

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul
Bacharelado em Biotecnologia - Ênfase em Biotecnologia Molecular

Elisa Santos Antunes

Mecanismos moleculares envolvidos nas infecções fúngicas por agentes da mucormicose e os possíveis alvos de tratamento: uma revisão sistemática

Porto Alegre

2022

Elisa Santos Antunes

Mecanismos moleculares envolvidos nas infecções fúngicas por agentes da mucormicose e os possíveis alvos de tratamento: uma revisão sistemática

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de bacharela em Biotecnologia - Ênfase em Biotecnologia Molecular do Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lúcia Scroferneker

Coorientadora: Me. Danielle Machado Pagani

Porto Alegre

2022

CIP - Catalogação na Publicação

Antunes, Elisa Santos

Mecanismos moleculares envolvidos nas infecções fúngicas por agentes da mucormicose e os possíveis alvos de tratamento: uma revisão sistemática / Elisa Santos Antunes. -- 2022.

33 f.

Orientadora: Maria Lúcia Scroferneker.

Coorientador: Danielle Machado Pagani.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Curso de Biotecnologia: Biotecnologia Molecular, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Mucormicose. 2. Mucorales. 3. Mecanismos moleculares. I. Scroferneker, Maria Lúcia, orient. II. Pagani, Danielle Machado, coorient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Elisa Santos Antunes

Mecanismos moleculares envolvidos nas infecções fúngicas por agentes da mucormicose e os possíveis alvos de tratamento: uma revisão sistemática

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de bacharela em Biotecnologia - Ênfase em Biotecnologia Molecular do Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lúcia Scroferneker

Coorientadora: Me. Danielle Machado Pagani

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Patrícia Valente (UFRGS)

Me. Alessandra Koehler (UFRGS)

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Solange, pelo amor, compreensão e apoio em todas as etapas da minha vida, principalmente durante a graduação.

Agradeço meu pai Elísio (in memorian), pelo amor e por tudo que fez em vida por mim e pelas irmãs.

À minha família e amigos, que de alguma forma estiveram presentes em todos os momentos e me apoiando ao longo da graduação.

Ao Tadao pelo amor, carinho e companheirismo dos últimos 6 anos, por toda ajuda e apoio que me prestou nesses anos.

Agradeço aos amigos do Grupo Escoteiro Japão, por tudo que fizeram e fazem na minha vida.

A professora Maria Lúcia por ter me aceitado com orientada e pelos ensinamentos e apoio durante a minha iniciação científica no laboratório 325, e à minha coorientadora, Danielle Pagani, pela ajuda, esforço e disponibilidade durante a elaboração desse trabalho.

A todos os professores e colegas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a minha formação e enriqueceram o meu processo de aprendizagem do curso de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

RESUMO

A mucormicose é uma infecção fúngica invasiva rara e grave causada por fungos ubíquos e oportunistas que pertencem ao subfilo Mucoromycotina e ordem Mucorales. Esses fungos são comumente encontrados em matéria orgânica em decomposição e no solo. Em pacientes com doença disseminada, que se caracteriza por neutropenia persistente ou invasão cerebral apresenta alta taxa de mortalidade. O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão da literatura para preencher as lacunas sobre os mecanismos moleculares dos agentes fúngicos da mucormicose. Esses mecanismos irão facilitar o entendimento das infecções causadas por esses fungos oportunistas, possibilitando a descoberta de novas estratégias de tratamento e/ou terapias. Concluímos que os mecanismos moleculares são possíveis alvos para tratamentos, sendo o CotH o mais promissor, possibilitando assim a recuperação de pacientes acometidos pela infecção por fungos causadores da mucormicose.

Palavras-chave: Mucormicose; Mucorales; Mecanismos Moleculares; CotH, Ferro, Epimutação.

ABSTRACT

Mucormycosis is a rare and severe invasive fungal infection caused by ubiquitous and opportunistic fungi that belong to subphylum Mucoromycotina and order Mucorales. These fungi are commonly found in soil and decomposing organic matter. In patients with the disseminated disease, which is characterized by persistent neutropenia, or brain invasion, has a high mortality rate. The present study aimed to carry out a literature review to fill the gaps on the molecular mechanisms of the fungal agents of mucormycosis. These mechanisms will facilitate the understanding of infections caused by these opportunistic fungi, enabling new strategies and/or treatment therapy to be discovered. We conclude that molecular mechanisms are possible targets for treatments, with CotH being the most promising, thus enabling the recovery of patients affected by mucormycosis infection.

Keywords: Mucormycosis; Mucorals; Molecular Mechanisms; CotH, Iron, Epimutation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mecanismo de proteínas de revestimento de esporos (Coth).....	13
Figura 2 - Mecanismo de captação de ferro.	14
Figura 3 - Mecanismo do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR).	16
Figura 4 - Mecanismo de epimutações.....	17
Figura 5 - Diagrama de blocos com as etapas para a seleção dos artigos.....	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ago	Proteína Argonauta
AmB-L	Anfotericina B Lipossomal
BHB	β -hidroxibutirato
CAD	Cetoacidose diabética
CotH	Proteína de revestimento de esporos
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
FDA	Food and Drug Administration
Fob	Proteína de superfície celular de ligação de ferrioxamina
FTR1	Permease de ferro de alta afinidade
gDNA	DNA genômico
GRP78	Proteína 78 reguladora por glicose
LBA	Lavado broncoalveolar
MIC	Concentrações inibitórias mínimas
NCRIP	RNAi não canônico
R3B2	Ribonuclease tipo III
RdRP	RNA polimerase dependente de RNA
RE	Retículo endoplasmático
RNAi	interferência por RNA
sRNA	Pequeno RNA não-codificador

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 JUSTIFICATIVA	10
1.2 OBJETIVOS	10
1.2.1 Objetivo Geral	10
1.2.2 Objetivos Específicos	10
2 REFERENCIAL TERÓRICO	11
2.1 MUCORMICOSE	11
2.2 MUCORMICOSE E COVID-19	11
2.3 TRATAMENTO	12
2.4 MECANISMOS MOLECULARES	13
2.4.1 Proteínas de revestimento de esporos (CoH)	13
2.4.2 Captação de ferro	14
2.4.3 Receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR)	15
2.4.4 Epimutação	16
3 METODOLOGIA	18
4 RESULTADOS	19
5 DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

A mucormicose é uma infecção fúngica invasiva rara e grave causada por fungos ubíquos e oportunistas que pertencem ao subfilo Mucoromycotina e ordem Mucorales. É um grupo composto predominantemente por espécies dos gêneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Cunninghamella*, *Lichtheimia* e *Apophysomyces* (BALDIN; IBRAHIM, 2017; JOSE *et al.*, 2021). São fungos filamentosos não septados, apresentam colônias de cor branco-algodonosa ou preto acinzentado que comumente são encontrados no solo, matéria orgânica em decomposição, ar e até mesmo no muco de pessoas saudáveis (MAHALAXMI *et al.*, 2021; PASRIJA; NAIME, 2022). O primeiro registro de mucormicose ocorreu em 1855, sendo esse considerado o primeiro caso humano autêntico dessa infecção fúngica (KÜCHENMEISTER, 1855; MAHALAXMI *et al.*, 2021; PASRIJA; NAIME, 2022).

