

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

LETÍCIA ANDRADE MENDES MARMELLO

**PATOGÊNESE DA HISTOPLASMOSE: REVISÃO DA LITERATURA SOBRE
FATORES ENVOLVIDOS NA VIRULÊNCIA DE *Histoplasma capsulatum***

RIO DE JANEIRO

2020

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”
UNIGRANRIO

LETÍCIA ANDRADE MENDES MARMELLO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Universidade do Grande Rio “Prof. José de
Souza Herdy”, como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Dr. Marcos de Abreu Almeida

RIO DE JANEIRO

2020

LETÍCIA ANDRADE MENDES MARMELLO

**PATOGÊNESE DA HISTOPLASMOSE: REVISÃO DA LITERATURA SOBRE
FATORES ENVOLVIDOS NA VIRULÊNCIA DE *Histoplasma capsulatum***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Universidade do Grande Rio “Prof. José de
Souza Herdy”, como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Dr. Marcos de Abreu Almeida

Aprovada em:

Barra da Tijuca, 03 de dezembro de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Marcos de Abreu Almeida (orientador)

Dra. Ana Cristina Rivas da Silva

Dr. Wallace Pacienza Lima

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos à minha família, meus pais, minha irmã e minha avó por me incentivarem e motivarem sempre, sem eles eu não teria chegado até aqui. Meu namorado por também ter me apoiado em todos os momentos e me ajudado em diversas apresentações.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Dr Marcos, por todos os ensinamentos ao longo da Iniciação Científica e Dra Rosely também por terem acreditado em mim desde o início mesmo sem nenhuma experiência.

À minha equipe do laboratório de Micologia da Fiocruz, pela companhia durante todo esse tempo, pela amizade, por todo aprendizado que adquiri com vocês e todos os momentos felizes, seja no laboratório ou em confraternizações.

Aos meus amigos pelo apoio durante toda a graduação, incentivo em diversos momentos difíceis e pelos conselhos.

À todos os professores que fizeram parte da minha formação e especialmente minha professora durante o trabalho de conclusão do curso, Natália, por toda atenção, dedicação, paciência e cordialidade.

Ao coordenador do curso de Biomedicina da Unigranrio, Daniel, pela proatividade, por ser solícito e atencioso o tempo todo com os alunos e nunca medir esforços para nos ajudar.

À Banca Examinadora, por terem aceitado gentilmente participar da avaliação desse trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Morfologia de <i>Histoplasma capsulatum</i> nas fases miceliana e leveduriforme.....	9
Figura 2 - Fontes de infecção de <i>Histoplasma capsulatum</i> registradas no Brasil.....	10
Figura 3 - Distribuição geográfica de <i>Histoplasma capsulatum</i>	11
Figura 4 - Distribuição geográfica do número de casos de histoplasmose relatados no Brasil (1939-2018).....	12
Figura 5 - Genes que promovem o crescimento das fases miceliana e leveduriforme.....	14
Figura 6 - Parede celular de <i>H.capsulatum</i> e fatores extracelulares associados à virulência.....	15

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 MATERIAIS E MÉTODOS	12
3 RESULTADOS	12
4 DISCUSSÃO	17
5 CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	19

PATOGÊNESE DA HISTOPLASMOSE: REVISÃO DA LITERATURA SOBRE FATORES ENVOLVIDOS NA VIRULÊNCIA DE *Histoplasma capsulatum*

Letícia Andrade Mendes Marmello¹

Marcos de Abreu Almeida²

RESUMO

Histoplasma capsulatum é um fungo considerado termodimórfico e causa uma micose sistêmica denominada histoplasmosse. Este fungo pode ser encontrado na forma miceliana, na natureza ou quando cultivado à 25°C, e na forma de leveduras quando em parasitismo ou cultivado em meios apropriados à 37°C apresentando uma mudança conformacional na sua estrutura. A sobrevivência dos fungos em parasitismo está diretamente relacionada com a expressão de fatores de virulência, o que pode facilitar a invasão e multiplicação dentro do organismo do hospedeiro, contribuindo para aumentar a capacidade de causar infecção. Diante do exposto, o presente estudo objetivou descrever os mecanismos dos fatores de virulência descritos em *H. capsulatum* e como contribuem para a patogênese da histoplasmosse. A partir desta premissa, foi realizada uma busca na base de dados PubMed / MEDLINE(2006-2020), onde foram encontrados 54 artigos e selecionados 24 artigos que preencheram os critérios de inclusão e foram então avaliados. As funções descritas de alguns fatores foram analisadas como *Drk1*, *Ryps*, *HSPs*, *Cbp1*, *YPS3*, catalases, glucanas, melanina, sideróforos, entre outros. Conclui-se que o estudo dos fatores de virulência é imprescindível para proporcionar o melhor entendimento dos mecanismos utilizados pelo fungo para sobreviver no hospedeiro e consequentemente causar a infecção.

Palavras-chave: *Histoplasma capsulatum*. Virulência. Patogênese. Dimorfismo.

ABSTRACT

Histoplasma capsulatum is considered a thermomorphic fungus and causes a systemic mycosis called histoplasmosis. This fungus can be found in mycelial form, in nature or when grown at 25°C, and in yeast form, in parasitism or cultivated in appropriate media at 37°C, presenting a conformational change in its structure. The survival of fungi in parasitism is directly related to the expression of virulence factors, which facilitates the invasion and multiplication within the host organism, contributing to increase the ability to cause infection. Based on the above considerations, the present study aimed to describe the mechanisms of virulence factors described in *H. capsulatum* and how they contribute to the pathogenesis of histoplasmosis. Based on this premise, a search was performed in the PubMed / MEDLINE database(2006-2020), where 54 articles were found and 24 articles were selected that filled the inclusion criteria and were then evaluated. The described functions of some factors were analysed such as *Drk1*, *Ryps*, *HSPs*, *Cbp1*, *YPS3*, catalases, glucans, melanin, siderophores, among others. It was concluded that the study of virulence factors is essential to provide a better understanding of the mechanisms used by the fungus to survive in the host and consequently cause infection.

