



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE PÚBLICA
NOS TRÓPICOS**

FELIPE RAMOS DA SILVA

**PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOMARCADORES DE DANOS HEPÁTICOS E
RENIS EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR *Paracoccidioides brasiliensis* E
TRATADOS COM NANOPARTÍCULAS DE ITRACONAZOL POR VIA INALATÓRIA**

ARAGUAÍNA-TO
2025

FELIPE RAMOS DA SILVA

**PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOMARCADORES DE DANOS HEPÁTICOS E
RENIS EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR *Paracoccidioides brasiliensis* E
TRATADOS COM NANOPARTÍCULAS DE ITRACONAZOL POR VIA INALATÓRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Tocantins como requisito para a obtenção de grau de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos.

Orientadora: Prof. Dr. Fabiano Mendes de Cordova.
Coorientador: Prof. Dr. Ana Patrícia de Carvalho da Silva

ARAGUAÍNA-TO
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Geração de Ficha Catalográfica SGFC-UFNT
Gerado automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586p Silva, Felipe.

PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOMARCADORES DE DANOS
HEPÁTICOS E RENAIIS EM CAMUNDONGOS INFECTADOS
POR *Paracoccidioides brasiliensis* E TRATADOS COM
NANOPARTÍCULAS DE ITRACONAZOL POR VIA
INALATÓRIA / Felipe Silva. - Centro de Ciências Agrárias - CCA,
TO, 2025.

57 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) (Pós-Graduação - Programa de
Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos -
PPGSaspt) -- Universidade Federal do Norte do Tocantins, 2025.

Orientador: Fabiano Mendes de Cordova.

Coorientadora: Ana Patrícia de Carvalho da Silva.

CDD 619

1. Paracoccidioidomycose. 2. Itraconazol. 3. Nanopartículas.

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de
qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada
a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo
artigo 184 do Código Penal.


FELIPE RAMOS DA SILVA

PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOMARCADORES DE DANOS HEPÁTICOS E RENAIIS EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR *Paracoccidioides brasiliensis* E TRATADOS COM NANOPARTÍCULAS DE ITRACONAZOL POR VIA INALATÓRIA


Dissertação apresentada à UFNT - Universidade Federal do Norte do Tocantins – Centro de Ciências Agrárias, Curso de mestrado em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos foi avaliada para obtenção do título de mestre e aprovada em sua versão final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data da aprovação: 24/03/2025


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 FABIANO MENDES DE CORDOVA
Data: 24/03/2025 13:04:16-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fabiano Mendes de Cordova – Universidade Federal do Norte do Tocantins

Documento assinado digitalmente
 KATYANE DE SOUSA ALMEIDA
Data: 21/05/2025 20:48:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Katyane Sousa Almeida - Universidade Federal do Norte do Tocantins

Documento assinado digitalmente
 ANA LUCIA ABREU SILVA
Data: 24/03/2025 14:00:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Abreu Silva – Universidade Estadual do Maranhão

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir ter chegado até aqui, e me concedido infinitas graças ao longo de todos estes anos de minha existência.

Agradeço a minha esposa Cristina por ter me apoiado em todos os momentos, ter me acolhido sempre com muito amor, carinho e atenção e me auxiliado durante todo experimento.

Agradeço a minha mãe Maria José e ao meu filho Arthur por terem sido alicerce de perseverança dessa longa caminhada.

Agradeço a minha Professora Dr^a Ana Patrícia, por ter me aceito e confiado a mim todo este processo, ter me ajudado em todos os detalhes, problemas e trabalho duro. Agradeço também a seu marido Dr Auricélio, por tamanha ajuda em todos os momentos necessários.

Agradeço a família da minha esposa por sempre estarem por perto, e ajudarem em tudo o que precisamos nessa jornada.

Agradeço à banca avaliadora por se disponibilizar para este momento tão importante em minha vida.

Agradeço a todos amigos e colegas que me auxiliaram em todo o possível dentro do experimento e fora, em tudo o que foi necessário: Dr Sandro Moron, Dr Leonardo Burns, Dr^a Helciléia Santos, Dr^a Samara Galvão, Dr Marcelo Paulino, Dr João Gabriel Gonçalves, Dr^a Lêu Espíndola, Dr Arivan, Gil e Eliana.

RESUMO

A Paracoccidioidomicose (PCM) é uma doença fúngica crônica que causa significativos impactos à saúde. É endêmica na América do Sul, com o Brasil registrando o maior número de casos. Entre os estados brasileiros, o Tocantins é considerado uma área endêmica para a doença. A transmissão se dá pela inalação de conídios e hifas do fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis* e afeta homens que trabalham no campo e com idade superior a 60 anos. A micose apresenta forma aguda ou crônica, se instalando principalmente no sistema respiratório superior e podendo se disseminar para outros tecidos, formando granulomas que podem levar o hospedeiro a óbito. O tratamento de escolha para PCM é o Itraconazol (ITZ) por via oral, geralmente a longo prazo de uso, causando efeitos colaterais como distúrbios gástricos, hepáticos e renais. Dessa forma, faz-se necessária a adoção de novos meios de tratamento que visem maior segurança para o paciente em tratamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil hematológico e bioquímico de camundongos infectados com *P. brasiliensis* e tratados com nanopartículas de ITZ por via inalatória. Foram utilizados 20 camundongos Balb/c, divididos em 4 grupos: controle positivo (infectados e não tratados), controle negativo (não infectados), tratados com ITZ oral com 1mg/animal/ SID e tratados com nanopartículas de ITZ na dose de 1mg/animal/SID. Após 14 dias de infecção os animais foram tratados durante 7 dias. Ao final do tratamento os animais foram eutanasiados e coletado amostra de sangue para avaliação dos parâmetros hematológicos e de biomarcadores de danos hepáticos e renais. Os camundongos tratados com nanopartículas de itraconazol apresentaram poliglobulia, eosinofilia, linfocitose, monocitose, hipertransaminosemia e hipercreatininemia, demonstrando ter efeitos mínimos quando comparados ao grupo sem tratamento e tratados com itraconazol por via oral. Dessa forma, este tratamento pode ser utilizado como alternativo, com menor potencial tóxico.

Palavras-chave: eritrócitos; enzimas. Balb/c; paracoccidioidomicose; tratamento; antifúngico

ABSTRACT

Paracoccidioidomycosis (PCM) is a chronic fungal disease that significantly impacts health. It is endemic in South America, with Brazil reporting the highest number of cases. Among the Brazilian states, Tocantins is considered an endemic area for the disease. Transmission occurs through the inhalation of conidia and hyphae of the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*, and it primarily affects men who work in rural areas and are over 60 years old. The mycosis presents in either acute or chronic form, mainly affecting the upper respiratory system and potentially spreading to other tissues, forming granulomas that may lead to the host's death. The treatment of choice for PCM is oral itraconazole (ITZ), usually administered over a long term, which can cause side effects such as gastric, hepatic, and renal disorders. Thus, it is necessary to adopt new treatment approaches that offer greater safety for patients undergoing therapy. This study aimed to evaluate the hematological and biochemical profile of mice infected with *P. brasiliensis* and treated with ITZ nanoparticles via inhalation. Twenty Balb/c mice were used, divided into four groups: positive control (infected and untreated), negative control (uninfected), treated with oral ITZ at a dose of 1 mg/animal/once daily (SID), and treated with ITZ nanoparticles at a dose of 1 mg/animal/SID. Fourteen days after infection, the animals were treated for seven days. At the end of the treatment, the animals were euthanized and blood samples were collected for the evaluation of hematological parameters and biomarkers of hepatic and renal damage. Mice treated with itraconazole nanoparticles showed polycythemia, eosinophilia, lymphocytosis, monocytosis, elevated transaminases, and increased creatinine levels, indicating minimal effects when compared to the untreated group and the group treated with oral itraconazole. Thus, this treatment may be used as an alternative with lower toxic potential.

Keywords: erythrocytes; enzymes; Balb/c; paracoccidioidomycosis; therapeutics; antifungal

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

- Figura 1** - Fotomicrografia de *P. brasiliensis* recuperado a partir de inóculo de Pb18.....8
- Figura 2** - Ciclo de vida de *Paracoccidioides* em humanos.....11
- Figura 3** - Lesão cutânea ulcerada de paracoccidioidomicose.....13
- Figura 4** - Estomatite moriformena paracoccidioidomicose.....14

CAPÍTULO 2

- Figura 1** - Esquema de formulação de nanopátulas de itraconazol.....30
- Figura 2** - Esquema de recuperação de *P. brasiliensis* a partir do RPMI.....31
- Figura 3** - Tratamento via oral com itraconazol em camundongo Balb/c.....32
- Figura 4** - Câmara de nebulização com exposição exclusiva para narinas. Tratamento de camundongos Balb/c através de nebulização com nanopátulas de itraconazol.....33

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Média, desvio padrão e valores de referência de parâmetros hematológicos de camundongos Balb/c.....	35
Tabela 2 - Média, desvio padrão e valores de referência de parâmetros bioquímicos de camundongos Balb/c.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FA	Fosfatase alcalina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GCN	Grupo Controle Negativo (experimento)
GCP	Grupo Controle Positivo (experimento)
GTO	Grupo Tratamento via Oral (experimento)
GTN	Grupo Tratamento com Nanopartículas (experimento)
HCT	Hematócrito
HGB	Hemoglobina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ITZ	Itraconazol
PCM	Paracoccidiodomicose
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PLT	Plaquetas
RBC	Glóbulos vermelhos (<i>Red Blood Cells</i>)
SID	<i>Semel in Die</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
UFG	Universidade Federal de Goiás
UFT	Universidade Federal do Tocantins
UNESP	Universidade Estadual Paulista
VCM	Volume Corpuscular Médio
WBC	Glóbulos brancos (<i>White Blood Cells</i>)
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

LISTA DE SÍMBOLOS

μl	Microlitro
$^{\circ}\text{C}$	Graus celsius
ml	Mililitro
%	Porcento
<	Menor que
Km	Quilómetros
g	Gramas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	4
1 INTRODUÇÃO.....	4
2 OBJETIVOS.....	6
2.1 Objetivo geral.....	6
2.2 Objetivo Específico.....	6
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	7
3.1 Paracoccidiodomicose.....	7
3.2 Etiologia.....	7
3.3 Epidemiologia.....	9
3.4 Patogenia.....	11
3.5 Patologia.....	12
3.6 Alterações hematológicas na Paracoccidiodomicose.....	15
3.7 Alterações bioquímicas na Paracoccidiodomicose.....	15
3.8 Diagnóstico.....	17
3.9 Tratamento.....	17
REFERENCIAIS.....	19

CAPÍTULO 2. Perfil hematológico e bioquímico de camundongos experimentalmente infectados por <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> e tratados com nanopartículas de itraconazol por via inalatória.....	25
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
2.1 Local de estudo.....	29
2.2 Animais e Declaração Ética.....	29
2.3 Formulação de nanopartículas de itraconazol.....	29
2.4 Preparação do inóculo.....	30
2.5 Infecção experimental.....	31
2.6 Tratamento experimental.....	32
2.7 Eutanásia e necropsia.....	33
2.8 Coleta de sangue.....	33

2. 9 Avaliação hematológica.....	34
2. 10 Avaliação bioquímica.....	34
2. 11 Análise estatística.....	34
3 RESULTADOS.....	35
3. 1 Perfil hematológico.....	35
3. 2 Perfil Bioquímico.....	36
4 DISCUSSÃO.....	37
5 CONCLUSÃO.....	41
REFERENCIAIS.....	42
CAPÍTULO 3.....	47
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A Paracoccidioidomicose (PCM), causada por um fungo dimórfico termo-dependente *Paracoccidioides brasiliensis*, é uma doença sistêmica de grande importância à saúde pública, sendo a oitava causa mais comum de morte por doenças infecciosas crônicas e recorrente no Brasil (Silva *et al.*, 2021). É a infecção fúngica mais importante da América Latina (Palmeiro *et al.*, 2005) e o Brasil lidera em número de casos (Maluf *et al.*, 2003) e a região norte do estado do Tocantins, reconhecidamente uma área endêmica (Santos-Júnior, 2019).

A maior prevalência desta doença está principalmente relacionadas a trabalhadores rurais do sexo masculino de meia idade, devido a fase filamentosa destes fungos habitar solos férteis e ricos em vegetação (Silva *et al.*, 2021). Tem como principal via de infecção a via aerógena, acometendo o sistema respiratório superior e pulmões (Santos *et al.*, 2019), mas pode disseminar-se para outros órgãos pela via linfo-hematogênica (Santos-Júnior, 2019). O estabelecimento da doença depende da interação do fungo e a resposta imunológica do hospedeiro, podendo a partir desta apresentar-se sintomática ou assintomática. (Santos *et al.*, 2019).

O tratamento da PCM consiste na redução da carga parasitária, recuperação da imunidade celular do hospedeiro, e manutenção terapêutica. Sendo utilizados principalmente 3 grupos de drogas: anfotericina B, sulfamídicos e azólicos (Franz *et al.*, 2022). O agente *P. brasiliensis* é susceptível a maior parte dos antifúngicos, porém o tratamento prolongado pode causar efeitos adversos como reações de hipersensibilidade, sintomas gastrintestinais, anemia hemolítica e possível potencial para desenvolver lesões no SNC (Santos *et al.*, 2019).

