratação e liberação dos recursos financeiros e de bolsa. Portanto considero aprovado, ressaltando o compromisso do pesquisador em entregar a documentação das instituições co-participantes.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram atendidas pelo pesquisador: O termo de compromisso foi assinado por todos os participantes da pesquisa, O HDT foi incluído como instituição coparticipante na Plataforma Brasil, mas em relação Termo de Anuência do HDT e da PUC, o pesquisador informou que os processos estão tramitando junto a estas duas instituições e serão assinados em junho. Mas o pesquisador se comprometeu a incluir este termo na Plataforma Brasil tão logo ele seja a mim disponibilizado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO. O mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12 e Resolução CNS n. 510/16. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, previsto para janeiro de 2023.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação - Agência UFG de Inovação, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **E-mail:** cep.prpi@ufg.br



Continuação do Parecer: 4.736.745

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1643176.pdf	19/05/2021 20:09:42		Aceito
Outros	Carta_CEP_ajustes_projeto_v2.pdf	19/05/2021 20:08:43	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CHIT1_ppsus_ajustado_CEP_v2.pdf	19/05/2021 20:06:37	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso_todos.pdf	19/05/2021 20:05:10	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
Outros	Carta_CEP_ajustes_projeto.pdf	29/03/2021 21:01:20	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CHIT1.pdf	29/03/2021 21:00:05	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CHIT1_ppsus_ajustado_CEP.pdf	29/03/2021 20:59:24	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CHIT1.pdf	09/10/2020 14:57:15	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	08/10/2020 11:36:15	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito
Folha de Rosto	Plataforma_Brasil_folha_rosto_assinada.pdf	08/10/2020 11:22:11	ANDRE CORREA AMARAL	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 26 de Maio de 2021

Assinado por:
Rosana de Moraes Borges Marques
 (Coordenador(a))

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação - Agência UFG de Inovação, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2
Bairro: Campus Samambaia, UFG **CEP:** 74.690-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **E-mail:** cep.prpi@ufg.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
 DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS E TECNOLOGIA
 LABORATÓRIO DE NANO&BIOTECNOLOGIA
 Rua 235, s/n, Setor Universitário, Goiânia, GO, Brasil, CEP 74605-050

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Prezado (a) Senhor (a),

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) de uma pesquisa sobre a relação de fatores genéticos envolvidos na doença paracoccidiodomicose, que é uma micose que pode acometer diferentes partes do corpo como, por exemplo, pulmões, fígado, pele, boca etc. O título desta pesquisa é "Avaliação do polimorfismo de CHIT1 como fator de risco para Paracoccidiodomicose e seu efeito como adjuvante ao tratamento da Paracoccidiodomicose". Meu nome é Tiago Lemos do Nascimento com área de atuação em biomedicina, aluno de mestrado, orientado pelo pesquisador responsável: Prof. Dr. André Corrêa Amaral. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, se você aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está impresso em duas vias, sendo que uma delas é sua e a outra pertence ao pesquisador responsável. *Caso você não queira participar desta pesquisa, você não será penalizado(a) de forma alguma.* Mas se você aceitar participar, as dúvidas sobre a pesquisa poderão ser esclarecidas pelo pesquisador responsável, pelo e-mail andre_amaral@ufg.br e, inclusive, sob forma de ligação a cobrar ou mensagem de texto por meio do número de telefone (62) 98171-9282. Ao persistirem as dúvidas *sobre os seus direitos* como participante desta pesquisa, você também poderá fazer contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)** da Universidade Federal de Goiás, pelo telefone (62) 3521-1215, informando o protocolo número 4.726.745, referente a provação deste projeto de pesquisa pelo CEP/UFG.

Título do projeto: **Avaliação do polimorfismo de CHIT1 como fator de risco para Paracoccidiodomicose.**

Objetivo do estudo: Investigar o polimorfismo no gene *CHIT1* em pacientes com paracoccidiodomicose confirmada (CID B41).