A Índia é o país com o maior número de ocorrência de infecções por espécies causadoras de mucormicose na última década (CHAKRABARTI; SINGH, 2014; JOSE *et al.*, 2021; SKIADA; PAVLEAS; DROGARI-APIRANTHITOU, 2020). Isso se deve ao elevado número de pacientes com diabetes não controlada, o que resulta em baixo pH sérico e diminuição do efeito fagocitário dos macrófagos e neutrófilos sendo um dos fatores de risco para o acometimento da doença (CHAKRABARTI; SINGH, 2014; KHANNA *et al.*, 2021; PETRIKKOS *et al.*, 2012; STEINBRINK; MICELI, 2021).

Outros fatores de risco são as neoplasias hematológicas, neutropenia, terapia com corticosteroides e deferoxamina, transplante de órgãos ou medula óssea, trauma, queimaduras, doença renal, doença hepática, prematuridade ou desnutrição (BALDIN; IBRAHIM, 2017; IBRAHIM *et al.*, 2012; PETRIKKOS *et al.*, 2012). No contexto da pandemia de COVID-19, houve um crescimento no uso de corticosteroides, resultando um aumento de relatos de casos de mucormicose (SINGH *et al.*, 2021). Na revisão de Singh *et al.*, (2021), os autores verificaram que em 101 dos casos de mucormicose em pacientes com COVID-19, 80% dos casos tinham diabetes *mellitus* (DM) e 76,3% receberam tratamento com corticosteroides. John *et al.*, (2021), também verificaram que 93% dos pacientes tinham DM e 88% receberam tratamento com corticosteroides.

O desbridamento cirúrgico de regiões infectadas e terapia antifúngica são os tratamentos disponíveis para a mucormicose (BALDIN; IBRAHIM, 2017; IBRAHIM *et*

al., 2012). A taxa de mortalidade geralmente é maior que 40% e pode aproximar de 100% em pacientes com a doença disseminada, neutropenia persistente ou invasão cerebral (GEBREMARIAM *et al.*, 2014; IBRAHIM *et al.*, 2012).

O surgimento da pandemia de COVID-19 com altas taxas de mortalidade por infecções fúngicas oportunistas associadas a doenças de base, como diabetes, sugere a necessidade de mais estudos sobre fungos causadores da mucormicose.

1.1 JUSTIFICATIVA

Apesar do número pequeno de espécies de fungos patogênicos e oportunistas, a incidência de doenças causadas por estes organismos tem aumentado ao longo das últimas décadas. Nesse contexto, este trabalho vem atender a necessidade de estudos de correlação com doenças de base e de COVID-19. Entretanto, estudos recentes têm demonstrado não somente um aumento no número de casos, mas também o aparecimento de formas clínicas mais graves e atípicas da doença, principalmente com COVID-19 e/ou diabetes *mellitus* associados.

Assim, são necessários estudos que correlacionem os mecanismos moleculares que estão envolvidos na patogênese e virulência da mucormicose.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão de literatura sobre mecanismos moleculares que facilitem o entendimento da infecção na mucormicose, no intuito de auxiliar na busca de novas estratégias e/ou terapia de tratamento.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão da literatura nos últimos 10 anos (2012 – 2022) sobre mecanismos moleculares envolvidos na infecção da mucormicose.
- Analisar e identificar os mecanismos moleculares que facilitem a infecção da mucormicose, como sua patogênese e virulência.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 MUCORMICOSE

Os fungos da ordem Mucorales são encontrados como sapróbios comuns em matéria orgânica em decomposição e no solo. Os gêneros envolvidos na maioria das infecções humanas são *Rhizopus*, *Mucor* e *Rhizomucor*. Outros organismos clinicamente relevantes dentro da ordem Mucorales incluem os gêneros *Actinomucor*, *Apophysomyces*, *Cunninghamella*, *Lichtheimia* (anteriormente chamada *Absidia*), *Saksenaea* e *Syncephalastrum* (BALDIN; IBRAHIM, 2017; STEINBRINK; MICELI, 2021). As espécies pertencentes à ordem Mucorales produzem endogenamente esporos assexuados unicelulares (esporangiósporos). Além disso, as hifas largas, em forma de fita e cenocíticas (STEINBRINK; MICELI, 2021; WALTHER; WAGNER; KURZAI, 2019).

Os agentes da mucormicose geralmente são angioinvasivos e acometem indivíduos imunocomprometidos. A forma clínica mais comum é a rino-órbito-cerebral, que normalmente se origina nos seios paranasais pela inalação de esporos fúngicos (STEINBRINK; MICELI, 2021). No estágio inicial da doença os sintomas consistem em sinusite aguda, febre, dor de cabeça, dor sinusal e congestão nasal. A progressão da doença, que geralmente é rápida, resulta na invasão da órbita e do palato e maior extensão para o cérebro. A invasão tecidual pode levar a uma série de anormalidades clínicas significativas, incluindo perda da visão, paralisia dos nervos cranianos e alterações no estado mental (BINDER; MAURER; LASS-FLÖRL, 2014; MATTINGLY; RAMAKRISHNAN, 2016; STEINBRINK; MICELI, 2021).

2.2 MUCORMICOSE E COVID-19

Desde o surgimento da pandemia da COVID-19, foi observado um aumento abrupto no número de infecções fúngicas oportunistas por agentes da mucormicose sendo que a maioria foi relatada na Índia (AL-TAWFIQ *et al.*, 2021; MAHALAXMI *et al.*, 2021; SINGH *et al.*, 2021). A prevalência alta em pacientes com COVID-19 é multifatorial, como DM mal controlado, uso excessivo de corticosteroides e possivelmente antibióticos e exposição ambiental (GANDRA; RAM; LEVITZ, 2021). Os pacientes com DM e uso prolongado de corticosteroides ficam mais expostos à infecção fúngica, por apresentarem uma resposta imune inadequada

(SEYEDALINAGHI *et al.*, 2022; SHARMA *et al.*, 2022). Além disso, o próprio COVID-19 inicia uma cadeia de eventos que pode proporcionar aos pacientes infecções fúngicas secundárias. Por exemplo, a diminuição no número total de células T, incluindo os grupos CD4+ e CD8+ em casos graves de COVID-19, causando um estado imunocomprometido e predisposição à mucormicose (SEYEDALINAGHI *et al.*, 2022).

2.3 TRATAMENTO

O sucesso do tratamento da mucormicose é baseado em uma abordagem multimodal envolvendo reversão ou descontinuação dos fatores predisponentes subjacentes. Envolve a administração precoce de doses de antifúngicos ativos, remoção completa de todo o tecido infectado e uso de várias terapias adjuvantes (SKIADA *et al.*, 2018). A anfotericina B lipossomal (AmB-L) é um antifúngico da classe dos polienos utilizado como tratamento de primeira linha contra a mucormicose. O uso da formulação lipídica de anfotericina B apresenta menor toxicidade, a qual permite tratamento prolongado. Destaca-se que a mortalidade dos pacientes com doenças fúngicas está associado à escolha do tratamento muitas vezes tardia (BRUNET; RAMMAERT, 2020; STEINBRINK; MICELI, 2021).