A administração por via inalatória de antibióticos já é descrita desde a década de 1940 com a utilização de fármacos projetados para via parenteral, e mais tarde em 1997, a utilização de tobramicina por via inalatória foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA), trazendo grande avanço terapêutico (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2008).

Os estudos de novas vias de administração de medicamentos são necessários para auxiliar na melhora da farmacocinética e terapêutica de drogas, buscando menores efeitos colaterais (Yang *et al.*, 2010). A utilização de nanopartículas de itraconazol por via inalatória para o tratamento de aspergilose pulmonar se mostrou eficaz em papagaios e falcões, visto o objetivo de concentrar a

ação do fármaco no sítio da infecção, proporcionando diminuição dos efeitos colaterais e exposição sistêmica (Wlaź *et al.*, 2015).

As pesquisas com nanopartículas de itraconazol ainda são incipientes e por conta disso são necessários estudos mais aprofundados para avaliar as alterações ocasionadas pelo tratamento inalatório e verificar sua eficácia. Uma das formas de avaliação do potencial tóxico de uma medicação é através da análise do perfil hematológico e bioquímico do indivíduo, sendo a avaliação de tais parâmetros nos animais de laboratório de suma importância, visto que estes servem como base na avaliação das alterações funcionais dos órgãos (Barbosa *et al.*, 2017).

Resultados importantes obtidos pelo nosso grupo de pesquisa, como redução significativa de granulomas nos pulmões de camundongos experimentalmente infectados com *P. brasiliensis* e tratados com nanopartículas de itraconazol por via inalatória, nos direcionam para uma análise mais aprofundada da utilização desta medicação por esta via, necessitando-se de mais informações acerca do potencial tóxico das nanopartículas de itraconazol por via inalatória no tratamento da PMC.

Assim, a avaliação dos perfis hematológico e bioquímico de camundongos durante infecção e tratamento da PMC pela via e medicação propostas por nós é de extrema necessidade e importância no cenário da Saúde Pública, visando principalmente minimizar os efeitos colaterais do uso do ITZ durante o tratamento e consequentemente diminuir a evasão de pacientes em tratamento de paracoccidiodomicose.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil hematológico e bioquímico de camundongos infectados por *Paracoccidioides brasiliensis* submetidos ao tratamento inalatório com nanopartículas de itraconazol.

2.2 Objetivo específico

- (i) Avaliar os parâmetros hematológicos de camundongos infectados por *Paracoccidioides brasiliensis* e tratados por via inalatória com nanopartículas de itraconazol.
- (ii) Avaliar biomarcadores de danos renais (ureia e creatinina) de camundongos infectados por *Paracoccidioides brasiliensis* e tratados por via inalatória com nanopartículas de itraconazol.
- (iii) Avaliar biomarcadores de danos hepáticos (Alanina aminotransaminase, Aspartato aminotransaminase e Fosfatase Alcalina) de camundongos infectados por *Paracoccidioides brasiliensis* e tratados por via inalatória com nanopartículas de itraconazol.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Paracoccidioidomicose

A paracoccidioidomicose é uma doença fúngica crônica que afeta principalmente países da América Latina, como o Brasil, onde é endêmica. A doença foi descrita pela primeira vez em 1908 por Adolf Lutz, que relatou o desenvolvimento de lesões cutâneas, em mucosas e linfonodos de pacientes acometidos (Lutz, 1908). Posteriormente, observou-se a presença de uma forma disseminada da doença acometendo outros órgãos como os pulmões e outros tecidos (Azevedo e Lisboa, 1980).

A identificação do agente causador da PCM evoluiu ao longo do tempo, inicialmente como *Zymonema brasiliensis* por Alfonso Splendore e posteriormente como *Paracoccidioides brasiliensis* por Floriano Paulo de Almeida (Lacaz, 1983).

A nomenclatura e a compreensão da doença também mudaram ao longo dos anos. A PCM é conhecida por vários nomes, incluindo blastomicose brasileira, blastomicose sul-americana, doença de Lutz e doença de Lutz-Splendore-Almeida. Essas mudanças refletem a evolução do conhecimento da doença e as diferentes contribuições dos pesquisadores ao longo do tempo (Lacaz, 1983; Bocca *et al.*, 2013).

Inicialmente, diagnosticar e compreender os granulomas associados à PCM foi um desafio, sendo necessário desenvolver métodos de observação de fungos para confirmar o diagnóstico da doença (Carandina e Magaldi, 1974). Além disso, os sinais clínicos da PCM, especialmente o envolvimento pulmonar, inicialmente considerados raros, tornaram-se mais bem compreendidos à medida que as pesquisas avançaram. Essas investigações aprofundadas contribuem para uma melhor compreensão da PCM, seus mecanismos de transmissão e seu impacto na saúde pública (Canelas *et al.*, 1951).

3.2 Etiologia

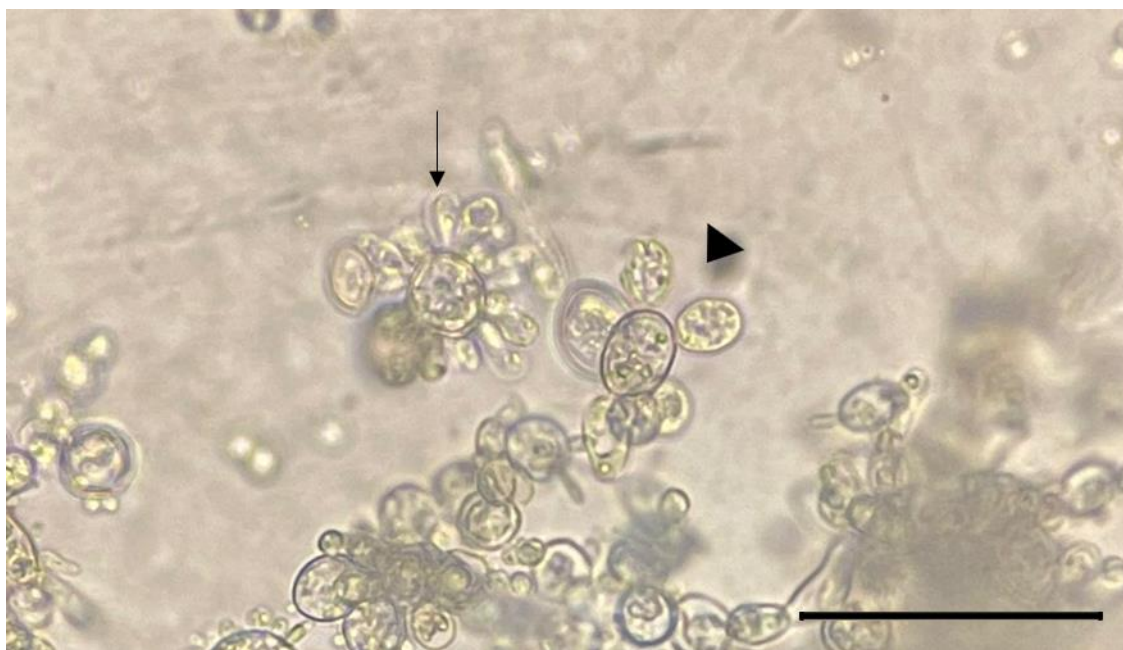
Paracoccidioides brasiliensis é o principal agente etiológico da PCM, que pode ir de uma doença aguda ou subaguda até uma doença crônica progressiva (Santos-Júnior, 2019). Está amplamente distribuído pelo território brasileiro, sendo responsável pelo desenvolvimento de uma doença inflamatória crônica granulomatosa, com predisposição principalmente aos indivíduos de

sexo masculino provenientes de zona rural que possuem contato frequente e direto com vegetações e solo (Brummer et al., 1993, Ramos - e - Silva e Saraiva, 2008).

P. brasiliensis apresenta genética heterogênea com reagrupamento resultando na formação de uma nova espécie, como *P. lutzii*, que também é responsável pelo desenvolvimento de quadro de PCM, fator este, que prejudica a identificação sorológica desta enfermidade (Taborda et al., 2015; Silva et al., 2016).

Este agente etiológico apresenta dimorfismo em resposta às modificações de temperatura, podendo ser encontrado em duas fases: a miceliana, considerado um fungo filamentososo, que pode ser observado na natureza, mas também reproduzido em cultivo in vitro em temperaturas em torno de 28° C, e na forma de levedura, que está associado aos tecidos infectados e na reprodução in vitro em temperaturas de 36 °C (San-Blas, 1993). Na forma parasitária, pode apresentar-se com múltiplos brotamentos (roda de leme- seta) ou brotamento duplo (cabeça de *Mickey* – cabeça de seta) (Figura 1), exoesporulação, membrana birrefringente e uma cromatina bastante evidente, além disso há a sugestão que em termos práticos essas leveduras se assemelhem a uma roda de leme e que pode ser isolado a partir do solo e animais (Almeida et al., 2009; Furtado et al., 1967; San-Blas, 1993)

Figura 1 – Fotomicrografia de *P. brasiliensis* recuperado a partir de inóculo de PbD22



Seta demonstra brotamento múltiplo em ‘roda de leme’ e, a cabeça de seta, brotamento duplo em ‘cabeça de Mickey’. Fotomicrografia em aumento de 1000x. Fonte: Arquivo pessoal (2024)

3.3 Epidemiologia

A paracoccidioidomicose é uma doença endêmica em vários países da América Latina, com maior incidência no Brasil, onde é considerada uma doença negligenciada e representa um problema de saúde pública, especialmente em áreas rurais e regiões tropicais do país (Martinez, 2010).

A distribuição geográfica da PCM no Brasil está associada a fatores ambientais, como a presença do fungo *P. brasiliensis* em solos ricos em matéria orgânica (Bagagli *et al.*, 1998). As regiões sul e sudeste são as mais afetadas, seguidas pela região centro-oeste e norte, sendo endêmica nessas regiões (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2018).

A exposição ao *P. brasiliensis* ocorre principalmente por meio da inalação de esporos presentes no ambiente suspensos no ar devido à manipulação do solo, especialmente durante atividades agrícolas, onde o ser humano pode ter contato com o solo contaminado. As pessoas mais suscetíveis à infecção são aquelas que trabalham em atividades rurais, como agricultores, trabalhadores da pecuária e catadores de palha (Silva *et al.*, 2021). Além disso, a PCM é mais comum em homens do que em mulheres, seguindo a razão de aproximadamente 10:1, que sugere que além da maior ocorrência está relacionado ao trabalho do homem do campo, há também a influência de fatores hormonais na susceptibilidade à infecção (Martinez, 2017).

O Brasil possui registro de altos índices de mortalidade, sendo considerado o centro endêmico para a doença, com uma média de 171 óbitos por ano, destacando os estados da região sudeste e sul, como São Paulo e Paraná (Coutinho *et al.*, 2002) e da região norte com Tocantins (Santos-Júnior, 2019).

A doença afeta principalmente adultos jovens na faixa etária de 30 a 50 anos, é rara em crianças, sendo a forma crônica a apresentação mais comum da PCM. Afeta principalmente os pulmões, mas pode se disseminar e a infecção envolver outros órgãos, como pele, mucosas, linfonodos e órgãos viscerais (Martinez, 2017). Em sua forma crônica pode apresentar um curso clínico lento e progressivo, resultando em sintomas respiratórios crônicos, lesões cutâneas, fadiga e perda de peso (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017).

A distribuição geográfica de *P. brasiliensis* está diretamente relacionada com fatores climáticos onde os locais de vegetação tropical e subtropical são preferíveis e favoráveis para o seu

desenvolvimento. Em levantamento e comparação do número de casos relatados por Veronesi e Focaccia (2005), observa-se que cerca de 80% dos casos diagnosticados na América Latina ocorreram no Brasil, sendo o país mais acometido pela infecção, seguido por Venezuela, Colômbia, Equador, Bolívia e Argentina. Em áreas endêmicas é estimado que até 70% da população susceptível esteja acometida pela infecção (Marques *et al.*, 2007).

Estudos de prevalência como os desenvolvidos por Magalhães *et al.* (2014), mostram que a idade pode ser um fator predisponente à ocorrência da doença, sendo observado com ela uma relação direta, sem dados significativos sobre a relação entre o álcool e o tabagismo. Segundo Martinez (2017), a doença clínica está mais presente quando relacionada a fatores genéticos, alcoolismo e tabagismo, além de fatores de imunossupressão.

Assentamentos rurais são locais com elevada importância no desenvolvimento da PCM em crianças (Marques *et al.*, 2013). Lavouras de café e fumo, e demais atividades agrícolas que relacionam o trabalho direto com o solo, incidem na maior ocorrência desta doença (Martinez, 2017).