Keywords: *Histoplasma capsulatum*. Virulence. Pathogenesis. Dimorphism.

¹ Graduanda do curso de Biomedicina na Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO.

² Doutor em Ciências - Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas - INI/FIOCRUZ.

1 INTRODUÇÃO

A histoplasmose é uma micose sistêmica de distribuição cosmopolita causada por fungos dimórficos pertencentes ao gênero *Histoplasma*, que envolvem as seguintes espécies patogênicas: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, agente da histoplasmose capsulata ou clássica; *H. capsulatum* var. *duboisii* correspondente à histoplasmose africana e *H. capsulatum* var. *farciminosum* que causa linfangite epizootica em equinos (ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2013). Recentemente, uma nova proposta taxonômica sobre a origem de uma variação genética mostra que o gênero *Histoplasma* é composto de pelo menos quatro espécies crípticas: *H. mississippiense*, *H. ohioense*, *H. capsulatum sensu stricto Darling 1906* e *H. suramericanum* (SEPÚLVEDA et al., 2017).

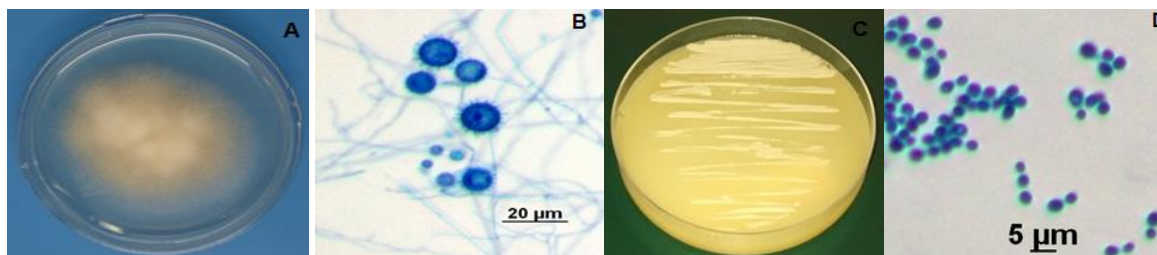
O primeiro caso de histoplasmose foi descrito em 1905 pelo patologista norte americano Samuel Taylor Darling no Panamá. Como produzia lesões semelhantes às causadas pela leishmaniose visceral, *H. capsulatum* foi classificado erroneamente como um protozoário encapsulado (DARLING, 1906). Em 1912, o brasileiro Henrique da Rocha Lima comparou as amostras dos pacientes de Darling com as de um paciente com leishmaniose e concluiu que *H. capsulatum* era um fungo e não um protozoário (DA ROCHA-LIMA, 1912). William de Monbreun foi o primeiro a cultivar o fungo e o identificou como dimórfico através da sua mudança conformacional de acordo com a diferença de temperatura no ano de 1934 (DE MONBREUM, 1934). Já em 1939, foi diagnosticado o primeiro caso de histoplasmose no Brasil (ALMEIDA & LACAZ, 1939).

A forma miceliana de *H. capsulatum* é encontrada na natureza ou quando cultivada *in vitro* à 25°C, apresentando em sua macroscopia colônias algodoadas de coloração branca a acastanhada (Figura 1A). As estruturas microscópicas são representadas por hifas septadas, hialinas e ramificadas que como estrutura de propagação elaboram dois tipos de conídios: macroconídios, com aproximadamente 8 a 16 µm de diâmetro que podem desenvolver projeções em sua superfície com o envelhecimento da colônia, sendo denominados macroconídios tuberculados; e os microconídios que são estruturas ovaladas lisas medindo de 2 a 5 µm de diâmetro (Figura 1B) (ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2013).

Já em sua fase leveduriforme, *H. capsulatum* é encontrado em parasitismo

ou quando cultivado *in vitro* à 37°C. Macroscopicamente apresenta colônias de coloração branco-amarelada cujo aspecto é úmido (Figura 1C), e a microscopia é caracterizada por elementos ovais unibrotantes, uninucleados com 2 a 4 µm de diâmetro como mostra na Figura 1D (ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2013).

Figura 1: Morfologia de *Histoplasma capsulatum* nas fases miceliana e leveduriforme



Legenda: (A) Cultivo da fase miceliana em meio ágar batata. (B) Aspectos microscópicos da fase filamentosa com micro e macroconídios (40X). (C) Cultivo da fase leveduriforme em meio ML-gema. (D) Aspectos microscópicos da fase leveduriforme com leveduras unibrotantes, em aumento de 40X. Coloração por lactofenol azul de algodão (ALMEIDA, 2014).

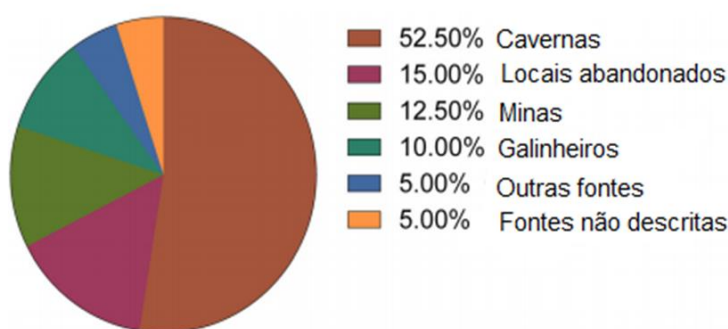
A infecção por *H. capsulatum* ocorre através da inalação de microconídios e pequenos fragmentos de hifas com posterior deposição nos alvéolos pulmonares. Este evento é seguido pela diferenciação dos microconídios em leveduras que pode ocorrer dentro ou fora dos fagócitos e uma possível disseminação hematogênica para outros órgãos. Os fagócitos dos hospedeiros desempenham um papel central na patogênese da histoplasmose, pois são os veículos para disseminação, espalhando-se inicialmente para os linfonodos e, posteriormente, para vários órgãos (MITTAL, 2019).