Entre os antifúngicos azólicos, posaconazol e isavuconazol são os mais eficazes contra a mucormicose e são usados para terapia de redução após a resposta positiva do tratamento com anfotericina B. Posaconazol e isavuconazol também são recomendados quando há necessidade de mudança de esquema de tratamento e/ou profilaxia. Os agentes da mucormicose são intrinsecamente resistentes a outros azóis como fluconazol, itraconazol e voriconazol, e às equinocandinas (BRUNET; RAMMAERT, 2020; RUIZ CAMPS; SALAVERT LLETÍ, 2018; SKIADA *et al.*, 2018; STEINBRINK; MICELI, 2021).

O desbridamento cirúrgico com remoção do tecido necrótico é fundamental no tratamento da mucormicose e tem demonstrado melhora na sobrevida do paciente (BRUNET; RAMMAERT, 2020; STEINBRINK; MICELI, 2021).

2.4 MECANISMOS MOLECULARES

2.4.1 Proteínas de revestimento de esporos (Coth)

As proteínas de revestimento de esporos (Coth) estão amplamente presentes no gênero Mucorales e ausentes em outras espécies de fungos. O Coth atua como ligante fúngico para a proteína 78 regulada por glicose (GRP78) na superfície das células endoteliais do hospedeiro (BALDIN; IBRAHIM, 2017; GEBREMARIAM *et al.*, 2014). O GRP78 é uma proteína de choque térmico que geralmente está localizada no retículo endoplasmático (RE). No entanto, condições estressantes induzem à superexpressão de GRP78 e sua liberação no RE para a superfície celular, onde pode interagir com proteínas Coth2 e Coth3 (IBRAHIM; ABDELMALEK; ELFIKY, 2019; LIU *et al.*, 2010), como está demonstrado na Figura 1.

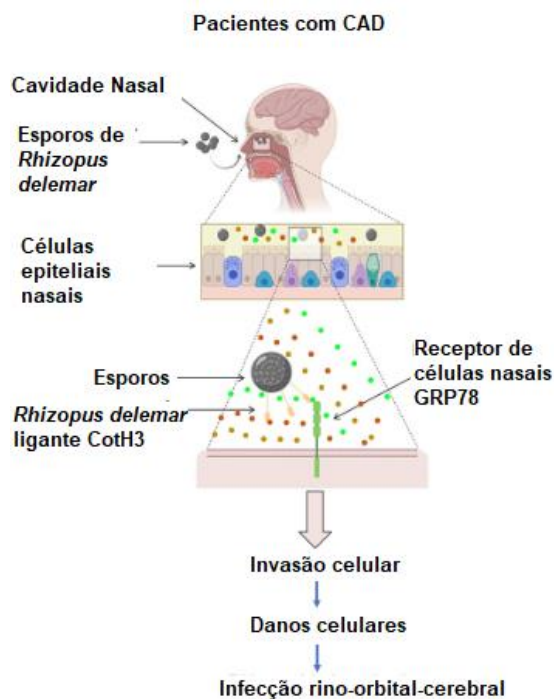


Figura 1 - Mecanismo de proteínas de revestimento de esporos (Coth) em pacientes com CAD (cetoacidose diabética). Fonte: Adaptado de ALQARIHI *et al.*, (2020).

Em estudos de GRP78 foi observado que o bloqueio ou atenuação da função da proteína Coth usando anti-Coth reduziu a invasão por *R. delemar* das células endoteliais *in vitro* e reduziu a gravidade da doença em camundongos (BALDIN; IBRAHIM, 2017; GEBREMARIAM *et al.*, 2014). Em pacientes com mucormicose as espécies mais comuns identificadas são *Rhizopus* spp., *Mucor* spp. e *Lichtheimia*

spp. e contêm 3-7 cópias do gene *CotH*. Já aqueles que causam doença apenas ocasionalmente como *Apophysomyces* spp., *Cunninghamella* spp., *Saksenaea* spp., e *Syncephalastrum* spp., contêm apenas 1-2 cópias do gene *CotH* (CHIBUCOS *et al.*, 2016). Esses dados sugerem uma interação única entre *CotH* e o receptor GRP78 e a capacidade de *CotH* de mediar doenças invasivas. Além disso, parece que fungos do gênero Mucorales que apresentam mais cópias de *CotH* podem causar doenças mais frequentes (CHIBUCOS *et al.*, 2016).

2.4.2 Captação de ferro

O ferro desempenha um papel crucial no ciclo de vida dos fungos pertencentes ao gênero Mucorales, sendo que a captação de ferro é um mecanismo importante na patogênese da mucormicose. Larcher *et al.*, (2013) demonstraram que a ferrioxamina é absorvida por *R. oryzae* através do mecanismo de transporte de sideróforos. E provavelmente o mecanismo primário de absorção de ferro envolva a liberação de ferro dos sideróforos antes do transporte intracelular (BALDIN; IBRAHIM, 2017; LARCHER *et al.*, 2013), como está representado na Figura 2.

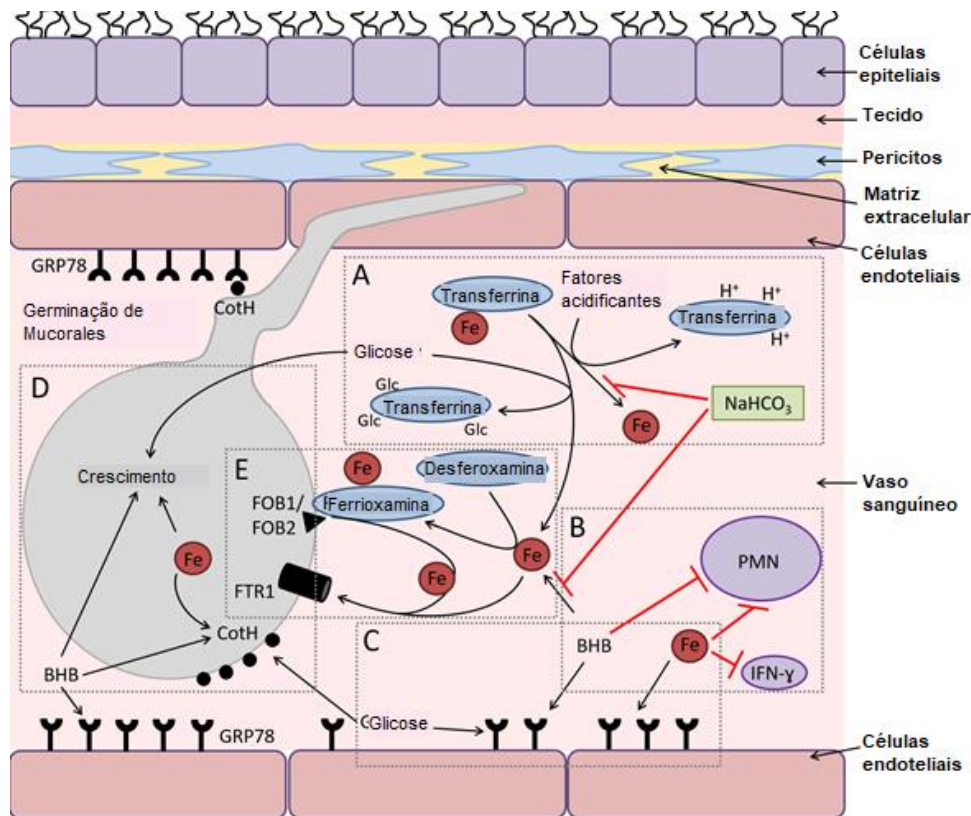


Figura 2 - Mecanismo de captação de ferro. Fonte: BALDIN; IBRAHIM, (2017).