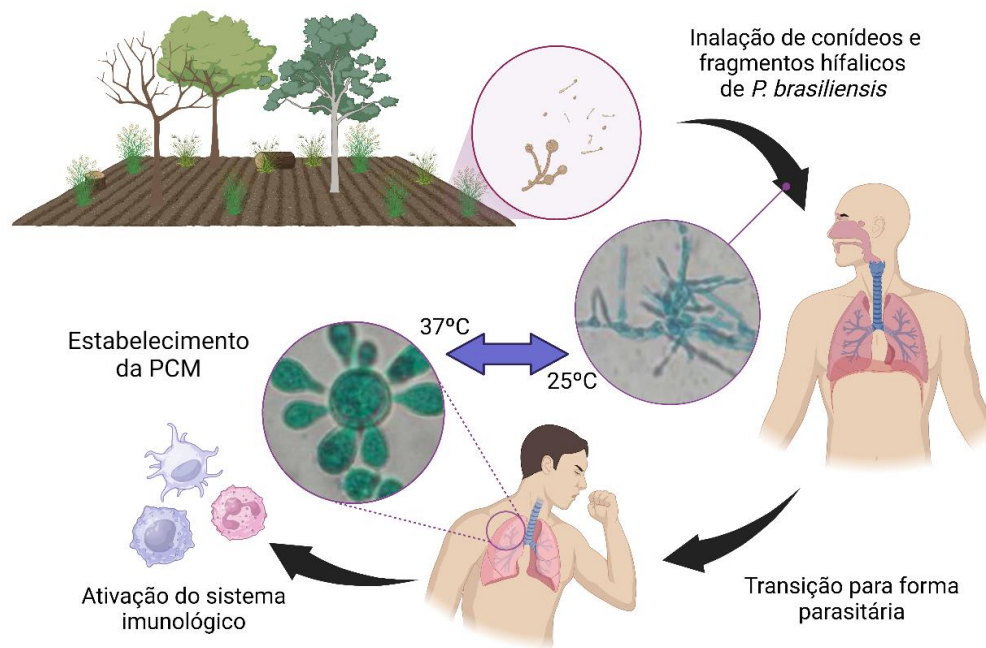
No estado do Tocantins, a paracoccidiodomicose configura-se como um agravo de saúde relevante, especialmente quando observada na macrorregião Norte. A introdução da PCM na lista de doenças de notificação compulsória no âmbito estadual reforça a importância da vigilância epidemiológica para a doença (Tocantins, 2016). Segundo os dados de um estudo conduzido por Fernandes (2023), a Região de Saúde Médio Norte do Araguaia apresentou uma incidência média anual de aproximadamente 2,40 casos/100.000 habitantes, destacando variações que podem ser associadas a fatores sazonais e às atividades agropecuárias intensas na região. Araguaína, em particular, emerge como o município com maior concentração de casos, respondendo por 41,46% do total observado na amostra. Esta cidade apresentou uma incidência média de 2,58 casos por 100.000 habitantes ao longo do período estudado, com o pico marcante de 5,36 casos/100.000 em 2018. Tais dados epidemiológicos ressaltam a importância da implementação de estratégias de saúde pública direcionadas à PCM (Fernandes, 2023).

3. 4 Patogenia

Inicialmente, acreditava-se que a infecção humana pela PCM ocorria predominantemente por via oral, pois muitos pacientes que relatavam o hábito de mascar capins apresentavam lesões na mucosa oral (Moreira, 2008). No entanto, estudos clássicos de Gonzáles-Ochoa e González-Mendoza (1960) consolidaram que a principal via de infecção ocorre por inalação de conídios fúngicos. Uma vez no hospedeiro, a temperatura corporal ativa sistemas enzimáticos do patógeno, induzindo sua conversão para a forma parasitária (Figura 2). Assim, as manifestações mucocutâneas são secundárias à disseminação linfo-hematogênica (González-Ochoa; González-Mendoza, 1960).

Após a inalação, o fungo pode ser eliminado no parênquima pulmonar por células fagocíticas inespecíficas ou estabelecer um foco infeccioso, que posteriormente drena para linfonodos regionais no hilo pulmonar, configurando o complexo primário da PCM (Moreira, 2008). Em indivíduos imunocompetentes, as lesões podem regredir espontaneamente ou evoluir para uma forma subclínica, caracterizada pela persistência do fungo em estado latente (Motta, 1935).

Figura 2 – Ciclo de vida de *Paracoccidioides* em humanos



Fonte: Arquivo Pessoal (2024)

A patogênese da PCM envolve múltiplos fatores relacionados ao fungo e ao hospedeiro. Após a inalação, o fungo sofre uma transição dimórfica induzida pela temperatura corporal (37°C), diferenciando-se para a forma de levedura, que é mais resistente à resposta imune do hospedeiro (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017). A aderência às células epiteliais pulmonares facilita a colonização e subsequente disseminação (Mendes-Giannini *et al.*, 2006). *O Paracoccidioides* spp. modula a resposta imune inata, inibindo a fagocitose e interferindo na produção de citocinas inflamatórias (Oliveira *et al.*, 2015). A parede celular do fungo contém α -1,3-glucana, que confere resistência à degradação enzimática e é um importante fator de virulência (Brito *et al.*, 2024).

A disseminação ocorre majoritariamente pelos sistemas linfático e hematogênico, permitindo que o fungo atinja diversos órgãos, incluindo mucosas, pele, linfonodos, glândulas adrenais e sistema nervoso central (Oliveira *et al.*, 2015). A variabilidade clínica e a gravidade da PCM dependem da interação entre a virulência do fungo e a resposta imunológica do hospedeiro. Indivíduos com resposta imune celular eficaz apresentam formas localizadas e menos severas, enquanto aqueles com deficiência na imunidade celular desenvolvem formas disseminadas e potencialmente fatais (Benard, 2008).

3. 5 Patologia

A PCM é caracterizada por uma resposta inflamatória granulomatosa crônica que pode comprometer múltiplos órgãos e sistemas (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017). A infecção tem início com a inalação de conídios, que se diferenciam em leveduras nos pulmões. O fungo pode disseminar-se por via linfática ou hematogênica, levando à formação de granulomas epitelioides compostos por células gigantes multinucleadas contendo leveduras (Teixeira *et al.*, 2009). A resposta imune do hospedeiro tem papel determinante na progressão da doença. A imunidade celular, especialmente mediada por linfócitos Th1, é essencial para o controle da infecção. Pacientes com predominância da resposta Th2 apresentam níveis elevados de anticorpos e evoluem para formas mais graves da PCM (Benard, 2008).

As lesões variam conforme o órgão acometido e a fase da infecção. Nos pulmões, as lesões iniciais caracterizam-se por infiltrados inflamatórios agudos que evoluem para granulomas organizados, compostos por macrófagos ativados, células epitelioides e linfócitos (Oliveira *et al.*, 2015). Com o tempo, a fibrose progressiva pode resultar em alterações estruturais significativas do parênquima pulmonar e levar à insuficiência respiratória crônica (Costa *et al.*, 2013).

Nas formas disseminadas, as lesões cutâneas e em mucosas são frequentes e compartilham características histopatológicas com as pulmonares como infiltrados inflamatórios, formação de granulomas, contendo leveduras birrefringentes com brotamento múltiplo. Na pele, observa-se hiperplasia pseudoepiteliomatosa associada a microabscessos intraepidérmicos, dermatite ulcerativa e granulomatosa (Marques, 2013) (Figura 3). Nas mucosas, particularmente na cavidade oral, as lesões podem variar de úlceras superficiais a formações vegetantes e infiltrativas profundas (estomatite moriforme) (Figura 4). O envolvimento do sistema nervoso central pode resultar na formação de lesões granulomatosas cerebrais ou meningite crônica (Pedroso *et al.*, 2009).

Figura 3 – Dermatite ulcerativa ne paracoccidioidomicose



Fonte: Armas *et al.* (2012)

Figura 4 – Estomatite moriforme na Paracoccidioidomicose



Fonte: Dutra *et al.* (2018)

A formação de granulomas representa uma tentativa do sistema imune de conter a infecção. Essas estruturas são compostas por macrófagos ativados, células epitelioides e células gigantes multinucleadas, circundadas por linfócitos e plasmócitos. No centro do granuloma, frequentemente observam-se células fúngicas em diversos estágios de degradação (Mendes *et al.*, 2017). Conforme o nível de imunidade, os granulomas podem ser extensos, contendo macrófagos, linfócitos e plasmócitos dispersos. Em contrapartida, pacientes imunocomprometidos podem apresentar reações pneumônicas, caracterizadas por alveolite difusa, predominantemente composta por neutrófilos, afetando tanto as regiões hilares quanto as periféricas dos pulmões (Tuder *et al.*, 1985).

O equilíbrio entre as respostas imunes Th1 e Th2 influencia a organização e eficácia dos granulomas. Uma resposta Th1 predominante está associada a granulomas bem estruturados e maior controle do fungo, enquanto uma resposta Th2 resulta em granulomas desorganizados, menos eficazes na contenção da infecção (Calich *et al.*, 2008).

3. 6 Alterações hematológicas na Paracoccidioidomicose

As alterações hematológicas são manifestações comuns e significativas, refletindo tanto a resposta do organismo à infecção quanto os efeitos sistêmicos do fungo. A anemia é uma das alterações hematológicas mais prevalentes (Brito *et al.*, 2024; Venturini *et al.*, 2014). Esta alta prevalência destaca a importância de monitorar os parâmetros hematológicos em pacientes afetados. A anemia associada à PCM é frequentemente caracterizada como anemia da inflamação ou doença crônica. Esta condição está relacionada a alterações no metabolismo do ferro, um aspecto crucial da resposta do organismo à infecção fúngica. Estudos focados nos distúrbios do metabolismo do ferro em pacientes crônicos têm enfatizado a necessidade de compreender os mecanismos subjacentes da anemia para melhorar o manejo dos pacientes (Brito *et al.*, 2023).

As contagens de glóbulos brancos também podem ser afetadas e, a depender do estágio e da gravidade da doença, os pacientes podem apresentar leucocitose ou leucopenia (Marques, 2013). Estas alterações são cruciais para entender a resposta imunológica em pacientes afetados por *P. brasiliensis* e para adaptar estratégias de tratamento apropriadas. Uma alta razão entre neutrófilos e linfócitos pode ser indicativa de uma doença mais grave, pois fornece um marcador hematológico que pode ser usado na avaliação clínica da gravidade da PCM, potencialmente influenciando as diretrizes de manejo (Queiroz-Telles e Escuissato, 2011).

Além das alterações mais comuns, esta afecção pode ocasionalmente levar a complicações hematológicas mais graves. Por exemplo, um relato de caso documentou um paciente com PCM que desenvolveu necrose da medula óssea, uma complicação hematológica rara, mas severa (Resende *et al.*, 2009). Isto destaca o potencial da infecção por *P. brasiliensis* em causar distúrbios hematológicos significativos além da anemia.

3. 7 Alterações bioquímicas na Paracoccidioidomicose

O envolvimento hepático na PCM é particularmente notável, manifestando-se através de elevações significativas nas enzimas hepáticas no plasma sanguíneo. Os mecanismos pelos quais *Paracoccidioides brasiliensis* causa danos hepáticos são numerosos decorrentes de invasão direta do tecido pelo agente, resposta inflamatória exacerbada, toxinas fúngicas e alterações na microcirculação hepática (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017). Estudos têm consistentemente demonstrado aumento plasmático nas transaminases (AST e ALT), fosfatase alcalina e gama-glutamil transferase (GGT) em pacientes doentes, indicando dano hepatocelular e colestase

(Bellissimo-Rodrigues *et al.*, 2011; Queiroz-Telles e Escuissato, 2011). Estas alterações enzimáticas não apenas refletem o grau de comprometimento hepático, mas também fornecem uma janela para a avaliação da eficácia do tratamento antifúngico, uma vez que a normalização destes parâmetros frequentemente correlaciona-se com a resolução da infecção (Costa *et al.*, 2013).

O metabolismo do ferro é significativamente alterado na PCM, apresentando um padrão característico de anemia na doença crônica, frequentemente apresentando níveis elevados de ferritina sérica, redução da capacidade total de ligação do ferro (TIBC) (para casos crônicos) e diminuição dos níveis de ferro sérico (Brito *et al.*, 2024; Weiss e Goodnough, 2005). Este perfil bioquímico não apenas contribui para a anemia observada em muitos pacientes, mas também reflete a complexa interação entre o sistema imunológico do hospedeiro e o patógeno fúngico. Essas alterações no metabolismo do ferro são consistentes com o padrão de anemia da doença crônica, onde o ferro é redistribuído do compartimento funcional para o compartimento de armazenamento. Este processo é mediado por citocinas inflamatórias e resulta em uma disponibilidade reduzida de ferro para a eritropoiese, apesar dos estoques de ferro adequados ou elevados no organismo (Ganz e Nemeth, 2009).

O envolvimento renal, embora menos frequente que o hepático, pode resultar em alterações bioquímicas significativas que requerem monitoramento cuidadoso. Estudos têm documentado elevações nos níveis séricos de ureia e creatinina, bem como a ocorrência de proteinúria e alterações no sedimento urinário em casos mais graves (Armas *et al.*, 2012; Pontes *et al.*, 2015; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017). Estas manifestações renais não apenas refletem o potencial de disseminação sistêmica, mas também alertam para a necessidade de ajustes na dosagem de medicamentos com excreção renal (Kyriakopoulos e Gupta, 2024), incluindo alguns antifúngicos comumente utilizados no tratamento da doença. A avaliação regular da função renal é, portanto, um componente essencial no manejo de pacientes com PCM, especialmente aqueles submetidos a terapias prolongadas ou com comorbidades que aumentam o risco de nefrotoxicidade (Pyrpasopoulou *et al.*, 2019).

3. 8 Diagnóstico

O diagnóstico da PCM, assim como em outras micoses, pode ser realizado através do isolamento em meio de cultura, assim como por biópsia, que também constitui uma importante ferramenta diagnóstica para a doença (Mendes-Giannini e Melhem, 2001).

Durante análise direta de amostras obtidas através de líquido do lavado broncoalveolar, punção de linfonodo com agulha fina, raspagem de pele ou mucosas, é possível encontrar o agente *Paracoccidioides sp.* Também há como isolar este agente diretamente de pulmões enódulos linfáticos através de histopatologia, sendo uma das técnicas de primeira escolha, recomendada quando não é possível realizar o diagnóstico microbiológico (Peçanha *et al.*, 2017; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2018).