O espectro clínico desta micose é bastante amplo podendo variar de uma infecção assintomática até a forma disseminada. O desenvolvimento da histoplasmose e a apresentação clínica estão diretamente relacionados a uma tríade: o inóculo infectante inalado, a virulência da cepa e o *status* imunológico do hospedeiro (KLEIN e TEBBETS, 2007). Em hospedeiros que já possuem um imunocomprometimento prévio, como portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida Humana (aids), pacientes transplantados, que fazem uso de quimioterapia ou corticosteroides; a histoplasmose tende a manifestar-se de forma mais progressiva, requerendo agilidade no diagnóstico. Mesmo em indivíduos assintomáticos, *H. capsulatum* pode disseminar para a corrente sanguínea permanecendo em sua forma latente e reativar depois de anos se o

hospedeiro não for mais imunocompetente (KAUFFMAN, 2007; SIL, 2019).

Geralmente a infecção por *H. capsulatum* ocorre ao realizar visitas a cavernas, grutas, galinheiros, construções abandonadas, ou ainda por meio da manipulação de solos contaminados, através da suspensão de partículas infectantes que podem chegar a quilômetros de distância. No Brasil, uma recente revisão da literatura, indica que a maioria dos indivíduos foram infectados em visitas a grutas e cavernas, como demonstrado na Figura 2 (GUERRA et al., 2019).

Figura 2: Fontes de infecção de *Histoplasma capsulatum* registradas no Brasil



Fonte: Adaptado de GUERRA et al., 2019.

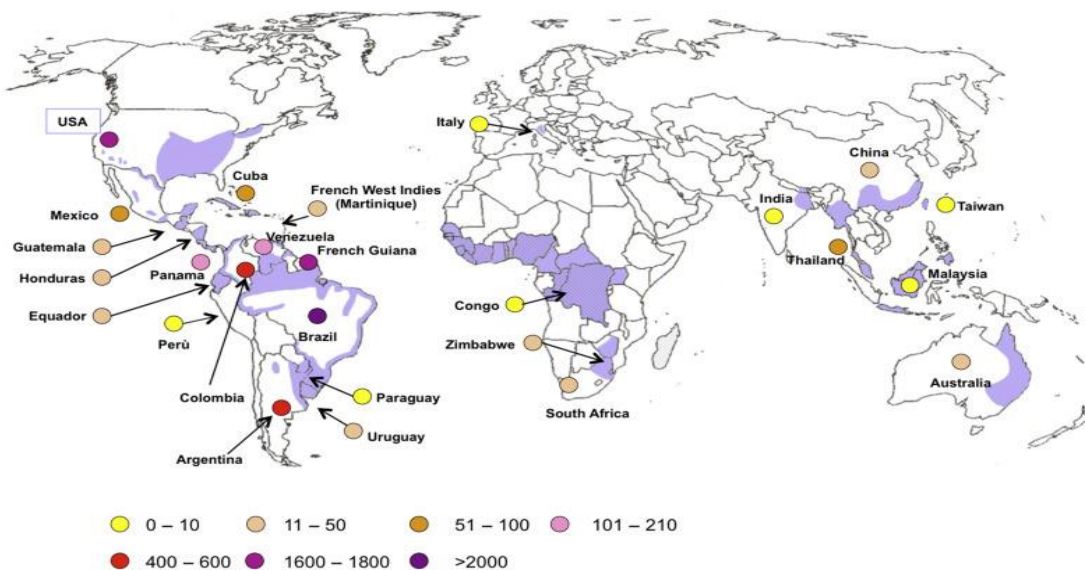
A histoplasmose é endêmica em muitas regiões, especialmente nos EUA e na América Latina, incluindo o Brasil, afetando cerca de 40 milhões de pessoas no mundo e *H. capsulatum* é considerado o fungo mais comum entre os que causam infecção no sistema respiratório (GÓRALSKA et al., 2018).

Cerca de 500.000 pessoas são expostas ao *H. capsulatum* nos EUA a cada ano, e mais de 60% da população estadunidense foi exposta ao fungo em algum momento de sua vida. Mais de 80% dos indivíduos, com aproximadamente 20 anos, que residem em áreas de endemicidade nos EUA testam positivo para o teste cutâneo indicando uma infecção prévia (SEPÚLVEDA et al., 2017).

Observando a distribuição geográfica de *H. capsulatum* pelos continentes, podemos constatar que o Brasil apresenta uma grande área contaminada e lidera o ranking com mais de 2 mil casos publicados de histoplasmose associados à aids (Figura 3). De acordo com Damasceno e colaboradores, o estado do Ceará tem uma das maiores taxas de mortalidade por histoplasmose no mundo, variando entre 33-42%, e uma das maiores prevalências de HIV/aids na América

Latina se concentra na região Nordeste do Brasil (DAMASCENO et al., 2019).

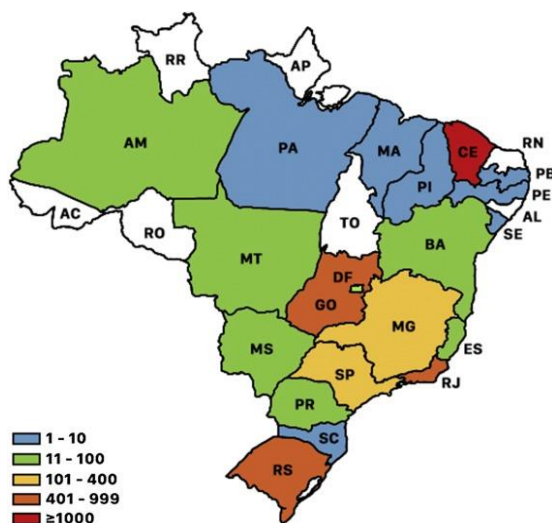
Figura 3: Distribuição geográfica de *Histoplasma capsulatum*



Legenda: Os círculos indicam a quantidade de casos de histoplasmose associados à aids e em roxo corresponde à distribuição de *H. capsulatum* no mundo (WHEAT et al., 2016).