Os trabalhos de De Locht *et al.*, (1994) e Liu *et al.*, (2015) demonstram que o mecanismo de captação de ferro pelo qual as espécies de *Mucor* obtêm ferro da ferrioxamina através do sistema de captação de redutase/permease. Uma vez que o crescimento em meio suplementado com ferrioxamina está associado à alta atividade redutase, e o uso do quelante ferroso disulfonato de batofenantrolina anula captação de ferro e o crescimento em meio com ferrioxamina como única fonte de ferro. Liu *et al.*, (2015) observaram que mutantes de *R. delemar* com expressão atenuada de permease de ferro de alta afinidade (FTR1) impediram quase inteiramente o crescimento do fungo em meio suplementado com ferrioxamina e mostraram virulência reduzida em camundongos que receberam deferoxamina (IBRAHIM *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2015).

2.4.3 Receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR)

O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) regula processos-chave na biologia celular, incluindo proliferação, sobrevivência e diferenciação durante o desenvolvimento, homeostase e tumorigênese (SCHNEIDER; WOLF, 2009). Além disso, muitos patógenos, incluindo vírus, bactérias e fungos, aparentemente desenvolveram a capacidade de utilizar a sinalização de EGFR para entrar nas células hospedeiras, e os mecanismos de ativação de EGFR variam entre esses microrganismos patogênicos (HO *et al.*, 2017; WATKINS *et al.*, 2018).

Watkins *et al.* (2018) forneceram evidências de que a via de EGFR é ativada por *R. delemar* e outras espécies de Mucorales, o que induz a captação de fungos pelas células epiteliais das vias aéreas. Também observaram que a utilização de gefitinibe, inibidor de EGFR, pode aumentar significativamente a sobrevivência de camundongos e reduzir a carga fúngica tecidual dos órgãos-alvos, como está representado na Figura 3.

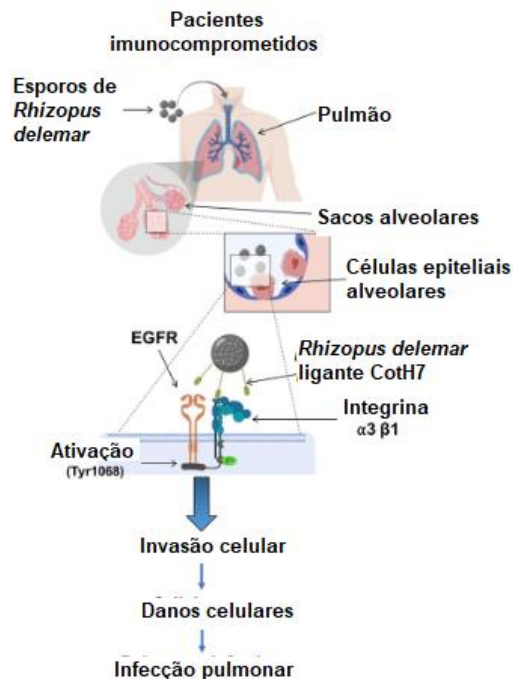


Figura 3 - Mecanismo do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR).

Fonte: Adaptado de ALQARIHI *et al.*, (2020).

2.4.4 Epimutação

A epimutação em fungos patogênicos está emergindo como um novo fenômeno que pode explicar o rápido desenvolvimento da resistência a drogas antifúngicas. Essas epimutações são causadas por mecanismos de interferência de RNA (RNAi) que silenciam temporariamente genes específicos para superar a inibição do crescimento causada por compostos antifúngicos e gerar cepas epimutantes que sejam resistentes a drogas (CALO *et al.*, 2014; CHANG *et al.*, 2019). A espécie *M. circinelloides* exerce um controle em duas vias de RNAi sendo uma canônica e a outra de degradação de RNAi, na qual interagem para produzir epimutantes (PÉREZ-ARQUES *et al.*, 2020).

A via canônica requer a participação de pelo menos uma proteína Dicer e uma proteína Argonauta (Ago) para a produção de pequenos RNAs não-codificadores (sRNAs). Enquanto que a nova via é considerada uma via de RNAi não canônica (NCRIP) porque depende de RNA polimerase dependente de RNA (RdRP) e uma ribonuclease tipo III chamada R3B2 para degradar os transcritos alvos (LAX *et al.*, 2020; PÉREZ-ARQUES *et al.*, 2020), como está representado na Figura 4.

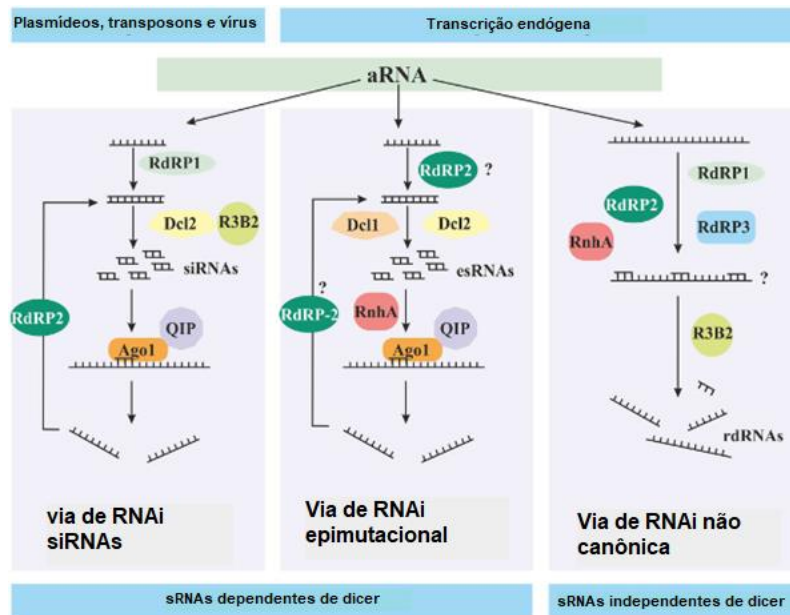


Figura 4 - Mecanismo de epimutações. Fonte: CALO *et al.*, (2017).

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão de literatura das bases de dados Scopus (*SciVerse Scopus*), PubMed (*Public Medicine*), Lilacs (*Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde*) e Google Acadêmico. As palavras-chaves utilizadas foram: “mucormicose”, “mecanismos”, “CotH”, “GRP78”, “ferro”, “EGFR”, “epimutação” e suas combinações.

