

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE**

JENIFFER MICHELLINE DE OLIVEIRA CUSTODIO

**DINÂMICA DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE MICRONUTRIENTES E
SUA CORRELAÇÃO COM PROTEÍNAS SÉRICAS E HORMÔNIOS
TIREOIDEANOS EM PACIENTES COM PARACOCCIDIOIDOMICOSE.**

**CAMPO GRANDE
2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE**

JENIFFER MICHELLINE DE OLIVEIRA CUSTODIO

**DINÂMICA DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE MICRONUTRIENTES E
SUA CORRELAÇÃO COM PROTEÍNAS SÉRICAS E HORMÔNIOS
TIREOIDEANOS EM PACIENTES COM PARACOCCIDIOIDOMICOSE.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof^a Dr. Anamaria Mello Miranda Paniago

**CAMPO GRANDE
2019**

APROVAÇÃO
JENIFFER MICHELLINE DE OLIVEIRA CUSTODIO

**DINÂMICA DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE MICRONUTRIENTES E
SUA CORRELAÇÃO COM PROTEÍNAS SÉRICAS E HORMÔNIOS
TIREOIDEANOS EM PACIENTES COM PARACOCCIDIOIDOMICOSE.**

Tese apresentada como requisito para obtenção
do título de doutor pelo Programa de Pós-
Graduação em Saúde e Desenvolvimento na
Região Centro-Oeste da Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul, sob a orientação da profa.
Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago

Nota/Conceito _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago
(Universidade Federal de Mato Grosso do Sul)

Prof. Dr. _____
Instituição _____

Prof. Dr. _____
Instituição _____

Dedico este Doutorado aos meus pais, Mário Batista de Oliveira e Maria Valdineth de Oliveira e ao meu marido, Aryson Oliveira Custódio pelo incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões.

AGRADECIMENTOS

Nesses anos de doutorado, contei com pessoas que me acompanharam e foram fundamentais para a realização deste estudo. Apenas agradecer seria pouco para os que contribuíram para realização deste trabalho, talvez um presente não bastasse para demonstrar meu carinho e amor por eles, mas tenho por convicção que algumas palavras, verdadeiras palavras, estariam mais próxima de representar minha gratidão.

Agradeço a Deus pela minha vida, pela força e coragem na realização deste trabalho, por ter me amparado e carregado em seus braços nos momentos em que mais precisei, pelo dom da sabedoria e discernimento para agir em todas as situações durante o doutorado.

Aos meus pais, Mario e Val, a qual meu amor é incondicional, pelo incentivo para realizar o doutorado, por jamais terem medido esforços para garantir minha educação e de minhas irmãs, mesmo que para isso se sacrificassem. Por me ensinarem a perseguir meu ideal com dedicação e coragem.

Às minhas irmãs, Janaína e Jéssica, por estarem sempre ao meu lado, pelo amor e carinho, especialmente minha irmã Janaína a qual sempre me incentivou desde a minha graduação a continuar os meus estudos e por ter me auxiliado em muitos momentos difíceis.

Ao meu esposo, Aryson, meu melhor amigo, cúmplice dos meus sonhos, agradeço pela compreensão por todos esses anos, por simplesmente estar ao meu lado e ouvir desabafos. Pelo seu amor, carinho e paciência.

Agradeço ao laboratório de metabolismo de mineral, toda sua equipe, professor Petr Melnikov e Valter Nascimento, pelas orientações e conselhos que recebi durante a execução deste projeto e por terem cedido o laboratório e todos os aparelhos para realizar parte do meu projeto

Ao Laboratório de Microbiologia, em especial, a professora Ana Paula Marques e a Técnica Ana Paula, por terem me acolhido com muito carinho e amor, por me ajudarem na realização deste trabalho com palavras, conselhos e empréstimos de materiais de laboratório.

AGRADECIMENTOS

À bolsista de iniciação científica, lasmin Enokida, por ter me ajudado nas coletas e no desenvolvimento do trabalho. O respeito e o compromisso seu foi fundamental para a conclusão deste estudo.