Uma revisão da literatura obtida através de 207 artigos contemplou um total de 3530 pacientes diagnosticados com histoplasmose no Brasil entre os anos de 1939 e 2018, e indicou que a maioria dos casos eram de histoplasmose disseminada, a forma mais grave da doença. Além disso, a infecção por HIV foi o fator predisponente mais comum entre os pacientes (ALMEIDA et al., 2019).

Figura 4: Distribuição geográfica do número de casos de histoplasmose relatados no Brasil (1939-2018)



Fonte: ALMEIDA et al., 2019

No mapa que indica a quantidade de casos de histoplasmose no Brasil (Figura 4) é possível perceber que há sete estados em que nenhum caso foi publicado. Essa escassez de dados pode ser credenciado ao fato da histoplasmose ser uma doença de notificação compulsória somente no estado de Goiás (ALMEIDA et al., 2019).

A habilidade que algumas espécies de fungos, incluindo *H. capsulatum*, têm de causar doença é devido a vários fatores de virulência que ajudam na sobrevivência dos fungos no ambiente hostil do hospedeiro (IYALLA, 2017). Então, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão da literatura sobre os fatores de virulência de *H. capsulatum* e como contribuem para a patogênese da histoplasmose.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa realizada trata-se de uma revisão da literatura elaborada através da base de dados PubMed / MEDLINE. As palavras-chave utilizadas foram *Histoplasma capsulatum* AND virulence AND pathogenesis AND dimorphism nos últimos 15 anos. Como critério de inclusão, apenas artigos publicados entre janeiro de 2006 e setembro de 2020 foram incluídos neste estudo. Os critérios de exclusão aplicados neste estudo se ativeram a artigos publicados em outra língua que não inglês ou português, e artigos que não abordaram fatores de virulência de *H. capsulatum* como objeto do estudo.

3 RESULTADOS

A pesquisa inicial identificou 54 estudos relacionados a combinação de palavras-chave descritas na metodologia. Após a avaliação dos títulos e resumos, 30 estudos foram excluídos de acordo com os critérios de exclusão e 24 estudos foram selecionados para avaliação completa do texto.

Vários fatores de virulência de *H. capsulatum* foram descritos na literatura e serão abordados a seguir:

Histoplasma capsulatum é um fungo considerado termodimórfico em que destaca-se a mudança morfológica à medida que a temperatura é modificada de 25°C para 37°C. Pesquisas apontam que o dimorfismo é um fator que está

diretamente relacionado com a virulência do fungo e a patogenicidade (KLEIN & TEBBETS, 2007; SIL & ANDRIANOPOULOS, 2015).

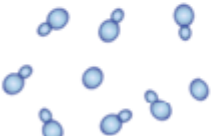
A partir da premissa de que a transição micélio-levedura denominada dimorfismo ocorra através de estímulos, seja a mudança de temperatura, aumento da fluidez membranar nas leveduras; alguns genes envolvidos no controle da transição dimórfica foram descritos por Nemecek e colaboradores, como o híbrido histidina quinase (*Drk1*), que reduziu a expressão dos fatores de virulência CBP (proteína de ligação de cálcio), α -1,3-glucana e a produção de conídios. Além disso, o pigmento indicativo de melanina também esteve ausente com o silenciamento em *H. capsulatum* (NEMECEK et al., 2006).

Outrossim, rastreios genéticos têm sido usados para identificar genes que são importantes para o crescimento da fase de leveduriforme de *H. capsulatum*, resultando na descoberta de três reguladores principais: *Ryp1*, *Ryp2* e *Ryp3*. *Ryp1* é um ortólogo de *Wor1*, que é um regulador em *Candida albicans*. *Ryp2* e *Ryp3* são proteínas da família Velvet que são envolvidas no desenvolvimento de fungos filamentosos, sendo essenciais durante a transição de conídios para leveduras nos macrófagos. Através de uma análise abrangente, outro fator de transcrição foi identificado: *Ryp4*, em que os quatro podem regular a expressão um do outro. Além disso, eles regulam tanto as mudanças na morfologia celular quanto a expressão de genes de virulência (BEYHAN, 2013; LONGO et al., 2018; BEYHAN & SIL, 2019).

Reguladores de crescimento das fases miceliana e leveduriforme em *H. capsulatum* têm sido identificados e a figura 5 resume os genes conhecidos que influenciam a morfologia deste fungo. O silenciamento do gene *Vea1* acelerou a transição de leveduras para hifas na temperatura de 25°C, porém não foi possível realizar a reversão para a fase leveduriforme. Assim como o regulador *Wet1* que é um gene específico da fase miceliana, mostra repressão translacional nas leveduras porque a sua expressão ectópica promove o crescimento inapropriado de hifas à 37°C. Além disso, o silenciamento do gene *Ms8*, também específico da fase miceliana, altera a morfologia, o tamanho e o pigmento das hifas e sua função bioquímica permanece desconhecida. E os genes *Msb2*, *Hog2* e *Stu1* são essenciais para a formação de hifas em temperatura ambiente. Também foi descrito que as vias *Msb2* e *Ryp* se opõem para regular morfologia em resposta à

temperatura. A via *Msb2* predomina em temperatura ambiente e a via *Ryp* predomina à 37° C (RODRIGUEZ et al.,2019; SIL, 2019).