Como critério de inclusão dos artigos científicos, foram incluídas bibliografias os últimos 10 anos (2012 – 2022), nos idiomas português, inglês e espanhol e excluídas as referências que não tiveram relação direta com o tema proposto.

Após a realização da busca, as referências bibliográficas foram resumidas e organizadas de forma apresentarem: amostra utilizada, a intervenção realizada, a comparação e os resultados obtidos. Os dados encontrados foram analisados e apresentados em figuras e tabelas.

4 RESULTADOS

Na pesquisa inicial realizada nas bases de dados foram encontrados 528 artigos. Após a leitura do título e resumo foram excluídos 471 artigos por não terem relação com o tema do trabalho, permanecendo 57 artigos que foram selecionados para serem lidos na íntegra. Após a leitura dos remanescentes, 47 foram excluídos por não analisarem os mecanismos moleculares e seus possíveis alvos de tratamentos. Sendo assim, 14 artigos permaneceram e foram incluídos na revisão, como mostra a Figura 5.

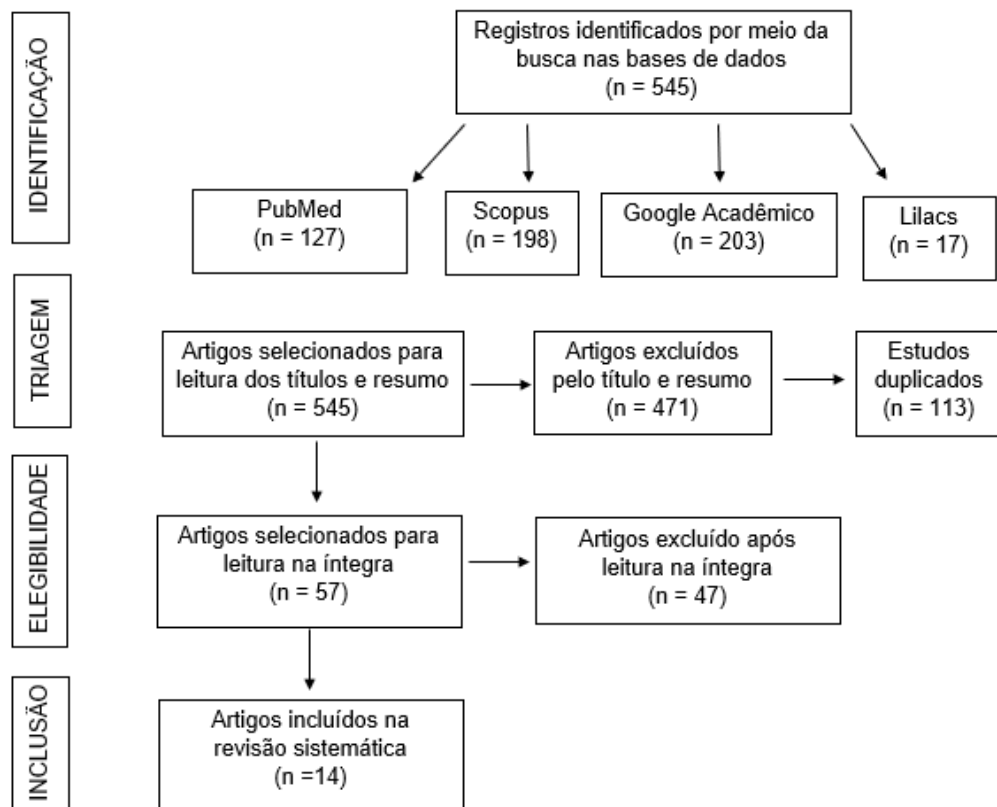


Figura 5 - Diagrama de blocos com as etapas para a seleção dos artigos.

Com base nos dados da Tabela 1, os resultados demonstram que 35,71% das amostras dos estudos foram compostas por *R. delemar* como organismo do estudo, 35,71% por *R. oryzae*, 21,43% por *Mucor circinelloides* e 7,15% por *R. arrhizus*.

Tabela 1 - Resumo dos estudos utilizados na revisão

Autores	População estudada	Intervenção	Comparação realizada	Desfecho do estudo
LARCHER <i>et al.</i> , 2013	<i>R. arrhizus</i>	Analisar a produção de sideróforos, investigar a absorção de deferoxamina B por <i>R. arrhizus</i> e testar a capacidade de internalizar o ferrisideróforo usando um derivado fluorescente de deferoxamina B	<i>R. arrhizus</i> x cepas mucorales	O quelante de ferro fluorescente pode ser considerado um modelo adequado para vetorização de agentes radioativos, tóxicos ou antifúngicos na célula fúngica
GEBREMARIAM <i>et al.</i> , 2014	<i>R. oryzae</i>	Identificar a proteína da superfície celular fúngica que se liga ao GRP78 e seu papel na patogênese da mucormicose	<i>R. oryzae</i> x <i>S. cerevisiae</i>	CotH3 e CotH2 funcionam como invasinas que interagem com a célula hospedeira GRP78 para mediar interações patogênicas entre células hospedeiras
LIU <i>et al.</i> , 2015	<i>R. oryzae</i>	Identificar a proteína da superfície celular fúngica que se liga à ferrioxamina e seu papel na patogênese da mucormicose	WT x mutante	Identificaram as proteínas Fob1 e Fob2 como receptores de ferrioxamina em <i>R. oryzae</i> , facilitando assim a captação de ferro fúngico deste xenosideróforo através da via redutase/permease de ferro de alta afinidade
SHIRAZI; KONTOYIANNIS; IBRAHIM, 2015	<i>R. oryzae</i>	Privação de ferro leva a apoptose aumentada em <i>R. oryzae</i> com capacidade reduzida de adquirir ferro devido à inibição da expressão de FTR1	WT x mutante	Letalidade da depleção de ferro em <i>R. oryzae</i> é, pelo menos parcialmente, impulsionada por apoptose dependente de metacaspase
GEBREMARIAM <i>et al.</i> , 2016	<i>R. oryzae</i> em modelo murino	Investigar os efeitos da acidose induzida por β -hidroxibutirato (induzida por BHB) tanto no hospedeiro quanto no fungo	Controle x tratados BHB	Mostram que camundongos tratados com BHB aumentaram a expressão de GRP78 em todos os órgãos-alvo, incluindo seios da face, pulmões e cérebro

Continuação.