A detecção histopatológica das células fúngicas em "roda de leme" é um critério fundamental para o diagnóstico definitivo da PCM (Marques, 2012). Métodos avançados, como a imuno-histoquímica, têm sido cada vez mais utilizados para aumentar a sensibilidade e especificidade diagnóstica, permitindo a identificação de antígenos fúngicos específicos em amostras de tecido (Hahn *et al.*, 2022).

O diagnóstico sorológico pode ser realizado através da pesquisa de anticorpos e antígenos relacionados ao agente etiológico. O teste de ELISA é utilizado como triagem, além dos testes de Western-Blot e Pesquisa direta de antígeno específico. A Imunodifusão Dupla em Gel de Ágar, é uma das opções mais utilizadas, sendo considerada a mais específica (ELIAS *et al.*, 2000; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2018). Além das metodologias convencionais, a utilização de nanopartículas de ouro é uma possibilidade inovadora que tem como objetivo melhorar a eficiência e sensibilidade na detecção das biomoléculas (Silva Ferreira *et al.*, 2016).

Podem ser considerados diagnósticos diferenciais: outras doenças micóticas, tuberculose, leishmaniose, histoplasmose, sífilis, sarcóide e granulomatose de Wegener, devido estas afecções terem similaridade dos sinais clínicos (Bicalho *et al.*, 2001; Blotta *et al.*, 1999; Mendes-Giannini e Melhem, 2001).

3. 9 Tratamento

O tratamento da Paracoccidioidomicose consiste no uso prolongado de antifúngicos por via oral ou endovenosa (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2018) de eficácia comprovada, entretanto, casos de recidiva ou resistência do fungo aos fármacos utilizados podem ocorrer. O uso prolongado de

agentes antifúngicos por essas vias acarreta efeitos colaterais, sendo evidenciadas principalmente alterações do trato gastrointestinal e de função renal. Em pacientes graves, que estejam submetidos à ventilação pulmonar invasiva, a administração inalatória de medicamentos é uma alternativa eficaz (Palmer e Smaldone, 2014).

Os fármacos mais comumente utilizados para o tratamento de PCM são o itraconazol e o sulfametoxazol+trimetoprima. Pacientes que apresentem casos mais severos devem ser tratados no hospital com anfotericina-B na dosagem de 1mg/kg/dia por via intravenosa até a melhora clínica satisfatória, a fim de permitir o tratamento por via oral com comprimidos. O tratamento pode ser prolongado, a depender da gravidade e do tempo de desenvolvimento da doença, geralmente de 6 meses quando na forma mais branda, e até 24 meses em sua forma mais severa (Marques *et al.*, 2013).

O tratamento utilizando-se de nanopartículas de itraconazol por via inalatória permite uma ampliação das vias de administração medicamentosa, reduzindo drasticamente os efeitos colaterais provenientes do uso por via oral ou por via endovenosa, sendo assim considerada uma excelente alternativa nos tratamentos dos casos de doenças fúngicas que exigem tratamento prolongado (Santos, 2021).

As nanopartículas são materiais de tamanho reduzido (< 1000 nm), que têm um relação físico-química singular estrita e específica, o que permite a utilização desses materiais como tecnologia farmacêutica (Medina *et al.*, 2007). Rudramurthy et al. (2016) (Rudramurthy *et al.*, 2016) cita que se faz necessário buscar novas alternativas terapêuticas, que visem sanar problemáticas relacionadas a determinados tipos de tratamentos, como a resistência microbiana à medicamentos disponíveis hoje no mercado, permitindo assim que os investimentos em pesquisas e tecnologias, como as de nanopartículas, reflitam positivamente com a saúde pública ,trazendo inovações e novas soluções para problemas atuais, auxiliando na prevenção de problemáticas futuras.

Segundo Medina et al. (2007) as nanopartículas podem ainda ser utilizadas na formulação de biomarcadores celulares, no diagnóstico molecular e na formulação de novas terapias medicamentosas. Dessa forma, Santos-Júnior (2019) propôs a formulação de nanopartículas de itraconazol, a ser utilizada em um modelo murino, onde camundongos foram experimentalmente infectados com *P. brasiliensis* e tratados com nanopartículas por via inalatória, que obteve êxito e demonstrou a eficácia do tratamento quando comparado ao tratamento convencional.

BIBLIOGRAFIA

- Almeida, A. J. *et al.* Cdc42p controls yeast-cell shape and virulence of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Fungal genetics and biology: FG & B**, v. 46, n. 12, p. 919–926, dez. 2009.
- Armas, M. *et al.* Pulmonary paracoccidioidomycosis: A case report with high-resolution computed tomography findings. **Pulmonology**, v. 18, n. 4, p. 190–193, 1 jul. 2012.
- Azevedo, J.; Lisboa, C. Paracoccidioidomicose - estudo de 106 casos. **Jornal de Pneumologia** **6**:, p. 30–33, 1980.
- Bagagli, E. *et al.* Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasyus noveminctus*) captured in an endemic area of paracoccidioidomycosis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 58, n. 4, p. 505–512, abr. 1998.
- Barbosa, B. D. S. *et al.* Haematological and Biochemical Profile of Balb-c Mice. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, n. 1, p. 5, 26 dez. 2017.
- Bellissimo-Rodrigues, F.; Machado, A. A.; Martinez, R. Paracoccidioidomycosis Epidemiological Features of a 1,000-Cases Series from a Hyperendemic Area on the Southeast of Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 3, p. 546–550, 1 set. 2011.
- Benard, G. An overview of the immunopathology of human paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4–5, p. 209–221, 2008.
- Bicalho, R. N. *et al.* Oral paracoccidioidomycosis: a retrospective study of 62 Brazilian patients. **Oral Diseases**, v. 7, n. 1, p. 56–60, jan. 2001.
- Blotta, M. H. *et al.* Endemic regions of paracoccidioidomycosis in Brazil: a clinical and epidemiologic study of 584 cases in the southeast region. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 61, n. 3, p. 390–394, set. 1999.
- Bocca, A. L. *et al.* Paracoccidioidomycosis: eco-epidemiology, taxonomy and clinical and therapeutic issues. **Future Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 1177–1191, set. 2013.
- Brito, E. da C. A. De *et al.* Analysis and Interpretation of Automated Blood Count in the Treatment of Chronic Paracoccidioidomycosis. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 5, p. 317, 27 abr. 2024.
- Brito, E. da C. A. *et al.* Iron metabolism disorders of patients with chronic paracoccidioidomycosis. **PloS One**, v. 18, n. 6, p. e0282218, 2023.
- Brummer, E.; Castaneda, E.; Restrepo, A. Paracoccidioidomycosis: an update. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 6, n. 2, p. 89–117, abr. 1993.

Calich, V. L. G. *et al.* Innate immunity to *Paracoccidioides brasiliensis* infection. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4–5, p. 223–236, 2008.

Canelas, H. M. *et al.* Blastomicose do sistema nervoso. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 9, p. 203–222, set. 1951.

Carandina, L.; Magaldi, C. Inquérito sobre blastomicose sul-americana pela intradermo reação em uma comunidade rural do município de Botucatu, SP (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v. 8, p. 171–180, jun. 1974.

Costa, A. N. *et al.* The lung in paracoccidioidomycosis: new insights into old problems. **Clinics**, v. 68, p. 441–448, abr. 2013.

Coutinho, Z. F. *et al.* Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, p. 1441–1454, out. 2002.

Dutra, L. M. *et al.* Oral paracoccidioidomycosis in a single-center retrospective analysis from a Brazilian southeastern population. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 4, p. 530–533, jul. 2018.

Elias, C. M. *et al.* Conventional versus molecular diagnostic tests. **Medical Mycology**, v. 38, n. Sppl 1, 2000.

Fernandes, M. M. Dias de Q. **Perfil epidemiológico da paracoccidioidomicose em pacientes atendidos no hospital de doenças tropicais da Universidade Federal do Norte do Tocantins**. Araguaína-TO: Universidade Federal do Norte do Tocantins, 2023.

Focaccia, R.; Veronesi, R. Veronesi: tratado de infectologia. Em: **Veronesi: tratado de infectologia**. [s.l.: s.n.]. p. [1325]-[1325] 2005.

Franz, A. P. G. *et al.* Paracoccidioidomicose: perfil clínico e epidemiológico de pacientes internados em Passo Fundo - RS. **Revista de Medicina**, v. 101, n. 2, p. e-194149, 25 mar. 2022.

Furtado, J. S.; De Brito, T.; Freymuller, E. The structure and reproduction of *Paracoccidioides brasiliensis* in human tissue. **Sabouraudia**, v. 5, n. 3, p. 226–229, fev. 1967.

Ganz, T.; Nemeth, E. Iron Sequestration and Anemia of Inflammation. **Seminars in Hematology**, Iron Deficiency and Metabolism. v. 46, n. 4, p. 387–393, 1 out. 2009.

González-Ochoa, A.; González-Mendoza, A. La Micología Médica En México Revisión De La Bibliografía Aparecida Durante El Período De 1946 A 1958. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 13, n. 1, p. 48–71, jun. 1960.

Hahn, R. C. *et al.* Paracoccidioidomycosis: Current Status and Future Trends. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 35, n. 4, p. e00233-21, 8 set. 2022.

Kyriakopoulos, C.; Gupta, V. Renal Failure Drug Dose Adjustments. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

Lacaz, C. da S. Passado, presente e futuro da Paracoccidioidomicose. **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v. 12, n. 1, 1983.

Lutz, D. A. **Uma micose pseudococcídica localizada na boca e observada no Brasil. Contribuição ao conhecimento das hifoblastomicoses americanas.** Livro 3 ed. São Paulo: [s.n.]. v. 1

Magalhães, E. M. de S. *et al.* Prevalence of Paracoccidioidomycosis infection by intradermal reaction in rural areas in Alfenas, Minas Gerais, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, p. 281–285, ago. 2014.

Maluf, M. *et al.* **Prevalência de paracoccidioidomicose-infecção determinada através de teste sorológico em doadores de sangue na região Noroeste do Paraná, Brasil Prevalência de paracoccidioidomicose-infecção determinada através de teste sorológico em doadores de sangue na região Noroeste do Paraná, Brasil.** Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/g8f87tF4JXm4b9MCQFqTF6s/?lang=pt>>. Acesso em: 10 jun. 2023.

Marques, A. P. da C. *et al.* Evaluation of Paracoccidioides brasiliensis infection by gp 43 intradermal test in rural settlements in Central-West Brazil. **Mycopathologia**, v. 176, n. 1–2, p. 41–47, ago. 2013.

Marques, S. A. *et al.* Paracoccidioidomicose: frequência, morfologia e patogênese de lesões tegumentares. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, p. 411–417, out. 2007.

Marques, S. A. Paracoccidioidomycosis. **Clinics in Dermatology**, v. 30, n. 6, p. 610–615, 2012.

Marques, S. A. Paracoccidioidomycosis: epidemiological, clinical, diagnostic and treatment updating. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, p. 700–711, out. 2013.

Martinez, R. Paracoccidioidomycosis: the dimension of the problem of a neglected disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 480–480, ago. 2010.

Martinez, R. New Trends in Paracoccidioidomycosis Epidemiology. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, v. 3, n. 1, p. 1, 3 jan. 2017.

Medina, C. *et al.* Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. **British Journal of Pharmacology**, v. 150, n. 5, p. 552–558, mar. 2007.

Mendes, R. P. *et al.* Paracoccidioidomycosis: Current Perspectives from Brazil. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, p. 224–282, 2017.

Mendes-Giannini, M. J. S. *et al.* Binding of extracellular matrix proteins to Paracoccidioides brasiliensis. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 6, p. 1550–1559, maio 2006.

Mendes-Giannini, M.; Melhem, M. Infecções fúngicas. Em: **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes.** São Paulo: Guanabara-Koogan, 2001.

- Moreira, A. Paracoccidioidomicose: histórico, etiologia, epidemiologia, patogênese, formas clínicas, diagnóstico laboratorial e antígenos. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 5, p. 11–24, 1 mar. 2008.
- Motta, L. C. Granulomatose paracoccidioica. **ranulomatose paracoccidioica. An Fac Med São Paulo**, v. 11, p. 293, 1935.
- Oliveira, H. C. *et al.* Paracoccidioides-host Interaction: An Overview on Recent Advances in the Paracoccidioidomycosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1319, 2015.
- Palmeiro, M.; Cherubini, K.; Yurgel, L. S. Paracoccidioidomicose – Revisão da Literatura. **Scientia Medica**, v. 15, n. 4, 2005.
- Palmer, L. B.; Smaldone, G. C. Reduction of bacterial resistance with inhaled antibiotics in the intensive care unit. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 189, n. 10, p. 1225–1233, 15 maio 2014.
- Peçanha, P. M. *et al.* Paracoccidioidomycosis: Epidemiological and Clinical Aspects in 546 Cases Studied in the State of Espírito Santo, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 3, p. 836–844, set. 2017.
- Pedroso, V. S. P. *et al.* Paracoccidioidomicose com comprometimento do sistema nervoso central: revisão sistemática da literatura. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 691–697, dez. 2009.
- Pontes, A. M. *et al.* A Rare Paracoccidioidomycosis Diagnosis in a Kidney Transplant Receptor: Case Report. **Transplantation Proceedings**, v. 47, n. 4, p. 1048–1050, 1 maio 2015.
- Pyrpasopoulou, A. *et al.* Antifungal drug dosing adjustment in critical patients with invasive fungal infections. **Journal of Emergency and Critical Care Medicine**, v. 3, n. 0, 4 set. 2019.
- Queiroz-Telles, F.; Escuissato, D. L. Pulmonary paracoccidioidomycosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 32, n. 6, p. 764–774, dez. 2011.
- Ramos-e-Silva, M.; Saraiva, L. D. E. S. Paracoccidioidomycosis. **Dermatologic Clinics**, v. 26, n. 2, p. 257–269, abr. 2008.
- Resende, L. S. R. *et al.* Bone marrow necrosis related to paracoccidioidomycosis: the first eight cases identified at autopsy. **Histopathology**, v. 54, n. 4, p. 486–489, mar. 2009.
- Rudramurthy, G. R. *et al.* Nanoparticles: Alternatives Against Drug-Resistant Pathogenic Microbes. **Molecules**, v. 21, n. 7, p. 836, 27 jun. 2016.
- San-Blas, G. Paracoccidioidomycosis and its etiologic agent Paracoccidioides brasiliensis. **Journal of Medical and Veterinary Mycology: Bi-Monthly Publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 31, n. 2, p. 99–113, 1993.