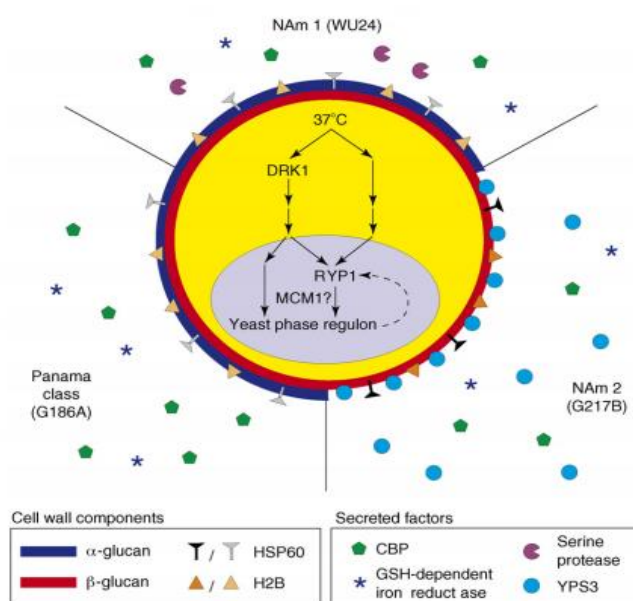
Figura 5: Genes que promovem o crescimento das fases miceliana e leveduriforme.

	Genes que promovem o crescimento de hifas <i>Ms8, Wet1, Msb2, Hog2, Stu1</i>
	Genes que promovem o crescimento de leveduras <i>Drk1, Ryp1, Ryp2, Ryp3, Ryp4, Vea1</i>

Fonte: Adaptado de SIL, 2019.

Na fase leveduriforme, há fatores que são secretados por *H. capsulatum* e componentes da parede celular que estão diretamente relacionados com a virulência e que diferem entre os diferentes grupos filogenéticos. Na figura 6, mostra que a alteração na expressão gênica induzida pela temperatura é mediada por *Drk1* e *Ryp1* por meio de vias independentes ou que se convergem. Enquanto as cepas da classe NAm 1 e do Panamá possuem a α -glucana na superfície celular para ocultar a β -glucana, as cepas da classe NAm2 expressam significativamente a proteína específica da fase leveduriforme conhecida como YPS3, além da adesina HSP60 e da Histona-2B (H2B). Além disso, em todas as cepas a proteína de ligação de cálcio (CBP) e a ferro-redutase dependente de glutatona são secretadas (HOLBROOK & RAPPLEYE, 2008).

Figura 6: Parede celular de *H. capsulatum* e fatores extracelulares associados à virulência.



Fonte: HOLBROOK & RAPPLEYE, 2008

A expressão de α -1,3-glucana, um polissacarídeo presente na porção exterior da parede celular das leveduras de *H. capsulatum*, tem o intuito de impedir a detecção da β -glucana pelas células do sistema imune do hospedeiro através do receptor dectina-1 durante a infecção e está relacionada à virulência. Além disso, a endoglucanase extracelular (Eng1) hidrolisa β -glucanas expostas na superfície das leveduras diminuindo o reconhecimento pelo receptor dectina-1 e consequentemente respostas pró-inflamatórias (MARION et al., 2006; RAPPLEYE et al., 2007; BEYHAN & SIL, 2019).

Leveduras de *H. capsulatum* podem ainda produzir a proteína YPS3. As cepas que produzem essa proteína, que pode estar localizada na superfície celular ou secretada, tem uma maior tendência a disseminação da levedura para sítios de infecção pulmonares comprovado em experimento *in vivo* com camundongos e indicando que a sua expressão é necessária para a virulência (KLEIN & TEBBETS, 2007; HOLBROOK & RAPPLEYE, 2008).

As leveduras de *H. capsulatum* liberam a proteína de ligação de cálcio (CBP), outro fator específico da fase leveduriforme que é altamente expresso e que está diretamente relacionado ao processo de morte celular de macrófagos. Esta proteína desempenha um papel nutricional na aquisição de cálcio semelhante ao papel dos sideróforos na aquisição de ferro. A fase miceliana de *H.*

capsulatum, que não expressa CBP, foi consideravelmente mais suscetível à restrição de crescimento devido à limitação de cálcio do que a levedura expressando CBP (WOODS, 2016; BEYHAN & SIL, 2019).

Outras moléculas importantes são as proteínas de choque térmico (HSPs), biomoléculas que são expressas em respostas a várias condições de estresse para facilitar a sobrevivência do fungo. Elas podem ser encontradas de forma ubíqua no citosol, na mitocôndria, no retículo endoplasmático, núcleo e na membrana da célula. Essas proteínas são divididas em famílias baseadas no seu peso molecular. Elas são induzidas nos fungos por dois mecanismos: mecanismo geral e específico. O primeiro é induzido por estresses como pH (acidez e basicidade), estresse oxidativo, osmótico e estresse antifúngico; o segundo é induzido pela mudança da temperatura. Em *H. capsulatum*, a HSP60 é uma proteína que se liga ao receptor CR3 presente nos macrófagos facilitando a entrada da levedura além da replicação dentro da célula hospedeira, e a HSP70 é necessária principalmente durante a adaptação inicial em resposta ao aumento da temperatura (EDWARDS et al.; 2011; CLEARE et al., 2017).

Atividades mediadas por sideróforos são de grande importância nos mecanismos de aquisição de ferro de *H. capsulatum*, e já foi demonstrada por abordagens de identificação e manipulação de genes. Os sideróforos são secretados por *H. capsulatum* quando cultivados em um meio com baixo teor de ferro e estudos demonstram que o crescimento intracelular de leveduras de *H. capsulatum* é extremamente sensível à disponibilidade de ferro. Através da inativação do gene *Sid1*, sideróforos pararam de ser sintetizados, observou-se um crescimento restrito e a diminuição da virulência (HILTY; SMULIAN & NEWMAN, 2011; LASKOWSKI-PEAK et al., 2012; WOODS, 2016).