Descrição detalhada do método: depois que você concordar em participar deste estudo e assinar no final deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), você receberá um número de identificação no projeto. Uma pessoa qualificada coletará uma amostra do seu sangue (5mL) que será coletado de uma veia de um dos seus braços usando seringa e agulha esterilizadas e descartáveis. O seu sangue será colocado em um tubo de ensaio identificado pelo número que você recebeu ao assinar o TCLE. Estes tubos contendo as amostras serão levados para o Laboratório de Nano&Biotecnologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, para realizar a extração do DNA. O sangue que sobrar depois de realizados os testes, não serão utilizados em nenhuma outra pesquisa sem a sua autorização.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
 DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS E TECNOLOGIA
 LABORATÓRIO DE NANO&BIOTECNOLOGIA
 Rua 235, s/n, Setor Universitário, Goiânia, GO, Brasil, CEP 74605-050

Possíveis riscos: A coleta do sangue será feita por uma pessoa treinada e o procedimento será semelhante ao que você já deve ter feito, por exemplo, quando coletou sangue para fazer exames de rotina. Em todos os momentos da coleta serão respeitadas as condições de segurança, as mesmas já mantidas no ambulatório do hospital. Em algumas pessoas pode aparecer uma área arroxeadada/ escurecida no local onde foi injetada a agulha e que desaparecem em poucos dias. A todo momento você pode perguntar sobre o procedimento que será realizado.

Benefícios: ao aceitar participar desta pesquisa, saiba que os dados poderão ser usados para ajudar o seu médico a escolher um tratamento mais apropriado e eficiente para tratar a sua doença. Além de você, muitas outras pessoas que sofrem com a paracoccidiodomicose poderão ser beneficiadas e ajudadas com este seu gesto de colaboração.

Ressarcimento de despesas: a sua participação neste estudo é como voluntário. Portanto, *you não terá que pagar e não receberá pagamento ou qualquer gratificação financeira para participar deste estudo.* Caso você entenda que seja necessário, você tem o direito de pleitear nos órgãos competentes, indenização (reparação a danos imediatos ou futuros), garantida em lei, decorrentes de sua participação na pesquisa.

Duração da pesquisa e divulgação dos dados: a sua participação no estudo ocorrerá somente agora e apenas uma vez, independente da duração total da pesquisa. Após a sua concordância em participar e assinar este TCLE, prosseguiremos para a coleta das amostras. Em nenhum momento os seus dados pessoais serão divulgados, pois será criado um número que será usado para acompanhar as suas amostras. Após a realização dos testes no laboratório, enviaremos os seus resultados para o seu médico que poderá divulgá-los a você, caso seja do seu interesse. Os seus resultados, juntamente com os de outros voluntários na pesquisa, serão usados para gerar dados para analisar o polimorfismo no gene *CHIT1* e a sua correlação com a paracoccidiodomicose. Estes dados poderão ser divulgados nos meios científicos, tais como artigos e resumos em eventos. *Ressalta-se que os seus dados pessoais não serão divulgados.*

Consentimento e duração da participação: O sangue que sobrar depois de realizados os testes, será descartado seguindo as normas de descarte de material biológico. Os resultados das análises de suas amostras só poderão ser usados para outros estudos mediante o seu consentimento e da assinatura de um novo TCLE e somente após a aprovação da nova pesquisa pelo CEP/ UFG ou ainda pelo CONEP. *Ressalta-se que você tem a garantia expressa de liberdade de se recusar a participar ou retirar o seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado ou à continuidade do seu tratamento.*

Consentimento da Participação da Pessoa como Sujeito da Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
 DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS E TECNOLOGIA
 LABORATÓRIO DE NANO&BIOTECNOLOGIA
 Rua 235, s/n, Setor Universitário, Goiânia, GO, Brasil, CEP 74605-050

Eu,, abaixo assinado, concordo em participar do estudo intitulado "**Avaliação do polimorfismo de *CHIT1* como fator de risco para Paracoccidioidomicose**". Informo ter mais de 18 anos de idade, e destaco que minha participação nesta pesquisa é de caráter voluntário. Fui, ainda, devidamente informado(a) e esclarecido(a), pelo pesquisador(a) responsável, sobre a pesquisa, os procedimentos e métodos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação no estudo. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade. Declaro, portanto, que concordo com a minha participação no projeto de pesquisa acima descrito.

Goiânia, de de

Assinatura por extenso do(a) participante

Assinatura por extenso do(a) pesquisador(a) responsável

Testemunhas em caso de uso da assinatura datiloscópica