Santos, D. C. E. Avaliação morfológica de lesões granulomatosas pulmonares em camundongos experimentalmente infectados com *Paracoccidioides Brasiliensis* e tratados com nanopartículas de Itraconazol por via inalatória. 14 set. 2021.

Santos, F. M. da S. Quantificação de *Paracoccidioides brasiliensis* em granulomas pulmonares de camundongos experimentalmente infectados e tratados com nanopartículas de itraconazol por via inalatória. 2022.

Santos, L. A.; Grisolia, J. C.; Oliveira, A. M. De. *Paracoccidioidomycose: the challenges of diagnosis and treatment. Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 17, n. 1, 2019.

Santos-Júnior, A. O. Dos. Avaliação do potencial terapêutico de nanopartículas com Itraconazol por via inalatória em camundongos experimentalmente infectados com *paracoccidioides brasiliensis*. 12 ago. 2019.

Shikanai-Yasuda, M. A. *et al.* Neoplasia and *paracoccidioidomycosis*. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4, p. 303–312, 1 abr. 2008.

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, 2017.

Shikanai-Yasuda, M. A. *et al.* II Consenso Brasileiro em *Paracoccidioidomycose* - 2017*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, n. esp, nov. 2018.

Silva, D. E. Da *et al.* Avaliação do consumo de água e ração de camundongos expostos a baixas doses de Mancozebe. **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE) (ISSN 2447-8687)**, v. 3, 2016.

Silva Ferreira, C. *et al.* Current strategies for diagnosis of *paracoccidioidomycosis* and prospects of methods based on gold nanoparticles. **Future Microbiology** v. 11, p. 973–985, jul. 2016.

Silva, M. J. A. *et al.* Ecoepidemiologia da *paracoccidioidomycose*: Uma revisão narrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e31810918182–e31810918182, 26 jul. 2021.

Taborda, C. P. *et al.* *Paracoccidioidomycosis*: challenges in the development of a vaccine against an endemic mycosis in the Americas. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 21–24, set. 2015.

Teixeira, M. M. *et al.* Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 52, n. 2, p. 273–283, 1 ago. 2009.

Tocantins. 236. Portaria que define a relação de doenças de agravo de notificação compulsória de interesse para o estado do Tocantins. . 9 mar. 2016.

Tuder, R. M. *et al.* Pathology of the human pulmonary paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 92, n. 3, p. 179–188, dez. 1985.

Venturini, J. *et al.* Phenotypic and functional evaluations of peripheral blood monocytes from chronic-form paracoccidioidomycosis patients before and after treatment. **BMC infectious diseases**, v. 14, p. 552, 16 out. 2014.

Weiss, G.; Goodnough, L. T. Anemia of Chronic Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 10, p. 1011–1023, 10 mar. 2005.

Właź, P. *et al.* Activity and Safety of Inhaled Itraconazole Nanosuspension in a Model Pulmonary *Aspergillus fumigatus* Infection in Inoculated Young Quails. **Mycopathologia**, v. 180, n. 1–2, p. 35–42, ago. 2015.

Yang, W. *et al.* In vitro characterization and pharmacokinetics in mice following pulmonary delivery of itraconazole as cyclodextrin solubilized solution. **European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 39, n. 5, p. 336–347, 18 mar. 2010.

CAPÍTULO 2

Perfil hematológico e biomarcadores de danos renais e hepáticos em camundongos infectados por *Paracoccidioides brasiliensis* e tratados com nanopartículas de itraconazol por via inalatória

RESUMO

A paracoccidioidomicose, causada pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, é a micose sistêmica mais frequente na América Latina, com alta mortalidade e morbidade. O tratamento convencional com itraconazol via oral é limitado pela baixa biodisponibilidade pulmonar, necessidade de tratamentos prolongados e efeitos adversos sobre o sistema gastrointestinal, indicando a necessidade de novas abordagens terapêuticas. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil hematológico e biomarcadores de lesão hepática e renal em camundongos infectados por *P. brasiliensis* e tratados com nanopartículas de itraconazol. Camundongos Balb/c, machos, de 8 semanas foram divididos em quatro grupos experimentais: controle negativo (não infectado e não tratado), controle positivo (infectado e não tratado), tratamento oral tradicional (infectado e tratado com itraconazol oral na dose de 1mg/animal/SID) e tratamento inalatório (infectado e tratado com itraconazol em nanopartículas por via inalatória na dose de 1mg/animal/SID). Após o período de tratamento, foram coletadas amostras sanguíneas para análise dos perfis hematológico (eritrograma, leucograma e plaquetas) e biomarcadores bioquímicos hepáticos e renais (ALT, AST, FA, Ureia e Creatinina). Os camundongos tratados com nanopartículas apresentaram alterações em seus perfis hematológicos com quadro de poliglobulia, eosinofilia, linfocitose e monocitose, alterações bioquímicas como hipertransaminosemia e hipercreatininemia. Estes resultados demonstram que o tratamento com nanopartículas de itraconazol por via inalatória pode ser uma alternativa ao tratamento convencional, mesmo apresentando alterações mínimas, mas com menor potencial tóxico quando comparado aos efeitos adversos oriundos do uso via oral do itraconazol.

Palavras-chave: Balb/c; hematologia; bioquímica; infecção; paracoccidioidomicose.

ABSTRACT

Paracoccidioidomycosis, caused by the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*, is the most frequent systemic mycosis in Latin America, with high mortality and morbidity rates. Conventional treatment with oral itraconazole is limited by low pulmonary bioavailability, the need for prolonged treatment, and adverse effects on the gastrointestinal system, indicating the need for new therapeutic approaches. The aim of this study was to evaluate the hematological profile and biomarkers of liver and kidney injury in mice infected with *P. brasiliensis* and treated with itraconazole nanoparticles. Male Balb/c mice, 8 weeks old, were divided into four experimental groups: negative control (uninfected and untreated), positive control (infected and untreated), traditional oral treatment (infected and treated with oral itraconazole at a dose of 1 mg/animal/once daily - SID), and inhalation treatment (infected and treated with itraconazole nanoparticles via inhalation at a dose of 1 mg/animal/SID). After the treatment period, blood samples were collected for analysis of hematological profiles (erythrogram, leukogram, and platelets) and biochemical biomarkers of liver and kidney function (ALT, AST, ALP, urea, and creatinine). Mice treated with nanoparticles showed changes in their hematological profiles, including polycythemia, eosinophilia, lymphocytosis, and monocytosis, as well as biochemical changes such as elevated transaminases and increased creatinine levels. These results demonstrate that treatment with inhaled itraconazole nanoparticles may be an alternative to conventional treatment, presenting only minimal changes but with lower toxic potential when compared to the adverse effects associated with oral itraconazole administration.

Keywords: Balb/c; hematology; biochemistry; infection; paracoccidioidomycosis.

1 INTRODUÇÃO

A paracoccidioidomicose (PCM) é a micose sistêmica mais prevalente na América Latina, causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*, apresentando alta incidência em regiões tropicais e subtropicais (Shikanai-Yasuda *et al.*, 2018).

No Brasil, as micoses sistêmicas não estão incluídas na lista nacional de agravos de notificação compulsória, sendo que apenas alguns estados realizam a vigilância epidemiológica dessas infecções (Nucci *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2021).

A infecção ocorre principalmente por via aerógena, com a inalação de conídios que atingem o sistema respiratório superior e os pulmões. Uma vez no organismo, o fungo pode se disseminar para outros órgãos através da via linfo-hematogênica, resultando em lesões granulomatosas em diversos tecidos (Martinez, 2015).

O manejo antifúngico é indispensável nos casos clínicos de PCM, apesar de não garantir a erradicação completa do fungo ao término do tratamento (Bocca *et al.*, 2013). A fase inicial da terapia varia entre dois e seis meses, conforme a gravidade da condição e a resposta do paciente, sendo frequentemente baseada no uso de derivados da sulfa, como sulfadiazina, sulfadoxina, sulfametoxipiridazina, cotrimazina e trimetoprima-sulfametoxazol, anfotericina B, azóis (cetoconazol, itraconazol, fluconazol, voriconazol e posaconazol) ou terbinafina. Após essa etapa intensiva, é comum a necessidade de tratamento prolongado, que pode se estender por dois anos ou mais, devido à alta propensão da doença a recidivar (Restrepo; McEwen; Castañeda, 2001; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2008).

O itraconazol é um dos antifúngicos mais utilizados no tratamento da PCM, destacando-se por sua eficácia no controle da infecção em suas formas aguda e crônica. Apesar de amplamente empregado devido à sua capacidade de inibir o crescimento do fungo, seu uso prolongado está associado a potenciais efeitos tóxicos, como alterações hepáticas e interações medicamentosas significativas. Além disso, o itraconazol apresenta um perfil de absorção variável, exigindo monitoramento cuidadoso para evitar subdosagem ou toxicidade. (Thakare *et al.*, 2019).

Reações adversas pelo uso do itraconazol incluem reações medicamentosas, desconforto gastrointestinal (náusea, dor abdominal, constipação), cefaleia, tontura, trombocitopenia, ginecomastia, edema reversível das extremidades e efeitos metabólicos, como hipocalcemia e hipertrigliceridemia. Os níveis de transaminases hepáticas aumentam em cerca de 1%-5% dos pacientes que receberam terapia contínua com itraconazol sistêmico (Thakare *et al.*, 2019). Esses

aspectos reforçam a necessidade de atenção durante o tratamento, especialmente em pacientes que demandam terapias prolongadas para alcançar a remissão da doença (Andrade *et al.*, 2024; Grisolia *et al.*, 2023; Meinerz *et al.*, 2007).

Essas limitações têm motivado o desenvolvimento de abordagens terapêuticas inovadoras, incluindo a utilização de nanopartículas para administração de antifúngicos. Formulações nanoparticuladas permitem a entrega direcionada do fármaco ao pulmão, o órgão-alvo da PCM, reduzindo efeitos colaterais sistêmicos e aumentando a biodisponibilidade no sítio da infecção (Rudramurthy *et al.*, 2016; Santos-Júnior, 2019). Estudos recentes têm explorado a administração de itraconazol em nanopartículas por via inalatória em modelos experimentais de infecções fúngicas apresentando resultados promissores que incluem a redução significativa de granulomas pulmonares (Santos, 2022). Esses achados reforçam o potencial das nanopartículas como uma alternativa terapêutica viável para a PCM.

A avaliação do perfil hematológico e bioquímico é amplamente utilizado como ferramenta para monitorar alterações sistêmicas em modelos experimentais, fornecendo informações críticas sobre o impacto do tratamento na função hepática, renal e na homeostase geral dos animais. Na PCM, essas análises permitem avaliar não apenas a eficácia antifúngica, mas também os potenciais efeitos adversos associados a novas formulações terapêuticas (Araujo, 2012; Brito *et al.*, 2024b; Mossalam; Yousuf, 2021).

Neste estudo, avaliamos o impacto do tratamento com nanopartículas de itraconazol por via inalatória no perfil hematológico e bioquímico de camundongos Balb/c infectados experimentalmente por *P. brasiliensis*. Resultados obtidos anteriormente (Santos, 2022) indicaram uma redução significativa dos granulomas pulmonares em animais tratados com essa abordagem, reforçando seu potencial como alternativa ao tratamento convencional. Contudo, para compreender plenamente a segurança e eficácia dessa estratégia, realizamos uma análise detalhada dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, fundamentais para avaliar possíveis efeitos tóxicos e alterações sistêmicas associados ao uso das nanopartículas. Este estudo apresenta dados que contribuem para a validação dessa abordagem terapêutica, destacando sua relevância no avanço do manejo da paracoccidiodomicose e no contexto da Saúde Pública.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de preparação histológica do Centro de Ciências Agrárias, campus da Universidade Federal do Norte do Tocantins, no município de Araguaína, região norte do estado do Tocantins. O município possui uma extensão territorial de 4000,4 Km², altitude de 236m e o clima é do tipo Tropical Úmido, com temperatura média de 28° C. Sua população estimada em 2021 era de 186 245 habitantes (IBGE, 2023).