Agradeço a equipe de serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário “Maria Aparecida Pedrossian”: Luís, Jose Vilela, Josival, Odair, Eliezer, Sandra Leone por terem me ajudado nas coletas, por jamais terem medido esforços para realização deste trabalho.

À Lídia Raquel do Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista-UNESP, pela análise estatística do meu trabalho.

Ao professor Tietê, por sua dedicação e profissionalismo e por compartilhar seu vasto conhecimento.

As minhas colegas de doutorado, Adriana e Claudia Volpe, obrigada pelo apoio, pelas palavras de incentivo quando pensava em desistir do trabalho.

Agradeço a todos os participantes desse estudo, pela disposição em ajudar.

E por fim, não sendo pessoa menor, pelo contrário, o meu alicerce durante esta fase de minha vida, minha orientadora, a professora Anamaria Mello Miranda Paniago. Agradeço de coração, pela confiança depositada em meu trabalho, pela paciência e dedicação para corrigir o texto desta Tese. Por me acalmar em vários momentos de desespero diante a tantos questionamentos do trabalho.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de
água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.
(Mãre Teresa de Calcuta)*

CUSTODIO, J.M.O. Dinâmica das concentrações plasmáticas de micronutrientes e sua correlação com proteínas séricas e hormônios tireoideanos em pacientes com Paracoccidioidomicose. Campo Grande; 2019. [Tese –Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

RESUMO

Embora haja relatos de artigos sobre os papéis desempenhados por minerais, como zinco, cobre e ferro em doenças infecciosas crônicas, não há estudos sobre o papel desses elementos na paracoccidioidomicose (PCM). Este estudo foi realizado para compreender a dinâmica dos micronutrientes e sua correlação com proteínas séricas e hormônios tireoideanos em pacientes com PCM. Foram estudados quatorze pacientes com PCM e dez indivíduos saudáveis, avaliando o índice de massa corporal (IMC) e os níveis séricos de hemoglobina, ferro, ferritina, zinco, cobre, magnésio, albumina, globulina, hormônio estimulador da tireóide (TSH), tiroxina (T4 livre) e triiodotironina (T3). As avaliações foram realizadas na admissão no hospital e no final do primeiro, segundo, quarto e sexto meses de tratamento com PCM. O grupo controle foi avaliado apenas uma vez. Observamos que os pacientes com PCM, antes do tratamento, apresentavam níveis mais altos de cobre e ferro do que os do grupo controle. No entanto, enquanto os níveis de ferro aumentaram após um mês de tratamento, os níveis de cobre não diminuíram após seis meses de tratamento. Foi observada uma redução na atividade inflamatória, indicada pela normalização dos níveis de proteína C reativa à PCR, ferritina, albumina e globulina durante o tratamento. No entanto, não foi observada correlação entre os níveis séricos de minerais e atividade inflamatória ou função tireoidiana no estudo. Em conclusão, nossos resultados mostraram níveis séricos aumentados na admissão do paciente, correspondendo à imunossupressão Th1. Além disso, os níveis séricos de ferro diminuíram simultaneamente com a intensa atividade fúngica observada na doença ativa. Ambos os parâmetros alcançados progrediram para valores normais após a introdução de tratamento específico.

Palavras chave: oligoelementos; proteínas séricas; Blastomicose Sul-Americana; tireoide.