Autores	População estudada	Intervenção	Comparação realizada	Desfecho do estudo
BELLANGER <i>et al.</i> , 2016	<i>R. oryzae</i>	Determinar se as estatinas têm efeitos pleiotrópicos em <i>R. oryzae</i> que pode afetar a virulência da infecção	Controle x diferentes drogas	A exposição de <i>R. oryzae</i> a estatinas em concentrações abaixo de suas concentrações inibitórias mínimas (MIC) diminuiu a virulência tanto <i>in vitro</i> quanto <i>in vivo</i>
ANDRIANAKI <i>et al.</i> , 2018	<i>R. delemar</i> em um modelo murino <i>in vivo</i>	Identificar um papel essencial dos macrófagos durante a interação hospedeiro- <i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus</i> x <i>Aspergillus</i>	Mostrou como anormalidades no metabolismo do ferro levam ao desenvolvimento de imunodeficiência
BALDIN <i>et al.</i> , 2018	<i>R delemar</i>	Investigar a viabilidade do uso de CotH como alvos para diagnóstico precoce de mucormicose usando dois modelos de camundongos	<i>Rhizopus</i> x cepas mucorales	Genes CotH foram biomarcadores adequados para o desenvolvimento de um teste de PCR. A ampliação do DNA CotH da urina 1 dia após a infecção também é uma característica desejável do ensaio
WATKINS <i>et al.</i> , 2018	<i>R. delemar</i> em um modelo murino <i>in vivo</i>	Evidências de que a via do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) é ativada por <i>R. delemar</i> e outras infecções por Mucorales	<i>R. delemar</i> x cepas mucorales	Tratamento com gefitinibe aumentou significativamente a sobrevivência de camundongos e reduziu a carga fúngica tecidual dos órgãos-alvo
CHANG; HEITMAN, 2019	<i>M. circinelloides</i> em um modelo murino	Empregar um modelo murino intravenoso sistêmico de infecção por Mucor para elucidar o impacto potencial da epimutação <i>in vivo</i>	WT x cepas resistentes	Epimutações que afetam a resistência antifúngica podem ser induzidas e revertidas ao longo da infecção <i>in vivo</i> de <i>M. circinelloides</i> , com efeitos aumentados no cérebro
GEBREMARIAM <i>et al.</i> , 2019	<i>R. delemar</i> em modelo murino	Desenvolver anticorpos contra regiões peptídicas de CotH3 e avaliar o potencial uso da imunoterapia passiva contra Mucorales em camundongos	Controle x tratados com anticorpos	O mecanismo de ação desses anticorpos incluiu a prevenção da invasão, aumento do recrutamento de fagócitos e aumentou a depuração fúngica via opsonofagocitose aumentada

Continuação.

Autores	População estudada	Intervenção	Comparação realizada	Desfecho do estudo
VELLANKI <i>et al.</i> , 2020	<i>M. circinelloides</i>	Isolar mutantes que não empregam os mecanismos conhecidos de resistência aos inibidores da calcineurina	WT x mutante	Identificado um novo mecanismo onde mutações de perda de função no gene <i>bycA</i> conferem resistência contra inibidores de calcineurina
ALQARIHI <i>et al.</i> , 2020	<i>R. delemar</i>	Ligantes de Mucorales reconhecem os receptores do hospedeiro únicos para os tipos de células individuais e que essa interação ligante-receptor do hospedeiro é aumentada por fatores do hospedeiro	<i>R. delemar</i> x cepas	Interação específica entre a célula epitelial nasal GRP78 e o fungo <i>CotH3</i> , resulta na captura de esporos inalados na cavidade nasal. Em contraste, a mucormicose pulmonar é iniciada pela interação de esporos inalados expressando <i>CotH7</i> com o receptor de integrina $\alpha 3\beta 1$, que ativa o EGFR para induzir a invasão fúngica das células hospedeiras
PÉREZ-ARQUES <i>et al.</i> , 2020	<i>M. circinelloides</i> em um modelo murino	Análise funcional detalhada da via NCRIP, abordando os papéis funcionais que ela pode desempenhar na biologia e patogênese dos fungos	WT x mutante	Revelou uma função notável do NCRIP na regulação negativa da resposta genética eliciada durante a fagocitose, sugerindo um papel essencial para esta via nas interações hospedeiro-patógeno

Os artigos selecionados relataram mecanismos moleculares envolvidos na virulência da mucormicose que poderiam ser possíveis alvos para tratamentos. Também foi observado que na maioria dos trabalhos a comparação foi entre uma cepa selvagem e cepas mutantes.

De acordo com os achados da literatura, os resultados obtidos nos estudos demonstram que os mecanismos moleculares que estão envolvidos na virulência da mucormicose, como CotH, captação de ferro, receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e epimutação, podem ser possíveis alvos para futuras terapias contra a mucormicose.

5 DISCUSSÃO

Os artigos encontrados evidenciaram que mecanismos moleculares envolvidos na virulência da ordem Mucorales podem ser possíveis alvos de futuras terapias contra a mucormicose. Os resultados obtidos por Alqarihi *et al.* (2020) vão de encontro aos achados de Gebremariam *et al.* (2014), ambos demonstrando que os homólogos da proteína de revestimento dos esporos (CotH) se apresentaram como um dos mecanismos mais promissores para o desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas e diagnóstico contra a mucormicose. Os dados indicam que CotH3 e CotH2 funcionam como invasinas interagindo com a proteína GRP78 e medindo as interações patogênicas entre as células.

Baldin *et al.* (2018) realizaram a amplificação de CotH por PCR a partir de amostras de urina de pacientes com mucormicose. *Primers* foram projetados para várias regiões altamente conservadas e foram testados para estabelecer sua especificidade usando DNA genômico (gDNA) extraído de diferentes culturas de espécies da ordem Mucorales. Sendo, então, um alvo promissor para o desenvolvimento de um método confiável, sensível e simples de diagnóstico precoce de mucormicose. Uma vez que o diagnóstico atual de mucormicose, depende da cultura histopatológica, do exame anatomopatológico e lavado broncoalveolar (LBA), só podendo ser definidos em um estágio mais avançado da doença, dificultando o início do tratamento (BALDIN *et al.*, 2018).

Em 2016, Gebremariam *et al.* idealizaram um modelo que visa explicar a suscetibilidade dos casos de pacientes com cetoacidose diabética (CAD) para a infecção por espécies causadoras da mucormicose. O ferro livre elevado, glicose e β -hidroxibutirato (BHB) promoveram o crescimento fúngico, atenuando os mecanismos de defesa do hospedeiro e aumentando a expressão de GRP78 e CotH, o que resultou na disseminação da doença. Observaram que camundongos que receberam BHB desenvolveram acidose clínica e tornaram-se altamente suscetíveis às espécies causadoras de mucormicose, enquanto o bicarbonato de sódio reverteu o pH ácido para a neutralidade, bloqueando a capacidade das espécies causadoras da mucormicose de invadir as células endoteliais. No entanto, o BHB também prejudicou indiretamente a capacidade da transferrina de quelar o ferro, e a quelação do ferro combinado com o bicarbonato de sódio protege completamente as células endoteliais da invasão e dano por *Rhizopus spp.* Esses

achados esclarecem a patogênese da mucormicose durante a cetoacidose e ressaltam a importância do controle do metabolismo da acidose para prevenir e controlar essa infecção. Gebremariam *et. al.* (2019) sintetizaram anticorpos policlonais e monoclonais contra regiões peptídicas de CotH3. Os anticorpos policlonais protegeram camundongos com cetoacidose diabética (CAD) e neutropênicos infectados com fungos das espécies causadoras da mucormicose em comparação ao controle. Essa proteção também foi observada nos camundongos tratados com anticorpos monoclonais, atuando também sinergicamente com drogas antifúngicas na proteção de camundongos com CAD infectados com *R. delemar*. Esses achados identificaram os anticorpos anti-CotH3 como uma opção promissora de imunoterapia adjuvante contra a mucormicose.