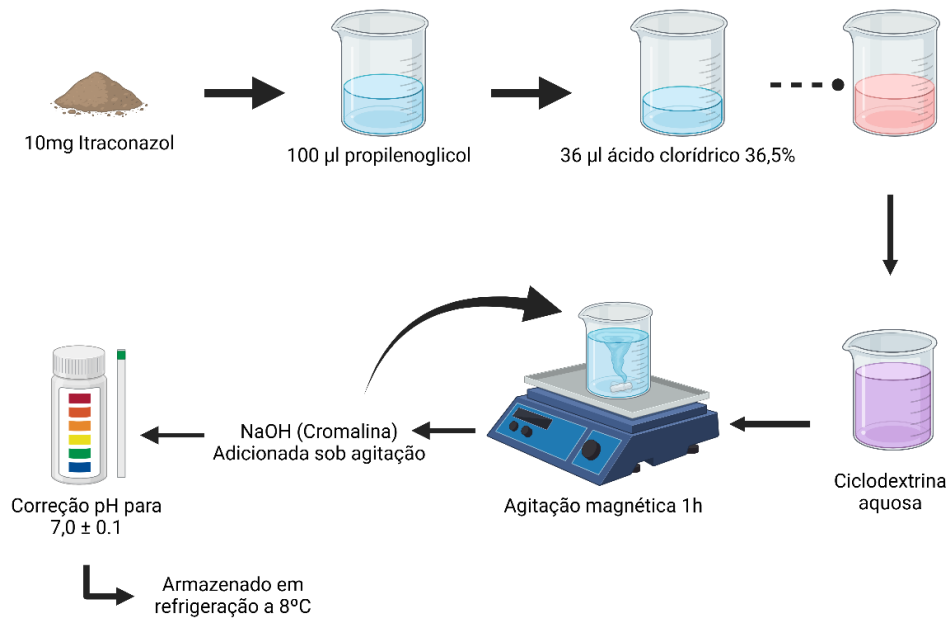
2.2 Animais e Declaração Ética

Para o experimento foram utilizados 20 camundongos da linhagem Balb/c, machos, saudáveis, com peso médio de 35g e idade média de 8 semanas adquiridos do biotério da Universidade Federal de Goiás (UFG). Foram divididos aleatoriamente em grupos de 5 animais, dispostos em gaiolas separadas, expostos a ciclos claro/escuro de 12 horas, tendo água e alimento ad libitum e temperatura ambiente controlada à 23°C ± 5°C. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - UFT (CEUA – 23101.002945/2018-61).

2.3 Formulação de nanopartículas de itraconazol

Dez miligramas de itraconazol foram dissolvidos em 100 µl (1% do volume da solução final) de propilenoglicol (Sigma Aldrich) e 36 µl de ácido clorídrico (HCl) (Sigma-Aldrich) a 36,5% (3,6 µl/ml da solução final). A seguir foi adicionado o itraconazol dissolvido em propilenoglicol (Sigma-Aldrich) acidificado por microgotejamento à solução de ciclodextrina aquosa e mantido sob agitação magnética (Velp científica ARE Heating Magnetic Stirrer) por 1 hora a temperatura ambiente (25 °C). Após esse período, adicionou-se NaOH (Cromoline) à solução sob agitação e, com o auxílio de um medidor de pH (Thermo Scientific Orion Star A211), corrigiu-se o pH para 7,0 ± 0.1. Após a correção do pH, as soluções foram mantidas sob refrigeração a 8 °C (Figura 1).

Figura 1. Esquema de formulação de nanopartículas de itraconazol



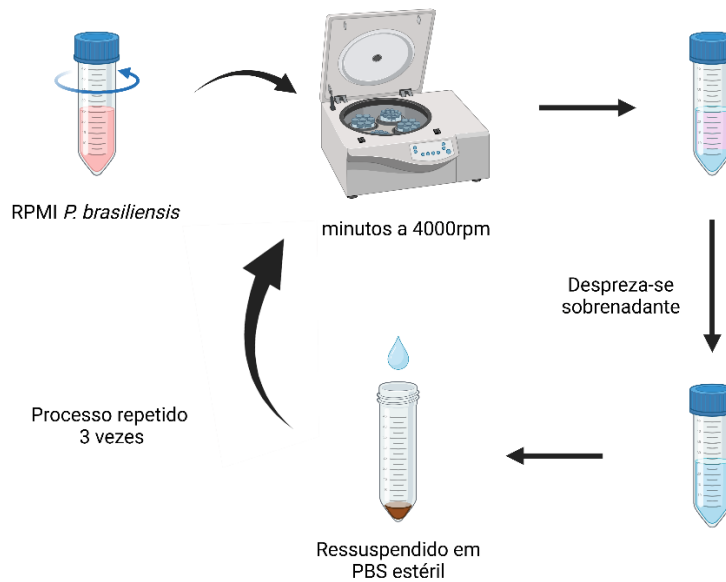
Fonte: Arquivo Pessoal (2025)

2.4 Preparação do inóculo

Para o preparo do inóculo foi utilizado o isolado de *Paracoccidioides brasiliensis* (PbD22 – isolado clínico genótipo S1a) fornecido pelo Instituto de Biociências da Universidade Federal Estadual de São Paulo campus Botucatu (UNESP- Botucatu) e cultivado no laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Norte do Tocantins. O isolado foi mantido em Ágar Saboround, em estufa (Hydrosan) a 37°C sob forma de levedura e repicado a cada 15 dias (Santos, 2022). O fungo foi inoculado em meio de cultura RPMI 1640 e mantido por 7 dias a 35°C , com umidade de 45%, sob agitação de 60 rpm em uma incubadora shaker (Hydrosan Biosan) para cultura de *P. brasiliensis*. A cultura foi então centrifugada por 5 minutos a 4000 rpm, desprezado o sobrenadante, e ressuspensa em PBS estéril. O processo foi realizado três vezes (Figura 2). A suspensão resultante foi colocada em agitador vórtex durante 15 segundos e a densidade celular ajustada a uma absorbância de 0,1 em 625 nm em espectrofotômetro, acrescentando PBS estéril suficiente para obter absorção equivalente de uma solução-padrão no valor de 0,5 da escala de McFarland, obtendo-se, assim, uma suspensão-padrão de 1×10^6 a 5×10^6 células por ml. A viabilidade do inóculo foi determinada por meio da coloração Azul de Tripán (alíquotas de 50 µL da suspensão

celular foram incubadas com 50 μ L da solução do corante a 0,02%) (Oliveira, 2014). A viabilidade foi determinada pela coloração e considerada viável quando 80% ou mais da amostra não se deixou corar pela cor azul.

Figura 2. Esquema de recuperação de *P. brasiliensis* a partir do RPMI



Fonte: Arquivo Pessoal (2025)

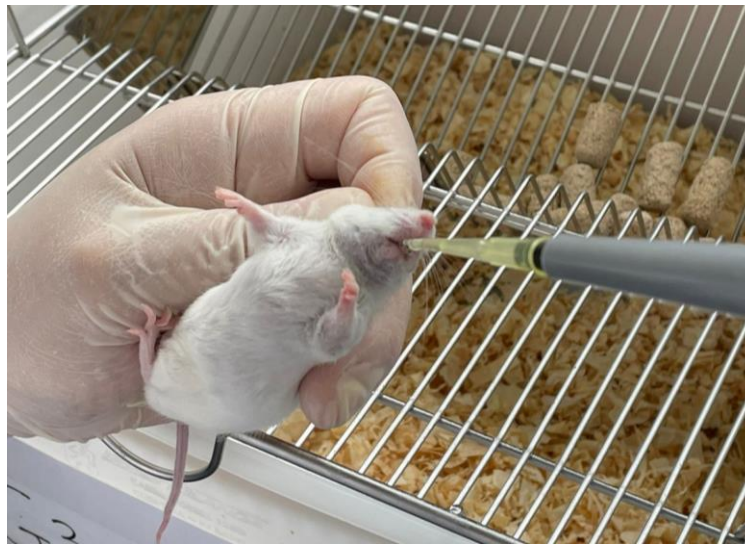
2.5 Infecção experimental

Os camundongos foram anestesiados com uma solução contendo cetamina (120mg/kg) e xilazina (8mg/kg) e, em seguida, foi feita laringoscopia direta e inoculação intratraqueal com 50 μ l do inóculo na concentração de 1×10^6 a 5×10^6 células/ml de levedura de *P. brasiliensis* em 15 animais. Os animais, pertencentes ao grupo controle, receberam 50 μ l de PBS por via intratraqueal. Em seguida, foi realizada insuflação com 100 μ l de ar para garantir a correta dispersão do inóculo pelos pulmões e possível desobstrução da via aérea principal. Os animais foram acompanhados até a recuperação anestésica.

2.6 Tratamento experimental

Os animais iniciaram o tratamento 14 dias após a infecção experimental. Estes foram divididos em 4 grupos com 5 animais cada: Grupo Controle Negativo (GCN), Grupo Controle Positivo (GCP), Grupo Tratamento Nanopartículas por via inalatória (GTN) e Grupo Tratamento Oral (GTO), mantidos sob as mesmas condições ambientais. O GCN não foi infectado e não recebeu nenhum tipo de tratamento e o GCP foi infectado, mas não recebeu nenhum tipo de tratamento. Enquanto os grupos GTN e GTO foram infectados e receberam os tratamentos de nanopartículas e por via oral, respectivamente. O GTO recebeu itraconazol oral na dose de 1mg/ml, SID, durante 7 dias (Figura 3). O GTN recebeu o tratamento com o preparado de nanopartículas através do uso do nebulizador ultrassônico Incoterm NB1100 de rede vibratória (tecnologia *mesh*), acoplado a uma câmara de nebulização com exposição exclusiva das narinas (Figura 4), na dosagem e 1mg/animal, SID, em solução de 3 mg/ml, velocidade de nebulização de 0,25ml de solução por minuto e volume padronizado de 1 ml/animal, durante 7 dias (Santos-Júnior, 2019).

Figura 3 – Tratamento via oral com itraconazol em camundongo Balb/c



Fonte: Arquivo Pessoal (2024)

Figura 4 – Câmara de nebulização com exposição exclusiva para narinas. Tratamento de camundongos Balb/c através de nebulização com nanopartículas de itraconazol



Fonte: Arquivo Pessoal (2024)

2.7 Eutanásia e necropsia

Após 7 dias de tratamento os animais foram submetidos à eutanásia utilizando-se sobredose de xilazina e cetamina por via intraperitoneal seguido do deslocamento de cervical após a confirmação da perda do reflexo total em dígito (CEUA, 2024).

2.8 Coleta de sangue

A coleta do sangue foi realizada por punção cardíaca. Imediatamente após eutanasiados, os animais foram posicionados em decúbito dorsal em superfície plana com os membros presos por barbante. Foi realizada a assepsia com álcool etílico 70%, e a agulha introduzida próximo a base do esterno, no lado esquerdo da cartilagem xifoide, em ângulo de 20 a 30 graus e realizada a punção cardíaca (Hu *et al.*, 2024). Foram coletados entre 0,5 e 1 ml de sangue por animal e acondicionados em microtubos contendo EDTA. Para os exames bioquímicos, foram fracionados de cada amostra, entre 0,1 e 0,3ml de sangue de cada animal e colocados em microtubos que serviram de *pool* para representação sorológica bioquímica de cada grupo. Esfregaços sanguíneos foram realizados e corados com panótico rápido para confirmação dos parâmetros hematológicos.

2.9 Avaliação hematológica

A avaliação hematológica foi feita através do hemograma, incluindo contagens globais de hemácias (RBC), leucócitos (WBC), plaquetas (PLT), determinação do hematócrito (HCT) e da concentração de hemoglobina (HGB). A partir dos valores obtidos para hemácias, hematócrito e hemoglobina, foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). As análises hematológicas foram realizadas manualmente através do esfregaço sanguíneo corados com Panótico Rápido . Foram realizadas contagens diferenciais de leucócitos, enumerando-se 100 células e estabelecendo-se as fórmulas leucocitárias relativas e absolutas, conforme descrito por (Barbosa *et al.*, 2017).

2.10 Avaliação bioquímica

As amostras de sangue de cada grupo foram centrifugadas por 5 a 1200 g por 10 min para obtenção do plasma, a partir do qual foram dosados ureia, creatinina, alanina aminotransaminase (ALT), aspartato aminotransaminase (AST), fosfatase alcalina (FAL). Todas as análises bioquímicas foram validadas e realizadas por meio de espectrofotometria, utilizando-se o analisador bioquímico automático IDEXX Catalyst One e slides reagentes *CLIP Chem 10* e *CLIP NSAID 6*.

2.11 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando teste *one-way* ANOVA, e após o *post-hoc* Tukey, através do software GraphPad Prisma e as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Perfil hematológico

Os parâmetros hematológicos dos camundongos pertencentes aos diferentes grupos estão descritos na Tabela 1. Os resultados demonstram que os grupos que receberam tratamento apresentaram aumento dos níveis de hemoglobina quando comparados ao grupo controle positivo, sugerindo poliglobulia. Observou-se também diminuição de HCM no grupo controle positivo em relação ao controle negativo, sem alterações dos grupos que receberam tratamento, sugerindo anemia.