CUSTODIO, J.M.O. Dynamics of plasma micronutrient concentrations and their correlation with serum proteins and thyroid hormones in patients with paracoccidioidomycosis. Campo Grande; 2019. [Tese –Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

ABSTRACT:

Although there are articles reports on the roles played by minerals, such as zinc, copper, and iron in chronic infectious diseases, there have been no studies on the role of these elements in paracoccidioidomycosis (PCM). This study was performed to understand micronutrient dynamics and the correlation with serum proteins and thyroid hormones in patients with PCM. We studied fourteen patients with PCM and ten healthy subjects, evaluating their body mass index (BMI) and serum levels of hemoglobin, iron, ferritin, zinc, copper, magnesium, albumin, globulin, thyroid stimulating hormone (TSH), thyroxine (free T4), and triiodothyronine (T3). Evaluations were conducted upon admission to the hospital and at the end of the first, second, fourth, and sixth month of PCM treatment. The control group was only evaluated once. We observed that patients with PCM, before treatment, had higher copper and lower iron levels than those of the control group. However, while the iron levels increased after one month of treatment, the levels of copper did not decrease after six months of treatment. A reduction in inflammatory activity, indicated by the normalization of C-reactive protein, ferritin, albumin, and globulin levels, was observed during treatment. However, no correlation was observed between the serum levels of minerals and inflammatory activity or thyroid function in this study. In conclusion, our results showed increased copper serum levels at patient admission, corresponding to Th1 immunosuppression. In addition, iron serum levels were decreased simultaneously with intense fungal activity observed in the active disease. Both parameters reached normal values after the introduction of specific treatment.

Key words: trace elements; serum proteins; South American Blastomycosis; thyroid.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação clínica da paracoccidiodomicose.....	36
Tabela 2. Valores de referência dos minerais e função da tireoide (T3 e T4 Livre).....	39
Tabela 3. Características demográficas e clínicas de 14 pacientes com paracoccidiodomicose (grupo PCM) e de 10 controles saudáveis (grupo controle).....	41
Tabela 4- Ingestão média de energia, carboidratos, proteínas, gorduras totais, fibras totais, ferro, magnésio e zinco em pacientes de 14 pacientes com paracoccidiodomicose e 10 controle saudáveis na admissão.....	42
Tabela 5. Níveis séricos de minerais (Ferro, Magnésio, Zinco e Cobre), proteínas séricas (hemoglobina, ferritina, albumina e globulina) e hormônios tireoideanos (Hormônio estimulador da tireoide-TSH, triiodotironina-T3 e tiroxina -T4 livre) de 14 pacientes com paracoccidiodomicose (grupo PCM) à admissão e 10 indivíduos saudáveis (grupo controle).....	43
Tabela 6. Níveis séricos de minerais (Ferro, Magnésio, Zinco e Cobre), proteínas séricas (hemoglobina, ferritina, albumina e globulina) e hormônios tireoideanos (Hormônio estimulador da tireoide-TSH, triiodotironina-T3 e tiroxina -T4 livre) e do índice de massa corpórea (IMC) de 14 pacientes com paracoccidiodomicose (grupo PCM) na admissão e durante o tratamento.....	44
Tabela 7. Correlação entre níveis séricos de minerais (Ferro, Magnésio, Zinco e Cobre), proteínas séricas (hemoglobina, ferritina, albumina e globulina), hormônios tireoideanos (Hormônio estimulador da tireoide-TSH, triiodotironina-T3 e tiroxina -T4 livre) e índice de massa corpórea (IMC) em 14 pacientes com paracoccidiodomicose (grupo PCM) à admissão (A) e em 10 indivíduos saudáveis (grupo controle) (B).....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição Geográfica e endemicidade da paracoccidioidomicose no mundo, 2017.	19
Figura 2. Distribuição geográfica das espécies filogenéticas de <i>P. brasilienses</i> no Brasil.	20
Figura 3. <i>P. brasilienses</i> , forma leveduriforme com múltiplos brotamentos	21
Figura 4. População de risco para adquirir a infecção por <i>Paracoccidioides spp.</i>	22
Figura 5. Diagrama de fluxo da seleção dos participantes e do desenho do estudo.	40