Bellanger *et. al.* em 2016 verificaram que a exposição de *R. oryzae* a estatinas em concentrações abaixo de suas concentrações inibitórias mínimas (MIC) causou uma diminuição da virulência tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Além disso, induziu a fragmentação do DNA e atenuou o dano de células endoteliais independentemente da expressão de GRP78 e CotH. Esses resultados demonstram o potencial do uso de estatinas como uma terapia adjuvante para mucormicose, em combinação com antifúngicos convencionais. Porém, são necessários estudos mais aprofundados.

Em 2013, Larcher *et. al.* utilizaram um derivado fluorescente da deferoxamina B e demonstraram por microscopia de fluorescência a entrada de sideróforos em células fúngicas, indicando assim um mecanismo vaivém envolvendo a absorção de todo o complexo sideróforo-íon na célula. Desta forma, o quelante de ferro fluorescente pode ser considerado um modelo adequado para vetorização de agentes radioativos, tóxicos ou antifúngicos na célula fúngica. Liu *et. al.* (2015), verificaram que as proteínas da superfície celular de ligação de ferrioxamina (Fob) (nomeadamente Fob1 e Fob2) são receptores fúngicos de ferrioxamina. Esse mecanismo facilita a captação de ferro fúngico do sideróforo rico em ferro ao receptor através da via redutase/permease de ferro de alta afinidade. Shirazi *et. al.* (2015), investigaram a ativação e execução da apoptose de *R. oryzae* sob condição de carência de ferro, como resultado obtiveram que a ausência de ferro induz uma via dependente de metacaspase que leva à apoptose. Além disso, identificaram o ferro como um componente chave para prevenir a apoptose. Andrianaki *et. al.* (2018), observaram que mecanismos moleculares persistem dentro de macrófagos através da interrupção de maturação do fagossomo induzida pela melanina, além de

identificarem que a imunidade nutricional via restrição de ferro inibe o crescimento do fungo. Isso fornece uma ligação entre a homeostase do ferro dentro dos macrófagos e as respostas imunes as espécies causadoras da mucormicose.

Chang e Heitman em 2019 estudaram a resistência à droga baseada em epimutação utilizando tacrolimus, imunossupressor da classe de inibidores de calcineurina. Os autores observaram que a epimutação pode ser induzida e revertida ao longo da infecção *in vivo* de *M. circinelloides*, com efeitos aumentados no cérebro, sugerindo que a rápida mudança de estados epigenéticos possam permitir adaptação aos diferentes ambientes em que as espécies de *Mucor* podem ser encontradas. Vellanki *et. al.* (2020) identificaram um novo mecanismo, no qual as mutações da perda do gene *bycA* conferem resistência aos inibidores de calcineurina que é alcançada através da regulação da atividade da proteína quinase A. Pérez-Arques *et. al.* (2020) estudaram uma via de RNAi não canônica (NCRIP) que interage com RNAi epimutacional. Os resultados demonstraram uma complexa rede gênica regulada pela via NCRIP que reprime alvos-chave durante o crescimento fúngico. Análises transcriptômicas revelaram ainda que o NCRIP regula genes necessários para enfrentar ambientes estressantes, como a fagocitose por macrófagos, essencial para a virulência. Além disso, NCRIP interage com a via canônica de RNAi protegendo a estabilidade do genoma, controlando a mobilização de transposons ou mediando a geração de epimutantes.

Em contrapartida, os resultados obtidos por Watkins *et. al.* (2018), quando utilizaram como tratamento gefitinibe, um inibidor de EGFR, aumentou significativamente de camundongos infectados com o fungo *R. delemar*. O inibidor reduziu a carga fúngica e inibiu a sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), apresentando potencial como uma nova abordagem para o tratamento contra a mucormicose através do reaproveitamento de fármaco já aprovado pela FDA.

6 CONCLUSÃO

Foi realizada uma revisão da literatura sobre o tema “mecanismos moleculares envolvidos nas infecções fúngicas por agente da mucormicose e os possíveis alvos de tratamento”. Por ser uma infecção rara, foram encontrados poucos artigos que estudaram os mecanismos envolvidos nessa doença. Apesar do baixo número de artigos, nossos resultados mostraram que a diminuição da expressão de CotH, a ausência de ferro que induz uma via de metacaspase levando o fungo à apoptose, e a utilização de um inibidor EGFR capaz de reduzir a carga fúngica, podem ser utilizados como base para o desenvolvimento de possíveis novas estratégias e/ou terapias que possam utilizar esses mecanismos como metodologias para futuras aplicações clínicas. Neste contexto, avaliamos que o mecanismo CotH é o que vem se apresentando como um forte candidato para uma nova estratégia no tratamento de infecção por fungos causadores de mucormicose.

REFERÊNCIAS

- ALQARIHI, A. *et al.* GRP78 and Integrins Play Different Roles in Host Cell Invasion during Mucormycosis. **mBio**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. e01087-20, 2020.
- AL-TAWFIQ, J. A. *et al.* COVID-19 and mucormycosis superinfection: the perfect storm. **Infection**, [s. l.], v. 49, n. 5, p. 833–853, 2021.
- ANDRIANAKI, A. M. *et al.* Iron restriction inside macrophages regulates pulmonary host defense against *Rhizopus* species. **Nature Communications**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 3333, 2018.
- BALDIN, C. *et al.* PCR-Based Approach Targeting Mucorales-Specific Gene Family for Diagnosis of Mucormycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 56, n. 10, p. e00746-18, 2018.
- BALDIN, C.; IBRAHIM, A. S. Molecular mechanisms of mucormycosis—The bitter and the sweet. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. e1006408, 2017.
- BELLANGER, A.-P. *et al.* Statin Concentrations Below the Minimum Inhibitory Concentration Attenuate the Virulence of *Rhizopus oryzae*. **Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 214, n. 1, p. 114–121, 2016.
- BINDER, U.; MAURER, E.; LASS-FLÖRL, C. Mucormycosis – from the pathogens to the disease. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 20, p. 60–66, 2014.
- BRUNET, K.; RAMMAERT, B. Mucormycosis treatment: Recommendations, latest advances, and perspectives. **Journal de Mycologie Médicale**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 101007, 2020.
- CALO, S. *et al.* A non-canonical RNA degradation pathway suppresses RNAi-dependent epimutations in the human fungal pathogen *Mucor circinelloides*. **PLOS Genetics**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. e1006686, 2017.
- CALO, S. *et al.* Antifungal drug resistance evoked via RNAi-dependent epimutations. **Nature**, [s. l.], v. 513, n. 7519, p. 555–558, 2014.
- CHAKRABARTI, A.; SINGH, R. Mucormycosis in India: unique features. **Mycoses**, [s. l.], v. 57, n. s3, p. 85–90, 2014.
- CHANG, Z. *et al.* Broad antifungal resistance mediated by RNAi-dependent epimutation in the basal human fungal pathogen *Mucor circinelloides*. **PLOS Genetics**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. e1007957, 2019.
- CHANG, Z.; HEITMAN, J. Drug-Resistant Epimutants Exhibit Organ-Specific Stability and Induction during Murine Infections Caused by the Human Fungal Pathogen *Mucor circinelloides*. **mBio**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. e02579-19, 2019.
- CHIBUCOS, M. C. *et al.* An integrated genomic and transcriptomic survey of mucormycosis-causing fungi. **Nature Communications**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 12218, 2016.