Três catalases são produzidas por *H. capsulatum* em resposta ao estresse oxidativo para combater a produção de peróxido de hidrogênio pelos fagossomos: Catalase A (CAT A), Catalase B (CAT B) e Catalase P (CAT P). A CAT A é produzida pela forma miceliana de *H. capsulatum* ou quando as leveduras ficam expostas ao peróxido de hidrogênio. A CAT B e CAT P são constitutivamente expressas, o que as difere é que a CAT B exerce seu papel extracelularmente e a CAT P intracelularmente. (RAPPEYE & GOLDMAN, 2006; HOLBROOK et al., 2011; BOYCE & ANDRIANOPOULOS, 2015).

Outras proteínas relacionadas ao estresse oxidativo são as superóxido dismutases. A secreção da enzima superóxido dismutase SOD3 e da Catalase B permite que as leveduras eliminem moléculas de oxigênio reativas antifúngicas produzidas pelas células hospedeiras fagocíticas através do complexo enzimático NADPH oxidase (HOLBROOK et al., 2011; WOODS, 2016; BEYHAN & SIL, 2019).

A melanina é um fator de virulência descrito em várias espécies fúngicas, e em *H. capsulatum* é produzido tanto na fase miceliana quanto na leveduriforme, porém não pelas hifas, apenas pelos conídios e leveduras. A produção deste pigmento pode aumentar a resistência às respostas do sistema imunológico do hospedeiro, reduzir a suscetibilidade às drogas antifúngicas e promover a sua sobrevivência em diferentes ambientes (TABORDA et al., 2008).

4 DISCUSSÃO

A superfície da célula de levedura constitui a interface primária entre *H. capsulatum* e o macrófago hospedeiro. Durante a infecção pulmonar, o fungo é encontrado predominantemente dentro dos macrófagos alveolares. Como as proteínas surfactantes pulmonares podem matar diretamente a levedura, a captação de células de *H. capsulatum* por macrófagos fornece uma proteção para o crescimento e replicação de leveduras. Contudo, na fagocitose, as leveduras exibem uma série de moléculas em sua superfície celular designadas especificamente para entrar e sobreviver dentro dos fagócitos tentando subverter ou evitar a ativação de defesas antifúngicas (HOLBROOK & RAPPLEYE, 2008). Deste modo, reforçamos a ideia de que o dimorfismo pode ser considerado um dos fatores associados à virulência de maior importância para a patogenicidade de *H. capsulatum*.

Estudos prévios demonstram que a α -1,3-glucana está ligada à virulência em algumas cepas de *H. capsulatum* e ainda de diversos outros fungos patogênicos como *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis* e *Cryptococcus neoformans* (SEPÚLVEDA et al., 2014).

A proteína Histona 2B, encontrada na parede celular de *H. capsulatum*, é uma candidata potencial para o desenvolvimento de vacina contra este fungo,

visto que, em um modelo de infecção murino a carga fúngica foi reduzida através da administração de anticorpos monoclonais (NOSANCHUK et al., 2003).

Estudos anteriores sugerem a correlação entre a expressão da proteína YPS3 e a virulência, uma vez que, mutantes de um modelo de camundongo tiveram a carga fúngica significativamente reduzida com o silenciamento do gene *Yps3*. Além disso, a proteína YPS3 é homóloga à adesina de *Blastomyces dermatitides* conhecida como BAD1 (BOHSE & WOODS, 2007; EDWARDS et al., 2013).

Entre as proteínas secretadas por *H. capsulatum*, a de maior abundância é a CBP. A literatura reporta que cepas com disrupção do gene *Cbp1* cresceram normalmente *in vitro*, porém, foram atenuadas em um modelo de camundongo com infecção pulmonar experimental (BECK et al., 2008; HILTY, SMULIAN & NEWMAN, 2008).

Outras proteínas importantes para a virulência de *H. capsulatum* são as proteínas de choque térmico. Além de estarem envolvidas na resposta ao estresse térmico, as proteínas HSP60 e HSP70 desenvolvem um importante papel como proteínas imunogênicas. Elas são extremamente importantes na patogênese de *H. capsulatum*, visto que também são consideradas potenciais candidatas a imunoterapia, pois são importantes alvos da resposta imune do hospedeiro durante a infecção (CLEARE et al., 2017).

Já foi descrito também que a expressão do gene *Sid1* é necessária para a produção de sideróforos e crescimento dentro dos macrófagos, além disso a proteína ferro-redutase dependente de glutatona também está envolvida no aumento do crescimento de *H. capsulatum* em meios com baixa concentração de ferro (HILTY; SMULIAN & NEWMAN, 2011).

Como visto anteriormente, catalases apresentam um papel importante na resposta ao estresse oxidativo em *H. capsulatum*. No entanto, a CAT B, também conhecida como antígeno M, além da função anteriormente descrita, é aplicada em testes sorológicos para o diagnóstico da histoplasmose através da detecção de anticorpos (ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 1999).

Estudos de Youseff e colaboradores indicam que as leveduras de *H. capsulatum* que produzem a proteína superóxido dismutase SOD3 sobrevivem à incubação com leucócitos polimorfonucleares e macrófagos ativados por citocinas, entretanto as que não têm SOD3 são eliminadas por morte oxidativa

semelhante às leveduras de *Candida albicans*. Sem a SOD3, leveduras de *H. capsulatum* são atenuadas em sua capacidade de estabelecer infecções respiratórias e rapidamente eliminadas com o início da resposta imune (YOUSEFF et al., 2012).