LISTA DE ABREVIACÕES

ACD	Anemia de doença crônica
CMX	Contrimoxazol
DIP	Doenças infecciosas e parasitárias
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
IL-1	Interleucina-1
IL-1 β	Interleucina- 1 β
IL-6	Interleucina- 6
IMC	Índice de massa corporal
IQR	Amplitude Interquartil
ITC	Itraconazol
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
NF-kB	Fator Nuclear- Kb
NO	Óxido nítrico
NRLP3	NLR family, pyrin domain containing 3
PbACO	Proteína aconitase de <i>Paracoccidioides</i> spp
PCM	Paracoccidioidomicose
PCR	Proteína C reativa
PKA	Proteína quinase A
PPAR- α	Receptor ativado por proliferadores de perioxossoma α
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TB	Tuberculose
T3	Tri-iodotironina
T4 Livre	Tiroxina livre
TNF- α	Fator necrose tumoral α
TRH	Terapia de reposição hormonal
TSH	Hormônio tireoestimulante
VADS	Vias aerodigestivas superiores
ZIP	Zrt/IRT-like protein family, Família de proteínas tipo-Zrt/IRT
ZnT	Zn transporter, Transportador de zinco

APÊNDICE

Apêndice 1- Termo de consentimento livre e esclarecido-TCLE.....	63
Apêndice 2- Termo de autorização para realização da pesquisa no laboratório de Análises clínicas-UFMS	66
Apêndice 3- Termo de autorização para realização da pesquisa no laboratório de Metabolismo mineral	68
Apêndice 4- Aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul-UFMS.....	69
Apêndice 5- Formulário da pesquisa.....	73
Apêndice 6- índice de Massa corporal, hormônios tireoidianos, níveis séricos de minerais, proteínas séricas dos 10 controles saudáveis na admissão	77

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Histórico.....	17
2.1.2 Fungos.....	17
2.1.3 Paracoccidiodomicose (PCM) e seus agentes etiológicos	17
2.1.4 Distribuição geográfica	18
2.1.5 Transmissão	21
2.1.6 Epidemiologia da paracoccidiodomicose no Brasil	23
2.1.7 Manifestações clínicas.....	24
2.1.8 Mecanismos Imunológicos	24
2.2 Micronutrientes	25
2.2.1 Cobre	25
2.2.2 Ferro.....	27
2.2.3 Magnésio.....	28
2.2.4 Zinco	29
2.3 Alterações hormonais nas doenças infecciosas	31
2.4 O Papel dos minerais em doenças infecciosas	31
3. OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo Geral.....	33
3.2 Objetivos Específicos	33
4. METODOLOGIA.....	34
4. 1 Tipos de estudo.....	34
4.2 Aspectos éticos	34
4.3 Local e período do estudo	34
4.4 Pacientes.....	34
4.4.1 Definição de caso	34
4.4.2 Critérios de inclusão e exclusão.....	34
4.4.3 Dados demográficos e clínicos.....	35
4.5 Desenho do estudo.....	36
4.6 Coletas de sangue	36
4.6.1 Cobre e zinco.	37
4.6.2 Ferro, magnésio, albumina e globulinas.	38
4.6.3 Proteína C reativa (PCR).....	38
4.6.4 Hemoglobina.	38
4.6.5 T3, T4 livre e TSH.....	38
4.7 Análise estatística	39

5. RESULTADOS.....	40
5.1 Dados demográficos e clínicos dos participantes.....	40
5. 2 Concentração das proteínas inflamatórias, hemoglobina e dos elementos traços e TSH, T3 e T4 livre em pacientes com paracoccidiodomicose e grupo controle na admissão	42
5. 3 Concentração das proteínas inflamatórias, hemoglobina e dos elementos traços e TSH, T3 e T4 livre em pacientes com paracoccidiodomicose na admissão e durante o tratamento.	43
6. DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS.....	53

1. INTRODUÇÃO

Paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica endêmica da América Latina, causada por fungos do gênero *Paracoccidioides* spp. Assim como as bactérias e os seres humanos, os fungos requerem uma adequada concentração de metais traço que atuam no funcionamento celular- respiração, replicação, transcrição, tradução e regulação da virulência (CURCIO et al., 2017; WEISS & CARVER, 2018).