Tabela 1 – Média, desvio padrão e valores de referência de parâmetros hematológicos de camundongos Balb/c

Parâmetro	Unidade	GCN	GCP	GTO	GTN
ERITROGRAMA					
Hemácias	10 ⁶ /mm ³	9.58 ± 0.47	10.05 ± 0.21	10.34 ± 0.25	9.99 ± 0.07
Hemoglobina	g/dL	13.62 ± 0.29 ^{ab}	13.74 ± 0.30 ^a	14.06 ± 0.28 ^b	14.38 ± 0.29 ^b
Hematócrito	%	47.02 ± 5.34	52.50 ± 1.57	52.80 ± 1.33	52.94 ± 0.16
VCM	fL	48.94 ± 5.06	51.74 ± 2.44	51.17 ± 2.85	51.37 ± 1.18
HCM	pg	15.10 ± 0.79 ^a	14.24 ± 0.22 ^b	14.16 ± 0.27 ^{ab}	14.43 ± 0.25 ^{ab}
CHCM	g/dL	26.94 ± 2.33	26.70 ± 2.00	27.12 ± 1.43	27.28 ± 0.41
Plaquetas	10 ³ /mm ³	803.80 ± 150.81	983.80 ± 168.79	1030.40 ± 114.80	962.20 ± 199.30
LEUCOGRAMA					
Leucócitos Totais	10 ³ /mm ³	5.30 ± 2.00	6.38 ± 2.11	5.88 ± 1.48	4.94 ± 1.49
Basófilos		0	0	0	0
Eosinófilos	%	1.00 ± 0.00 ^a	0.20 ± 0.44 ^a	1.00 ± 0.00 ^{ab}	3.60 ± 2.51 ^b
Neutrófilos	%	23.60 ± 3.50 ^a	29.60 ± 4.44 ^b	34.00 ± 5.94 ^b	23.60 ± 5.51 ^a
Linfócitos	%	58.80 ± 1.10 ^a	59.00 ± 7.01 ^b	61.80 ± 4.27 ^{ab}	64.20 ± 3.44 ^b
Monócitos	%	2.80 ± 0.40 ^a	4.80 ± 2.23 ^{ab}	8.20 ± 1.39 ^b	9.60 ± 2.97 ^b

Fonte: Silva (2025)

VCM= Volume Corpuscular Médio, HCM= Hemoglobina Corpuscular Média, CHCM= Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; a, b: letra diferentes representam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), letras iguais não diferem entre si. GCN= Grupo controle negativo, GCP= Grupo controle positivo, GTO= Grupo de tratamento por via oral e GTN= Grupo tratamento de nanopartículas por via inalatória.

No leucograma, observa-se que o grupo de camundongos tratado com nanopartículas de itraconazol apresenta eosinofilia, linfocitose, monocitose. Quando comparamos com o grupo controle positivo, também apresenta eosinofilia e, interessante, apresenta neutropenia quando comparado ao grupo de tratamento via oral e mesmo nível de neutrófilos observado no grupo controle negativo.

3.2 Marcadores de danos hepáticos e renais

Os parâmetros bioquímicos dos camundongos pertencentes aos diferentes experimentais estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Média, desvio padrão e valores de referência de parâmetros bioquímicos de camundongos Balb/c

Parâmetro	Unidade	GCN	GCP	GTO	GTN
ALT	U/L	90 ± 12,9 ^a	170 ± 15,8 ^b	63 ± 11,4 ^c	40 ± 7,1 ^c
AST	U/L	150 ± 15,8 ^a	187 ± 18,7 ^b	118 ± 14,1 ^a	221 ± 15,8 ^c
FAL	U/L	75 ± 6,5	88 ± 5,7	70 ± 7,9	81 ± 7,1
Creatinina	mg/dL	0,3 ± 0,16 ^a	2,1 ± 0,29 ^b	0,3 ± 0,16 ^a	1,6 ± 0,21 ^c
Ureia	mg/dL	50 ± 5,7 ^a	45 ± 3,7 ^a	62 ± 7,1 ^b	46 ± 3,7 ^a

Fonte: Silva (2025).

ALT= Alanina aminotransferase, AST= Aspartato aminotransferase, FAL= Fosfatase alcalina. a, b: letra diferentes representam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), letras iguais não diferem entre si. GCN= Grupo controle negativo, GCP= Grupo controle positivo, GTO= Grupo de tratamento por via oral e GTN= Grupo tratamento de nanopartículas por via inalatória.

É possível observar na tabela que os grupos tratados com itraconazol, tanto por via oral quanto por via inalatória apresentam diminuição ALT, sugerindo que, por um processo crônico, houve lesão tóxica hepática. Observamos também diminuição de AST nos animais tratados por via oral e aumento significativo nos animais controle positivo e tratamento de nanopartículas. Quanto aos níveis de creatinina, há aumento de creatinina nos animais tratados com nanopartículas assim

como no grupo controle positivo e aumento dos níveis de ureia apenas do grupo tratado por via oral, sugerindo lesão tóxica renal.

4 DISCUSSÃO

As alterações observadas no eritrograma mostraram aumento da hemoglobina nos grupos tratados com itraconazol em relação ao grupo controle positivo. A hemoglobina ligeiramente elevada com contagens de hemácias normais, indica poliglobulia e sugere uma resposta compensatória discreta do organismo à infecção por *P. brasiliensis* ou desidratação. Este achado é consistente com estudos anteriores que demonstraram alterações hematológicas em infecções fúngicas sistêmicas, incluindo a PCM (Assob *et al.*, 2017; Brito *et al.*, 2024b). A elevação discreta pode representar um mecanismo adaptativo do organismo para otimizar a oxigenação tecidual em resposta ao estresse inflamatório e metabólico causado pela infecção (Lücker *et al.*, 2017; Pillai *et al.*, 2025).

A ausência de alterações significativas no Volume Corpuscular Médio (VCM) e Concentração Hemoglobina Corpuscular Médica (CHCM) entre os grupos sugere que o tamanho dos eritrócitos permanece relativamente estável durante a infecção. No entanto, a diminuição de Hemoglobina Corpuscular Médica (HCM) no grupo controle positivo, sugere um quadro de anemia. Estes achados são consistentes com estudos anteriores que relataram anemia hipocrômica em pacientes com PCM (Cabral *et al.*, 2023; Nogueira; Andrade, 2015). A hipocromia pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo a inflamação crônica característica da doença, o possível sequestro de ferro pelo fungo, e potenciais efeitos supressores na medula óssea (Benard, 2008; Parente *et al.*, 2011; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017). Estes resultados sugerem que a resposta eritropoiética à infecção por *P. brasiliensis* envolve não apenas alterações quantitativas, mas também mudanças qualitativas nas células vermelhas, particularmente em relação ao seu conteúdo de hemoglobina.

A ausência de alterações significativas na contagem de plaquetas nos grupos experimentais não exclui o importante papel desses elementos na resposta imune à PCM. Estudos recentes têm demonstrado que as plaquetas participam ativamente na defesa do hospedeiro contra o *P. brasiliensis*, independentemente de alterações quantitativas. Acorsi-Valério *et al.* (2010) evidenciaram que as plaquetas podem se ligar ao fungo e liberar fatores antimicrobianos,

contribuindo para a resposta imune inata. Além disso, a variabilidade nas alterações plaquetárias observada em diferentes estudos sugere que a resposta plaquetária pode ser influenciada pela forma clínica e gravidade da infecção. Portanto, apesar da ausência de alterações quantitativas significativas de plaquetas neste estudo, as plaquetas podem estar funcionalmente ativas, modulando a resposta inflamatória e imunológica contra o patógeno (Almeida *et al.*, 2004; Bellissimo-Rodrigues *et al.*, 2011; Venturini *et al.*, 2014).

O aumento dos leucócitos observados nos grupos experimentais é consistente com os achados de estudos anteriores sobre PCM, refletindo a resposta imunológica característica desta infecção. Análises hematológicas em pacientes infectados frequentemente revelam um aumento significativo na contagem total de leucócitos, particularmente durante as fases aguda e subaguda da doença, e podem variar conforme a gravidade da infecção (Brito *et al.*, 2024; Marques, 2013; Nery *et al.*, 2021; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2018).

Neste estudo, observamos que o grupo tratado com itraconazol por via oral apresentou neutrofilia. Este resultado pode ser observado em pacientes humanos em estágio crônico da doença, mesmo tratados com este antifúngico pela mesma via, podendo contribuir para o agravamento da inflamação e para a formação de lesões granulomatosas, o que pode levar à fibrose pulmonar e perda da função respiratória (Pino-Tamayo *et al.*, 2016). Fazendo uma comparação com o grupo de camundongos tratados com nanopartículas de itraconazol por via inalatória, que não apresentou neutrofilia, sugere-se que este é um resultado interessante e promissor, uma vez que esse tipo de tratamento pode inviabilizar a formação dos granulomas pulmonares, retardando ou evitando a progressão das complicações da doença.

A monocitose observada nos grupos de tratamento via oral e tratamento com nanopartículas é uma alteração hematológica frequentemente observada em infecções por *Paracoccidioides spp.*, refletindo a intensa ativação do sistema imunológico diante da PCM (Brito *et al.*, 2024b), isso pode ser explicado por que monócitos desempenham um papel essencial na resposta imune contra a infecção, sendo responsáveis pela produção de diversas citocinas pró e anti-inflamatórias, como TNF-alfa, IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-10 e TGF-beta, que são encontradas em níveis elevados em pacientes com PCM ativa (Peraçoli *et al.*, 2003). Além disso, a monocitose em casos crônicos da doença, juntamente com outras alterações hematológicas como anemia e leucocitose, reforça seu papel na resposta imune ao fungo e sua possível contribuição para a inflamação persistente na PCM (Amorim *et al.*, 2020). Essas evidências demonstram que a monocitose não apenas reflete a

ativação imune contra o patógeno, mas também pode estar envolvida na patogênese da doença, sendo um achado relevante para a compreensão dos mecanismos inflamatórios subjacentes.

A redução da atividade enzimática de ALT observada nos grupos de tratamento estão relacionados à fisiopatologia da PCM e às alterações hepáticas durante o curso da infecção e da terapia antifúngica. Estudos demonstram que a PCM pode levar a envolvimento hepático significativo, caracterizado por alterações histopatológicas como hepatite granulomatosa crônica e degeneração gordurosa (Macedo *et al.*, 2017). Além disso, é comum que pacientes apresentem níveis elevados de ALT e FAL na admissão, refletindo acometimento hepatocelular e possível impacto da doença sobre a homeostase hepática (Levorato *et al.*, 2018).

No entanto, ao longo do tratamento, mudanças na resposta inflamatória e na dinâmica da lesão hepática podem contribuir para a normalização ou mesmo a redução dos valores enzimáticos, especialmente em quadros de resolução inflamatória sem progressão para fibrose significativa (Macedo *et al.*, 2017; Mansano *et al.*, 2014). Embora o itraconazol tenha sido associado a uma elevação persistente das enzimas hepáticas em alguns estudos (Levorato *et al.*, 2018) a variabilidade individual na resposta ao fármaco e a possível recuperação hepática secundária ao controle da infecção podem explicar a observação de ALT abaixo dos valores de referência em determinados grupos.

Esta diminuição de ALT (nos grupos GTO e GTN) em conjunto com níveis normais de FAL, podem indicar uma fase mais crônica da doença, com possível adaptação hepática, tendo como respaldo os achados de Bellissimo-Rodrigues *et al.* (2011). Estas variações enzimáticas não apenas ilustram diferentes fases e intensidades do comprometimento hepático na PCM, mas também podem servir como importantes marcadores prognósticos e de resposta terapêutica.

Os resultados demonstram ainda alterações na função renal frente à PCM, com elevação significativa dos níveis de creatinina nos grupos GCP e GTN e aumento de ureia no grupo GTO. O aumento da creatinina pode estar relacionado ao comprometimento da filtração glomerular, uma vez que esse biomarcador é amplamente utilizado para estimar a taxa de filtração glomerular e avaliar a função renal (Bjornsson, 1979; Doi *et al.*, 2009; Perrone; Madias; Levey, 1992). Estudos indicam que até pequenas elevações da creatinina sérica podem estar associadas a piores desfechos clínicos e aumento do risco de mortalidade, especialmente em cenários inflamatórios sistêmicos, como o observado na PCM (Coca *et al.*, 2007; Praught e Shlipak, 2005). O aumento da ureia pode estar vinculado ao comprometimento tubular, refletindo um possível estado catabólico exacerbado

ou dificuldades na excreção renal da substância (Cheol Jeong *et al.*,2022). Além disso, níveis elevados de ureia têm sido associados a processos inflamatórios sistêmicos e disfunção endotelial, fatores que podem contribuir para a progressão do dano renal na PCM (D’Apolito *et al.*, 2015; Lau; Vaziri, 2017). Dessa forma, ainda que a literatura sugira que o comprometimento hepático seja mais frequente na PCM do que o renal, a presença dessas alterações bioquímicas reforça a necessidade de monitoramento da função renal em pacientes acometidos pela doença, considerando os potenciais impactos inflamatórios e metabólicos associados à infecção por *P. brasiliensis* (Armas *et al.*, 2012; Shikanai-Yasuda *et al.*, 2017; Wanke; Aidê, 2009).

5 CONCLUSÃO

- Camundongos infectados com *P. brasiliensis* e tratados com nanopartículas de itraconazol por via inalatória apresentam perfil hematológico de poliglobulia, eosinofilia, linfocitose e monocitose.
- Camundongos infectados com *P. brasiliensis* e tratados com nanopartículas de itraconazol por via inalatória apresentam danos hepáticos e renais de hipertransaminosemia e hipercreatininemia, respectivamente.