As melaninas são descritas como fatores de virulência em várias espécies fúngicas como: *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Sporothrix schenckii*, entre outros. Pelo menos três tipos de melanina podem ser produzidos: eumelanina, piomelanina e melanina DHN. Em *H. capsulatum*, já foi descrita a produção da melanina DHN na parede celular dos conídios, e melanina do tipo eumelanina nas leveduras utilizando a L-DOPA como substrato (NOSANCHUK et al., 2002). E ainda, cepas cultivadas na fase leveduriforme produziram um pigmento solúvel compatível com piomelanina quando crescidas na presença de L-tirosina (ALMEIDA-PAES et al., 2018).

5 CONCLUSÃO

A mudança na morfologia por meio da temperatura que distingue os fungos dimórficos, como *H. capsulatum*, é uma manifestação visual de diversas alterações na expressão de genes que ocorrem e são fundamentais para a expressão da virulência.

Esta revisão demonstra que o estudo dos fatores de virulência é extremamente importante, nos proporcionando um melhor entendimento dos mecanismos utilizados por *H. capsulatum* para aumentar a capacidade de causar infecção e sobreviver no hospedeiro, se multiplicando nos macrófagos. Além disso, tais conhecimentos permitiriam futuramente o desenvolvimento de mecanismos de prevenção como vacina, novos tratamentos com drogas mais eficazes e/ou métodos mais acurados de diagnóstico.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. A. et al. The occurrence of histoplasmosis in Brazil: A systematic review. **Int J Infect Dis**, 86, p.147-156, 2019.

ALMEIDA, M. A. **Validação de ensaio imunoenzimático (Western Blot) para o diagnóstico da histoplasmose**. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. Rio de

Janeiro, p. 96. 2014.

ALMEIDA F.; LACAZ; C.S. Cogumelo do gênero *Histoplasma* isolado de lesões de cromomicose - Associações de fungos nas lesões. **Folia Clinica et Biológica**. 11: 65-9, 1939.

ALMEIDA-PAES, R. et al. L-tyrosine induces the production of a pyomelanin-like pigment by the parasitic yeast-form of *Histoplasma capsulatum*. **Medical mycology**, v. 56, n. 4, p. 506-509, 2018.

BECK, M. R. et al. Structural features responsible for the biological stability of *Histoplasma*'s virulence factor CBP. **Biochemistry**, v. 47, n. 15, p. 4427-4438, 2008.

BEYHAN, S. et al. A temperature-responsive network links cell shape and virulence traits in a primary fungal pathogen. **PLoS Biol**, v. 11, n. 7, p. e1001614, 2013.

BEYHAN, S.; SIL, A. Sensing the heat and the host: Virulence determinants of *Histoplasma capsulatum*. **Virulence**, v. 10, n. 1, p. 793-800, 2019.

BOHSE, M. L.; WOODS, J. P. RNA interference-mediated silencing of the YPS3 gene of *Histoplasma capsulatum* reveals virulence defects. **Infection and immunity**, v. 75, n. 6, p. 2811-2817, 2007.

BOYCE, K. J.; ANDRIANOPOULOS, A. Fungal dimorphism: the switch from hyphae to yeast is a specialized morphogenetic adaptation allowing colonization of a host. **FEMS microbiology reviews**, v. 39, n. 6, p. 797-811, 2015.

CLEARE, L. G.; ZAMITH-MIRANDA, D.; NOSANCHUK, J.D. Heat Shock Proteins in *Histoplasma* and *Paracoccidioides*. **Clin Vaccine Immunol**, v. 24, n. 11, 2017.

DAMASCENO, L. S. et al. Novel clinical and dual infection by *Histoplasma capsulatum* genotypes in HIV patients from Northeastern, Brazil. **Sci Rep** 9, 11789, 2019.

DARLING, S. T. A protozoan general infection producing pseudotubercles in the lungs and focal necrosis in the liver, spleen and lymph nodes. **J Am Med Assoc**, v. 46, n. 17, p. 1283-1285, 1906.

DA ROCHA-LIMA, H. Histoplasmosis und epizootische Lymphangitis. **Arch F Schiffs Tropen Hyg**, v. 16, p. 79-85, 1912.

DE MONBREUN, W. A. The cultivation and cultural characteristics of Darling's *Histoplasma capsulatum*. **Am J Trop Med**. v. 14, n. 2, p. 93-125, 1934.

EDWARDS, J. A. et al. *Histoplasma* yeast and mycelial transcriptomes reveal pathogenic-phase and lineage-specific gene expression profiles. **BMC genomics**, v. 14, n. 1, p. 1-19, 2013.

EDWARDS, J. A; RAPPLEYE, C.A. *Histoplasma* mechanisms of pathogenesis – one portfolio doesn't fit all. **FEMS Microbiol Lett**, nov; 324 (1): 1–9, 2011.

EDWARDS, J. A.; ZEMSKA, O.; RAPPLEYE, C. A. Discovery of a role for Hsp82 in *Histoplasma* virulence through a quantitative screen for macrophage lethality. **Infection and immunity**, v. 79, n. 8, p. 3348-3357, 2011.

GAUTHIER, G. M. Fungal Dimorphism and Virulence: Molecular Mechanisms for Temperature Adaptation, Immune Evasion, and In Vivo Survival. **Mediators Inflamm.**, v. 2017, p. 8491383, 2017.

GÓRALSKA, K.; BLASZKOWSKA, J.; DZIKOWIEC, M. Neuroinfections caused by fungi. **Infection**, v. 46, n. 4, p. 443–459, 2018.

GUERRA, B.T. et al. Histoplasmosis Outbreaks in Brazil: Lessons to Learn About Preventing Exposure. **Mycopathologia**. Dec 16, 2019.