Frente à necessidade de oligoelementos tanto para o hospedeiro como para o parasito, a interface parasita-hospedeiro emerge como um campo de batalha onde ambos competem pelos minerais. Os mecanismos pelos quais as células de defesa controlam a invasão de microorganismos são a redistribuição sérica dos oligoelementos essenciais zinco, cobre e ferro, e o aumento da síntese de proteínas da fase aguda, como a ceruloplasmina, durante o curso da maioria das infecções. Essas alterações são mediadas por interleucinas, tais como, interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6) (FAILLA, 2003).

Por outro lado, diversos sistemas foram desenvolvidos pelos microorganismos para sequestrar íons metálicos do hospedeiro. Os sistemas de aquisição de metal incluem importação e remoção de metais de locais extracelulares por sideróforos e aquisição de proteínas hospedeiras (BAILÃO et al., 2015; FANG et al., 2015).

Embora existam estudos que relatam a importância de minerais tais como zinco, cobre e ferro, em doenças infecciosas crônicas, não há estudos sobre o comportamento desses elementos em pacientes com PCM.

Sabe-se que *Paracoccidioides* assimila ferro e zinco para seu desenvolvimento. O zinco pode estar associado a agentes catalizadores que potencializam seus processos de divisão e diferenciação celular (De Curcio et al., 2017). Elevadas concentrações de ferro potencializam a proteína aconitase de *Paracoccidioides* spp (*pbACO*), que está envolvida em seu processo de geração de energia (CAMACHO & NIÑO-VEGA, 2017).

O acometimento da tireoide pelo *Paracoccidioides* spp é muito raro; no entanto, alterações de função, com redução de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), com níveis normais ou baixos do hormônio estimulador da tireoide (TSH) têm

sido observadas (BRANDÃO et al., 2004; KIY et al., 1988). Essas alterações caracterizam a síndrome do doente eutireoideano, que tem sido observada em outras doenças infecciosas crônicas, como a tuberculose (CHOW et al., 1995).

Os distúrbios hormonais presentes em pacientes com doenças infecciosas e parasitárias (DIP) podem ser agravados pela deficiência de nutrientes antioxidantes, uma vez que a ação hormonal está diretamente associada ao balanço oxidante/antioxidante intracelular. Os antioxidantes são indispensáveis para a defesa apropriada contra a oxidação, sendo o selênio e o zinco os principais agentes antioxidantes da tireoide (BARROSO et al., 2011).

Considerando-se que micronutrientes são importantes na interação parasita-hospedeiro e estão alterados na resposta inflamatória, questionou-se se haveria alterações sanguíneas desses elementos na PCM, doença com componente inflamatório sistêmico crônico e de tratamento prolongado. Porque não foram encontrados estudos que avaliassem o comportamento de oligoelementos na PCM no curso do tratamento, os autores se propuseram a analisar a dinâmica de micronutrientes em pacientes com PCM nos primeiros seis meses de tratamento, bem como suas relações com a atividade inflamatória e de função tireoidiana.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico

2.1.2 Fungos

Há aproximadamente 72 mil espécies de fungos catalogadas na literatura. Alguns fungos podem estabelecer associações com outros organismos vivos tais como, por exemplo, algas, insetos. No homem, muitos fungos podem provocar infecções sistêmicas, principalmente em pacientes debilitados e imunocomprometidos (COURA, 2000).

Os fungos mais associados a micoses sistêmicas são: *Coccidioides* spp, agente causador da coccidioidomicose; *Histoplasma capsulatum*, agente etiológico da histoplasmose; *Cryptococcus* spp, agente da criptococose; *Blastomyces dermatitidis*, causador da blastomicose; *Paracoccidioides* spp, agente etiológico da paracoccidioidomicose (PCM) (LAZZARINI-DE-OLIVEIRA et al., 1999).

2.1.3 Paracoccidioidomicose (PCM) e seus agentes etiológicos

A PCM é uma micose sistêmica endêmica na América Latina, que compromete principalmente os pulmões e incapacita o indivíduo ao trabalho e suas atividades de vida diária.