DE LOCHT, M.; BOELAERT, J. R.; SCHNEIDER, Y.-J. Iron uptake from ferrioxamine and from ferrirhizoferrin by germinating spores of rhizopus microsporus. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 47, n. 10, p. 1843–1850, 1994.

GANDRA, S.; RAM, S.; LEVITZ, S. M. The “Black Fungus” in India: The Emerging Syndemic of COVID-19–Associated Mucormycosis. **Annals of Internal Medicine**, [s. l.], v. 174, n. 9, p. 1301–1302, 2021.

GEBREMARIAM, T. *et al.* Anti-CoH3 antibodies protect mice from mucormycosis by prevention of invasion and augmenting opsonophagocytosis. **Science Advances**, [s. l.], v. 5, n. 6, p. eaaw1327, 2019.

GEBREMARIAM, T. *et al.* Bicarbonate correction of ketoacidosis alters host-pathogen interactions and alleviates mucormycosis. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 126, n. 6, p. 2280–2294, 2016.

GEBREMARIAM, T. *et al.* CoH3 mediates fungal invasion of host cells during mucormycosis. **The Journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 124, n. 1, p. 237–250, 2014.

HO, J. *et al.* The Role of ErbB Receptors in Infection. **Trends in Microbiology**, [s. l.], v. 25, n. 11, p. 942–952, 2017.

IBRAHIM, A. S. *et al.* Pathogenesis of Mucormycosis. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, [s. l.], v. 54, n. Suppl 1, p. S16–S22, 2012.

IBRAHIM, A. S. *et al.* The high affinity iron permease is a key virulence factor required for *Rhizopus oryzae* pathogenesis: FTR1 and mucormycosis virulence. **Molecular Microbiology**, [s. l.], v. 77, n. 3, p. 587–604, 2010.

IBRAHIM, I. M.; ABDELMALEK, D. H.; ELFIKY, A. A. GRP78: A cell’s response to stress. **Life Sciences**, [s. l.], v. 226, p. 156–163, 2019.

JOHN, T. M.; JACOB, C. N.; KONTOYIANNIS, D. P. When Uncontrolled Diabetes Mellitus and Severe COVID-19 Converge: The Perfect Storm for Mucormycosis. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 298, 2021.

JOSE, A. *et al.* Current Understanding in the Pathophysiology of SARS-CoV-2-Associated Rhino-Orbito-Cerebral Mucormycosis: A Comprehensive Review. **Journal of Maxillofacial & Oral Surgery**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 373–380, 2021.

KHANNA, M. *et al.* Risk of Mucormycosis in Diabetes Mellitus: A Systematic Review. **Cureus**, [s. l.], 2021. Disponível em: <https://www.cureus.com/articles/71811-risk-of-mucormycosis-in-diabetes-mellitus-a-systematic-review>. Acesso em: 9 abr. 2022.

KÜCHENMEISTER, F. **Die in und an dem körper des lebenden menschen vorkommenden parasiten: Ein lehr- und handbuch der diagnose und behandlung der thierischen und pflanzlichen parasiten des menschen.** [S. l.]: G.B. Teubner, 1855. *E-book*. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=JxQfAQAAMAAJ>.

- LARCHER, G. *et al.* Siderophore Production by Pathogenic Mucorales and Uptake of Deferoxamine B. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 176, n. 5–6, p. 319–328, 2013.
- LAX, C. *et al.* Genes, Pathways, and Mechanisms Involved in the Virulence of Mucorales. **Genes**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 317, 2020.
- LIU, M. *et al.* Fob1 and Fob2 Proteins Are Virulence Determinants of *Rhizopus oryzae* via Facilitating Iron Uptake from Ferrioxamine. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. e1004842, 2015.
- LIU, M. *et al.* The endothelial cell receptor GRP78 is required for mucormycosis pathogenesis in diabetic mice. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 120, n. 6, p. 1914–1924, 2010.
- MAHALAXMI, I. *et al.* Mucormycosis: An opportunistic pathogen during COVID-19. **Environmental Research**, [s. l.], v. 201, p. 111643, 2021.
- MATTINGLY, J. K.; RAMAKRISHNAN, V. R. Rhinocerebral Mucormycosis of the Optic Nerve. **Otolaryngology–Head and Neck Surgery**, [s. l.], v. 155, n. 5, p. 888–889, 2016.
- PASRIJA, R.; NAIME, M. Resolving the equation between mucormycosis and COVID-19 disease. **Molecular Biology Reports**, [s. l.], v. 49, n. 4, p. 3349–3356, 2022.
- PÉREZ-ARQUES, C. *et al.* A non-canonical RNAi pathway controls virulence and genome stability in Mucorales. **PLOS Genetics**, [s. l.], v. 16, n. 7, p. e1008611, 2020.
- PETRIKKOS, G. *et al.* Epidemiology and Clinical Manifestations of Mucormycosis. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 54, n. suppl_1, p. S23–S34, 2012.
- RUIZ CAMPS, I.; SALAVERT LLETÍ, M. El tratamiento de la mucormicosis (cigomicosis) en el siglo xxi. **Revista Iberoamericana de Micología**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 217–221, 2018.
- SCHNEIDER, M. R.; WOLF, E. The epidermal growth factor receptor ligands at a glance. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 218, n. 3, p. 460–466, 2009.
- SEYEDALINAGHI, S. *et al.* Mucormycosis infection in patients with COVID-19: A systematic review. **Health Science Reports**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. e529, 2022.
- SHARMA, A. *et al.* Black fungus outbreak in India – A direct consequence of COVID-19 surge: A myth or reality. **Gondwana Research**, [s. l.], p. S1342937X22000296, 2022.
- SHIRAZI, F.; KONTOYIANNIS, D. P.; IBRAHIM, A. S. Iron starvation induces apoptosis in *rhizopus oryzae* in vitro. **Virulence**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 121–126, 2015.
- SINGH, A. K. *et al.* Mucormycosis in COVID-19: A systematic review of cases reported worldwide and in India. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 102146, 2021.

SKIADA, A. *et al.* Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. **Medical Mycology**, [s. l.], v. 56, n. suppl_1, p. S93–S101, 2018.

SKIADA, A.; PAVLEAS, I.; DROGARI-APIRANTHITOU, M. Epidemiology and Diagnosis of Mucormycosis: An Update. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 265, 2020.

STEINBRINK, J. M.; MICELI, M. H. Mucormycosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 435–452, 2021.

VELLANKI, S. *et al.* A Novel Resistance Pathway for Calcineurin Inhibitors in the Human-Pathogenic Mucorales *Mucor circinelloides*. **mBio**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. e02949-19, 2020.

WALTHER; WAGNER; KURZAI. Updates on the Taxonomy of Mucorales with an Emphasis on Clinically Important Taxa. **Journal of Fungi**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 106, 2019.

WATKINS, T. N. *et al.* Inhibition of EGFR Signaling Protects from Mucormycosis. **mBio**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. e01384-18, 2018.