HILTY, J.; SMULIAN, A. G.; NEWMAN, S. L. The *Histoplasma capsulatum* vacuolar ATPase is required for iron homeostasis, intracellular replication in macrophages and virulence in a murine model of histoplasmosis. **Molecular microbiology**, v. 70, n. 1, p. 127-139, 2008.

HILTY, J.; SMULIAN, A. G.; NEWMAN, S. L. *Histoplasma capsulatum* utilizes siderophores for intracellular iron acquisition in macrophages. **Medical mycology**, v. 49, n. 6, p. 633-642, 2011.

HOLBROOK, E. D. et al. Definition of the extracellular proteome of pathogenic-phase *Histoplasma capsulatum*. **Journal of proteome research**, v. 10, n. 4, p. 1929-1943, 2011.

HOLBROOK, E. D.; RAPPLEYE, C.A. *Histoplasma capsulatum* pathogenesis: making a lifestyle switch. **Curr Opin Microbiol.**, v. 11, n. 4, p. 318-24, 2008.

IYALLA, C. A review of the virulence factors of pathogenic fungi. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, v. 18, n. 1, p. 53-58, 2017.

KAUFFMAN, C. A. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. **Clin Microbiol Rev.**, 20: 115-132, 2007.

KLEIN, B. S; TEBBETS, B. Dimorphism and virulence in fungi. **Curr Opin Microbiol**.Aug; 10 (4): 314-9, 2007.

LASKOWSKI-PEAK, M. C. et al. VEA1 is required for cleistothecial formation and virulence in *Histoplasma capsulatum*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 49, n. 10, p. 838-846, 2012.

LONGO, L. V. G et al. Characterization of the APSES-family transcriptional regulators of *Histoplasma capsulatum*. **FEMS yeast research**, v. 18, n. 8, p. foy087, 2018.

MARION, C. L. et al. An α -(1, 4)-amylase is essential for α -(1, 3)-glucan production and virulence in *Histoplasma capsulatum*. **Molecular microbiology**, v. 62, n. 4, p. 970-983, 2006.

MIHU, M. R.; NOSANCHUK, J. D. *Histoplasma* virulence and host responses. **Int. J. Microbiol.**, v.1, n. 1, p. 1-5, 2012.

MITTAL, J. et al. *Histoplasma capsulatum*: Mechanisms for Pathogenesis. **Curr Top Microbiol Immunol.**, 422: 157–191, 2019.

NEMECEK, J. C; WÜTHRICH, M; KLEIN, B.S. Global Control of Dimorphism and Virulence in Fungi. **Science**, 28; 312 (5773):583-8, 2006.

NOSANCHUK, J. D. et al. *Histoplasma capsulatum* synthesizes melanin-like pigments in vitro and during mammalian infection. **Infect Immun**, v. 70, n. 9, p. 5124-31, 2002.

NOSANCHUK, J. D. et al. Antibodies to a cell surface histone-like protein protect against *Histoplasma capsulatum*. **The Journal of clinical investigation**, v. 112, n. 8, p. 1164-1175, 2003.

RAPPLEYE, C. A., EISSENBERG, L.G., GOLDMAN, W.E. *Histoplasma capsulatum* α -(1,3) glucan blocks innate immune recognition by the beta-glucan receptor. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 10, p.1366-1370, 2007.

RAPPLEYE, C. A.; GOLDMAN, W. E. Defining virulence genes in the dimorphic fungi. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 60, p. 281-303, 2006.

RODRIGUEZ, L. et al. Opposing signaling pathways regulate morphology in response to temperature in the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. **PLoS biology**, v. 17, n. 9, p. e3000168, 2019.

SEPÚLVEDA, V. E. et al. Genome Sequences Reveal Cryptic Speciation in the Human Pathogen. **MBio**, v. 8, n. 6, 2017.

SEPÚLVEDA, V. E.; WILLIAMS, C. L.; GOLDMAN, W. E. Comparison of phylogenetically distinct *Histoplasma* strains reveals evolutionarily divergent virulence strategies. **MBio**, v. 5, n. 4, 2014.

SHEN, Q.; RAPPLEYE, C. A. Differentiation of the fungus *Histoplasma capsulatum* into a pathogen of phagocytes. **Current opinion in microbiology**, v. 40, p. 1-7, 2017.

SIL, A. Molecular regulation of *Histoplasma* dimorphism. **Curr Opin Microbiol.**; 52:151-157, 2019.

SIL, A.; ANDRIANOPOULOS, A. Thermally dimorphic human fungal pathogens—polyphyletic pathogens with a convergent pathogenicity trait. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 5, n. 8, p. a019794, 2015.

TABORDA, C. P. et al. Melanin as a virulence factor of *Paracoccidioides brasiliensis* and other dimorphic pathogenic fungi: a minireview. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4-5, p. 331, 2008.

TIWARI, S.; THAKUR, R.; SHANKAR, J. Role of Heat-Shock Proteins in Cellular Function and in the Biology of Fungi. **Biotechnology Research International**, 2015.

YOUSEFF, B. H. et al. Extracellular superoxide dismutase protects *Histoplasma* yeast cells from host-derived oxidative stress. **PLoS Pathog**, v. 8, n. 5, p. e1002713, 2012.

WHEAT, L. J. et al. Histoplasmosis. **Infect Dis Clin North Am.**, v. 30, n. 1, p. 207-27, 2016.

WOODS, J. P. Revisiting old friends: Developments in understanding *Histoplasma capsulatum* pathogenesis. **Journal of microbiology**, v. 54, n. 3, p. 265-276, 2016.

ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M. et al. Molecular cloning, characterization, and expression of the M antigen of *Histoplasma capsulatum*. **Infection and immunity**, v. 67, n. 4, p. 1947-1953, 1999.

ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M; MUNIZ, M. M; WANKE, B. Histoplasmose. In: *Dinâmica da doenças infecciosas e parasitárias*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1: 1238- 1249, 2013.