A PCM é causada por fungos pertencentes a ordem Moniales, família Moniliaceae, gênero *Paracoccidioides* spp (COURA, 2000).

A descoberta da doença e agente etiológico ocorreu em 1908, por Adolpho Lutz, que encontrou fungos em lesões bucais em dois pacientes com manifestações clínicas, tais como, comprometimento da mucosa oral, laringe, linfonodos, glândula salivar e traqueia. Lutz também conseguiu isolar o fungo em cultivo e demonstrar as fases micelial em cultivo e, leveduriforme em pacientes infectados, além de reproduzir a doença em cobaias. Em 1932 Almeida nomeou o fungo como *Paracoccidioides brasiliensis* (LUTZ, 1908).

Até 2009, a espécie *P. brasiliensis* era vista como a única causadora da doença. Com o avanço da tecnologia e uso de novas ferramentas moleculares foi possível identificar uma segunda espécie causadora da PCM, *Paracoccidioides lutzii*

(THEODORO et al., 2012; SILVA et al., 2016). Observou-se também que a espécie *P. brasiliensis*, trata-se na verdade de um complexo de espécies: *P. brasiliensis* (S1), *P. americana* (PS2), *P. restrepiensis* (PS3) e *P. venezuelensis* (PS4) (TURISSINI et al., 2017).

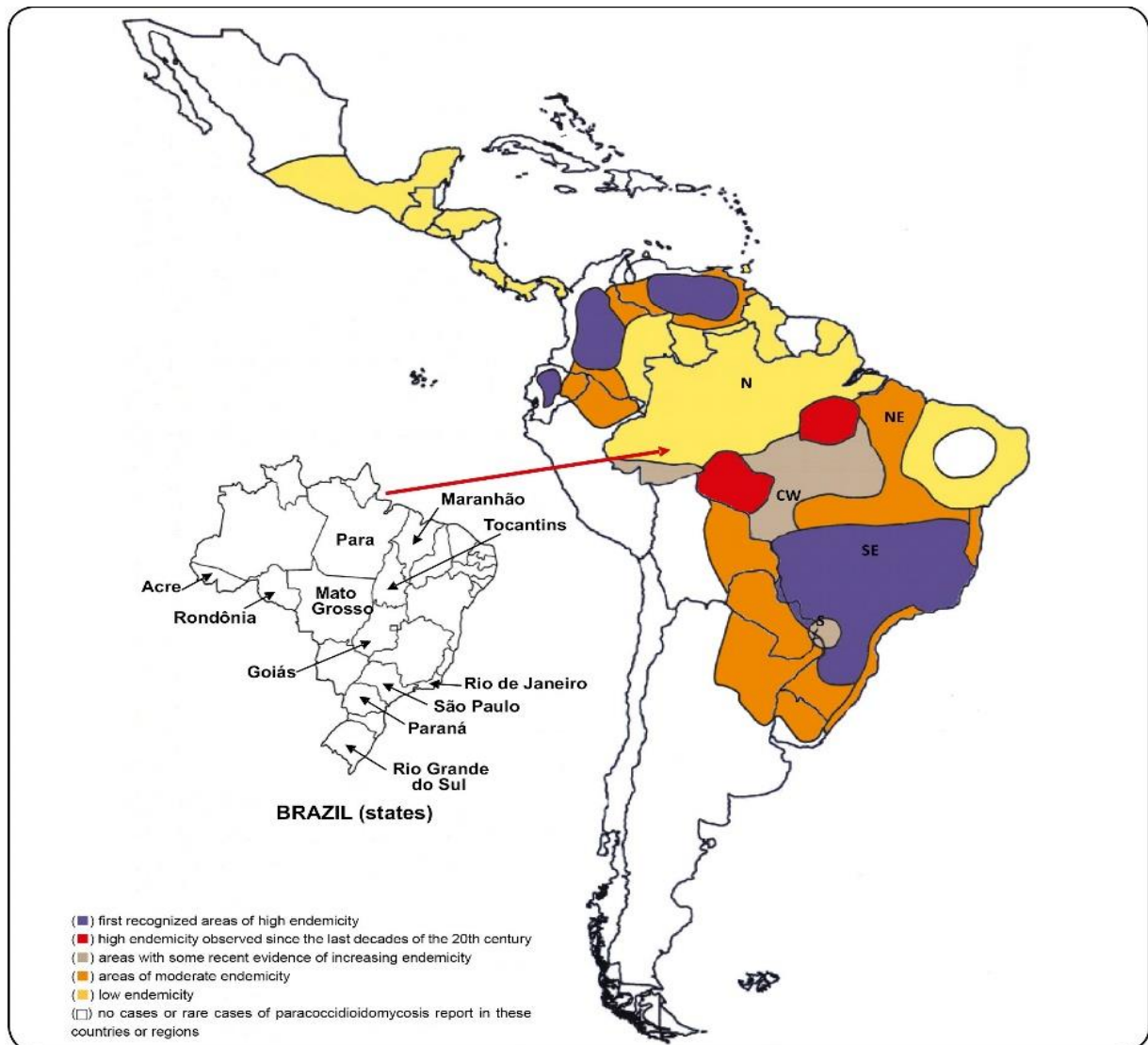
As espécies de *Paracoccidioides spp.* apresentam algumas diferenças como, por exemplo, distribuição geográfica, virulência, resposta sorológica e, também diferenças morfológicas. Os conídios de *P. lutzii* são mais alongados e de maior comprimento quando comparado com os conídios de *P. brasilienses* que apresenta estrutura mais globular e mais curta (TEIXEIRA et al., 2014).