BIBLIOGRAFIA

- Acorci-Valério, M. J. *et al.* Role of TLR2 and TLR4 in human neutrophil functions against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 71, n. 2, p. 99–108, fev. 2010.
- Almeida, S. M. *et al.* Central nervous system paracoccidioidomycosis: clinical features and laboratorial findings. **The Journal of Infection**, v. 48, n. 2, p. 193–198, fev. 2004.
- Amorim, B. C. *et al.* Enhanced expression of NLRP3 inflammasome components by monocytes of patients with pulmonary paracoccidioidomycosis is associated with smoking and intracellular hypoxemia. **Microbes and Infection**, v. 22, n. 3, p. 137–143, abr. 2020.
- Andrade, H. H. S. *et al.* Congestive heart failure associated with itraconazole in a patient with paracoccidioidomycosis. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 28, n. 5, p. 103868, 1 set. 2024.
- Araujo, F. T. M. **Estabelecimento de valores de referência para arêmetros hematológicos e bioquímicos e avaliação do perfil imunológico de linhagens de camundongos rodúzidas nos biotérios do Centro de Pesquisas René achou / FIOCRUZ - Minas eo Centro de Criação de nímals de Laboratório / FIOCRUZ**. Belo Horizonte - MG: Fundação Oswaldo Cruz - Centro de Pesquisas René Rachou, 2012.
- Armas, M. *et al.* Pulmonary paracoccidioidomycosis: A case report with high-resolution computed tomography findings. **Pulmonology**, v. 18, n. 4, p. 190–193, 1 jul. 2012.
- Assob, J. C. N. *et al.* Chapter 1 - Diseases in Africa: An Overview. Em: KUETE, V. (Ed.). **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**. [s.l.] Academic Press, 2017. p. 1–69.
- Barbosa, B. D. S. *et al.* Haematological and Biochemical Profile of Balb-c Mice. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, n. 1, p. 5, 26 dez. 2017.
- Bellissimo-Rodrigues, F.; Machado, A. A.; Martinez, R. Paracoccidioidomycosis Epidemiological Features of a 1,000-Cases Series from a Hyperendemic Area on the Southeast of Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 3, p. 546–550, 1 set. 2011.
- Benard, G. An overview of the immunopathology of human paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4–5, p. 209–221, 2008.
- Bjornsson, T. D. Use of Serum Creatinine Concentrations to Determine Renal Function1. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 4, n. 3, p. 200–222, 1 jun. 1979.
- Bocca, A. L. *et al.* Paracoccidioidomycosis: eco-epidemiology, taxonomy and clinical and therapeutic issues. **Future Microbiology**, v. 8, n. 9, p. 1177–1191, set. 2013.

- Bonfim, C. V.; Mamoni, R. L.; Lima Blotta, M. H. S. TLR-2, TLR-4 and dectin-1 expression in human monocytes and neutrophils stimulated by *Paracoccidioides brasiliensis*. **Medical Mycology**, v. 47, n. 7, p. 722–733, 3 nov. 2009.
- Brito, E. da C. A. De *et al.* Analysis and Interpretation of Automated Blood Count in the Treatment of Chronic Paracoccidioidomycosis. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 5, p. 317, 27 abr. 2024.
- Brito, E. D. C. A. D. *et al.* **Analysis and Interpretation of Automated Blood Count in the Treatment of Chronic Paracoccidioidomycosis.** , 18 mar. 2024b. Disponível em: <<https://www.preprints.org/manuscript/202403.0837/v1>>. Acesso em: 16 jan. 2025
- Cabral, A. *et al.* Paracoccidioidomycosis infection in an immunocompetent adolescent: a neglected disease. **Residência Pediátrica**, v. 13, n. 4, 2023.
- CEUA, U. **Guia de eutanásia para animais em pesquisa e ensino.** , 2024.
- Cheol Jeong, J.; Oh, K.-H.; Chae, D.-W. MO435: The Prognostic Implication of 24-h Urine Urea Excretion With Renal Progression: Analysis of KNOW-CKD Study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 37, n. Supplement_3, p. gfac070.049, 1 maio 2022.
- Coca, S. G. *et al.* The Prognostic Importance of a Small Acute Decrement in Kidney Function in Hospitalized Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 50, n. 5, p. 712–720, nov. 2007.
- D'Apolito, M. *et al.* Urea-induced ROS cause endothelial dysfunction in chronic renal failure. **Atherosclerosis**, v. 239, n. 2, p. 393–400, abr. 2015.
- Dias, L. D. S. *et al.* Neutrophil Cells Are Essential for The Efficacy of a Therapeutic Vaccine against Paracoccidioidomycosis. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 6, p. 416, 26 maio 2021.
- Doi, K. *et al.* Reduced Production of Creatinine Limits Its Use as Marker of Kidney Injury in Sepsis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 20, n. 6, p. 1217–1221, jun. 2009.
- Fortes, M. R. P. *et al.* Imunologia da paracoccidioidomicose. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, p. 516–524, jun. 2011.
- Gardizani, T. P. *et al.* 43 kDa Glycoprotein (gp43) from *Paracoccidioides brasiliensis* Induced IL-17A and PGE2 Production by Human Polymorphonuclear Neutrophils: Involvement of TLR2 and TLR4. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, p. 1–9, 26 nov. 2019.
- Grisolia, J. C. *et al.* Itraconazole and neutrophil interactions in the immune-inflammatory response of paracoccidioidomycosis using a murine air pouch infection model. **Life Sciences**, v. 315, p. 121371, 15 fev. 2023.
- Hu, W. *et al.* Comparison of inferior vena cava puncture under continuous cardiac perfusion with cardiac puncture in blood acquisition of the laboratory mouse. **Laboratory Animals**, p. 00236772241256023, 11 out. 2024.

IBGE. **Araguaína (TO) | Cidades e Estados | IBGE**. Disponível em:

<<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/to/araguaina.html>>. Acesso em: 11 jun. 2023.

Lau, W. L.; Vaziri, N. D. Urea, a true uremic toxin: the empire strikes back. **Clinical Science (London, England: 1979)**, v. 131, n. 1, p. 3–12, 1 jan. 2017.

Levorato, A. D. *et al.* Evaluation of the hepatobiliary system in patients with paracoccidioidomycosis treated with cotrimoxazole or itraconazole. **Medical Mycology**, v. 56, n. 5, p. 531–540, 1 jul. 2018.

Lücker, A. *et al.* The relative influence of hematocrit and red blood cell velocity on oxygen transport from capillaries to tissue. **Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)**, v. 24, n. 3, p. 10.1111/micc.12337, abr. 2017.

Macedo, P. M. *et al.* Hepatic Disease with Portal Hypertension and Acute Juvenile Paracoccidioidomycosis: A Report of Two Cases and Literature Review. **Mycopathologia**, v. 182, n. 9–10, p. 915–919, out. 2017.

Mansano, E. S. B. *et al.* Correlation between Histopathological and FT-Raman Spectroscopy Analysis of the Liver of Swiss Mice Infected with Paracoccidioides brasiliensis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, p. e106256, 2 set. 2014.

Marques, S. A. Paracoccidioidomycosis: epidemiological, clinical, diagnostic and treatment updating. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, p. 700–711, out. 2013.

Martinez, R. EPIDEMIOLOGY OF PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. Suppl 19, p. 11–20, set. 2015.

Meinerz, A. R. M. *et al.* Efeitos de doses elevadas da terbinafina e itraconazol em ratos Wistar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 105–109, mar. 2007.

Mossalam, H. H. M.; Yousuf, A. F. Effect of itraconazole on the liver of adult male albino rat and the possible protective role of coenzyme q10 (histological, immunohistochemical and biochemical study). **al-azhar medical journal**, v. 50, n. 1, p. 791–808, 1 jan. 2021.

Nery, A. F. *et al.* Puzzling paracoccidioidomycosis: Factors associated with the severity of Paracoccidioides lutzii infections. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 107, p. 284–290, 1 jun. 2021.

Nogueira, M. G. D. S.; Andrade, G. M. Q. Paracoccidioidomycosis in children and adolescents. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 25, n. 2, 2015.

Nucci, M.; Colombo, A. L.; Queiroz-Telles, F. Paracoccidioidomycosis. **Current Fungal Infection Reports**, v. 3, n. 1, p. 15, mar. 2009.

Oliveira, A. A. Atividade fungicida de células dendríticas humanas contra o aracoccidioides brasiliensis: papel dos etabólitos do oxigênio, citocinas e receptores de reconhecimento padrão. 2014.

- Parente, A. F. A. *et al.* Proteomic Analysis Reveals That Iron Availability Alters the Metabolic Status of the Pathogenic Fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **PLOS ONE**, v. 6, n. 7, p. e22810, 28 jul. 2011.
- Peraçoli, M. T. S. *et al.* Production of pro- and anti-inflammatory cytokines by monocytes from patients with paracoccidioidomycosis. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 5, p. 413–418, abr. 2003.
- Perrone, R. D.; Madias, N. E.; Levey, A. S. Serum Creatinine as an Index of Renal Function: New Insights into Old Concepts. **Clinical Chemistry**, v. 38, n. 10, p. 1933–1953, 1 out. 1992.
- Pillai, A. A. *et al.* Polycythemia. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025.
- Pino-Tamayo, P. A. *et al.* Depletion of Neutrophils Exacerbates the Early Inflammatory Immune Response in Lungs of Mice Infected with *Paracoccidioides brasiliensis*. **Mediators of Inflammation**, v. 2016, p. 1–17, 2016.
- Praught, M. L.; Shlipak, M. G. Are small changes in serum creatinine an important risk factor? **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 14, n. 3, p. 265, maio 2005.
- Restrepo, A.; McEwen, J. G.; Castañeda, E. The habitat of *Paracoccidioides brasiliensis*: how far from solving the riddle? **Medical Mycology**, v. 39, n. 3, p. 233–241, jun. 2001.
- Rudramurthy, G. R. *et al.* Nanoparticles: Alternatives Against Drug-Resistant Pathogenic Microbes. **Molecules**, v. 21, n. 7, p. 836, 27 jun. 2016.
- Santos, L. A.; Grisolia, J. C.; Oliveira, A. M. De. Paracoccidioidomycose: the challenges of diagnosis and treatment. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 17, n. 1, 2019.
- Santos-Júnior, A. O. Dos. Avaliação do potencial terapêutico de nanopartículas com Itraconazol por via inalatória em camundongos experimentalmente infectados com paracoccidioides brasiliensis. 12 ago. 2019.
- Shikanai-Yasuda, M. A. *et al.* Neoplasia and paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4, p. 303–312, 1 abr. 2008.
- 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, 2017.
- Shikanai-Yasuda, M. A. *et al.* [Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis]. **Epidemiologia E Servicos De Saude: Revista Do Sistema Unico De Saude Do Brasil**, v. 27, n. spe, p. e0500001, 16 ago. 2018.
- Silva, J. C. de Q. E *et al.* Involvement of the Dectin-1 Receptor upon the Effector Mechanisms of Human Phagocytic Cells against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, 2019.

Silva, M. J. A. *et al.* Ecoepidemiologia da paracoccidioidomicose: Uma revisão narrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e31810918182–e31810918182, 26 jul. 2021.

Thakare, V. *et al.* Oral antifungal: the safety and efficacy of oral itraconazole in dermatophytosis. **International Journal of Basic & Clinical Pharmacology**, v. 8, n. 11, p. 2470–2474, 22 out. 2019.

Venturini, J. *et al.* Phenotypic and functional evaluations of peripheral blood monocytes from chronic-form paracoccidioidomycosis patients before and after treatment. **BMC infectious diseases**, v. 14, p. 552, 16 out. 2014.

Wanke, B.; Aidê, M. A. Capítulo 6 - Paracoccidioidomicose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, p. 1245–1249, dez. 2009.

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A PCM permanece como um desafio significativo de saúde pública, principalmente nas regiões endêmicas, como o Brasil, devido à sua alta prevalência, complexidade clínica e necessidade de tratamentos prolongados.

O itraconazol, embora amplamente reconhecido como um agente antifúngico eficaz para o tratamento da PCM, tem seu uso associado a efeitos colaterais que podem comprometer a adesão terapêutica e a qualidade de vida dos pacientes.

A introdução de novos métodos terapêuticos, como as nanopartículas de itraconazol administradas por via inalatória, mostram-se promissores. Assim como os achados desta pesquisa, os estudos experimentais em modelos murinos reforçam o potencial dessas formulações em superar as limitações das terapêuticas convencionais, apontando para avanços significativos no manejo da PCM.

Este estudo fornece evidências das alterações hematológicas e bioquímicas associadas à infecção por *P. brasiliensis* em camundongos Balb/c e o efeito de uma nova abordagem terapêutica. As mudanças observadas no eritrograma, leucograma e nos parâmetros bioquímicos refletem a complexa interação entre o patógeno e o sistema imune do hospedeiro, bem como o impacto sistêmico da infecção. Estes achados contribuem significativamente para nossa compreensão da patofisiologia da PCM e destacam a importância do monitoramento hematológico e bioquímico no manejo da doença. As alterações observadas podem servir como marcadores potenciais para a progressão da doença e a eficácia do tratamento.

Apesar dos avanços, ainda há a necessidade de aprofundar as pesquisas com nanopartículas em modelos clínicos e ampliar o acesso às tecnologias emergentes, incluindo inserção de diferentes biomarcadores. Assim, a busca por terapias mais seguras e eficazes para a PCM deve continuar sendo uma prioridade para melhorar os desfechos clínicos e reduzir o impacto da doença em populações vulneráveis.