2.1.4 Distribuição geográfica

A PCM é considerada a infecção fúngica mais importante da América Latina, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais com temperaturas entre 14 e 20°C, precipitações pluviométricas entre 800 e 2000 mm e umidade do ar alta. A estimativa para sua incidência esta entre 1 e 3: 100.000 habitantes de áreas endêmicas na América Latina (WANKES;LONDERO, 1994).

A área endêmica se estende do México à Argentina. O Brasil é o país com maior número de casos, sendo a região Sul, Centro-Oeste e Sudeste, as mais acometidas (MARTINEZ, 2015) (Figura 1).

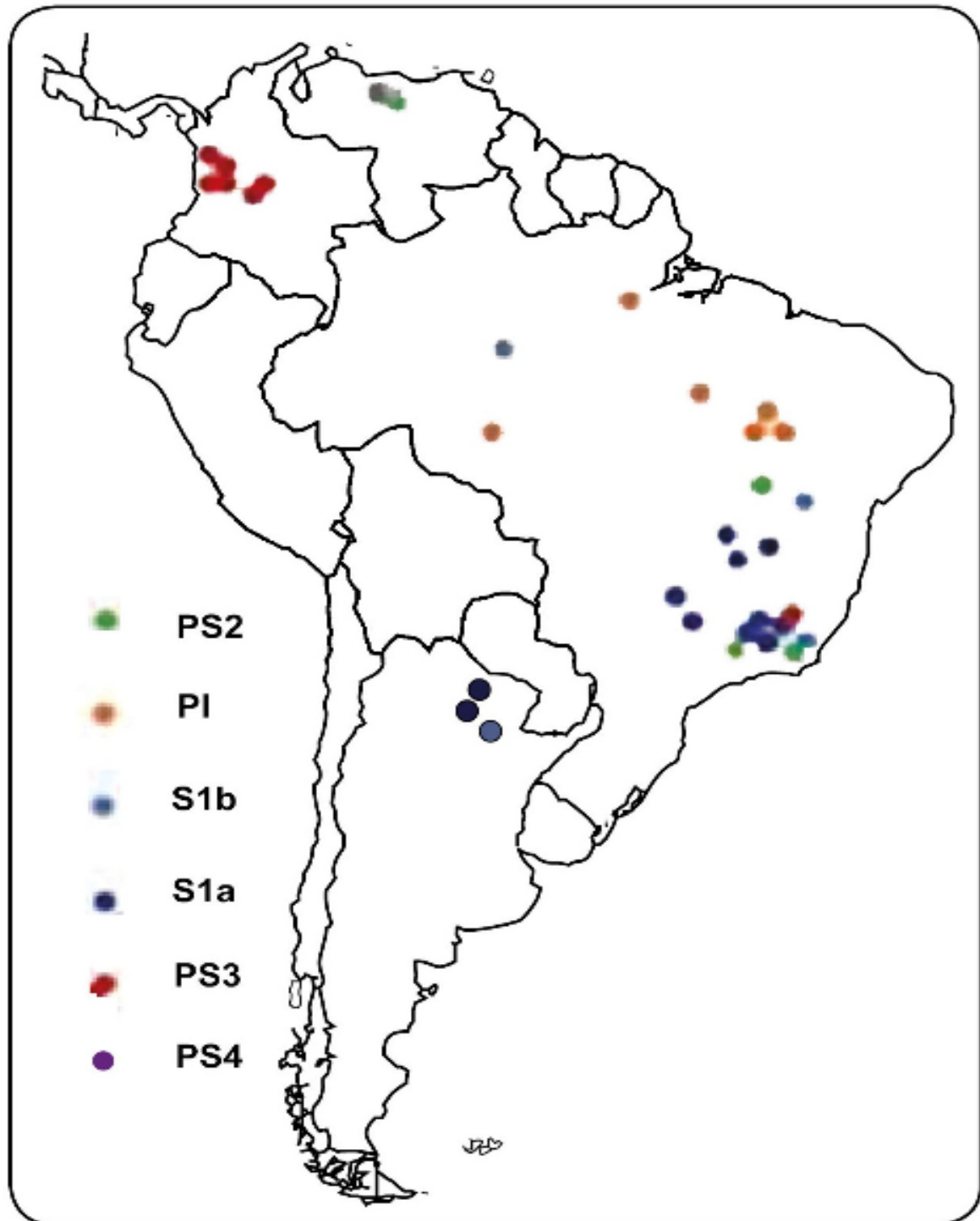
Figura 1. Distribuição Geográfica e endemidade da paracoccidioidomicose no mundo, 2017.



Fonte: Martinez, 2015

O complexo *P. brasiliensis* é formado por pelo menos quatro espécies filogenéticas catalogadas na literatura identificadas em diferentes países da América Latina. A espécie *P. brasiliensis* (S1) é mais predominantemente encontrada na América do Sul, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, Argentina e Paraguai. As espécies *P. restrepiensis* (PS3) e *P. venezuelensis* (PS4) são endêmicas na Colômbia e Venezuela, respectivamente. *P. americana* (PS2) é uma espécie frequentemente encontrada na Venezuela e no Sudeste do Brasil (Figura 2) (MUÑOZ et al., 2016).

Figura 2. Distribuição geográfica das espécies filogenéticas de *P. brasilienses* no Brasil.



Fonte: Muñoz et al, 2016

P. lutzii abriga apenas uma única espécie que é predominantemente encontrada na região Centro-Oeste e na Amazônia (TEIXEIRA et al., 2014).

2.1.5 Transmissão

Paracoccidioides spp. é um fungo com dimorfismo térmico, importante característica para o mecanismo de virulência e patogenicidade (STURME et al., 2011).

Na natureza, esses microrganismos se desenvolvem como estruturas filamentosas e produzem propágulos infectantes denominados de conídios, à uma temperatura inferior a 28°C. Quando inalados, em tecidos vivos a 35-37°C os propágulos dão origem a formas leveduriformes do fungo, que constituirão sua forma parasitária nos tecidos do hospedeiro (Figura 3).

Figura 3. *P. brasilienses*, forma leveduriforme com múltiplos brotamentos

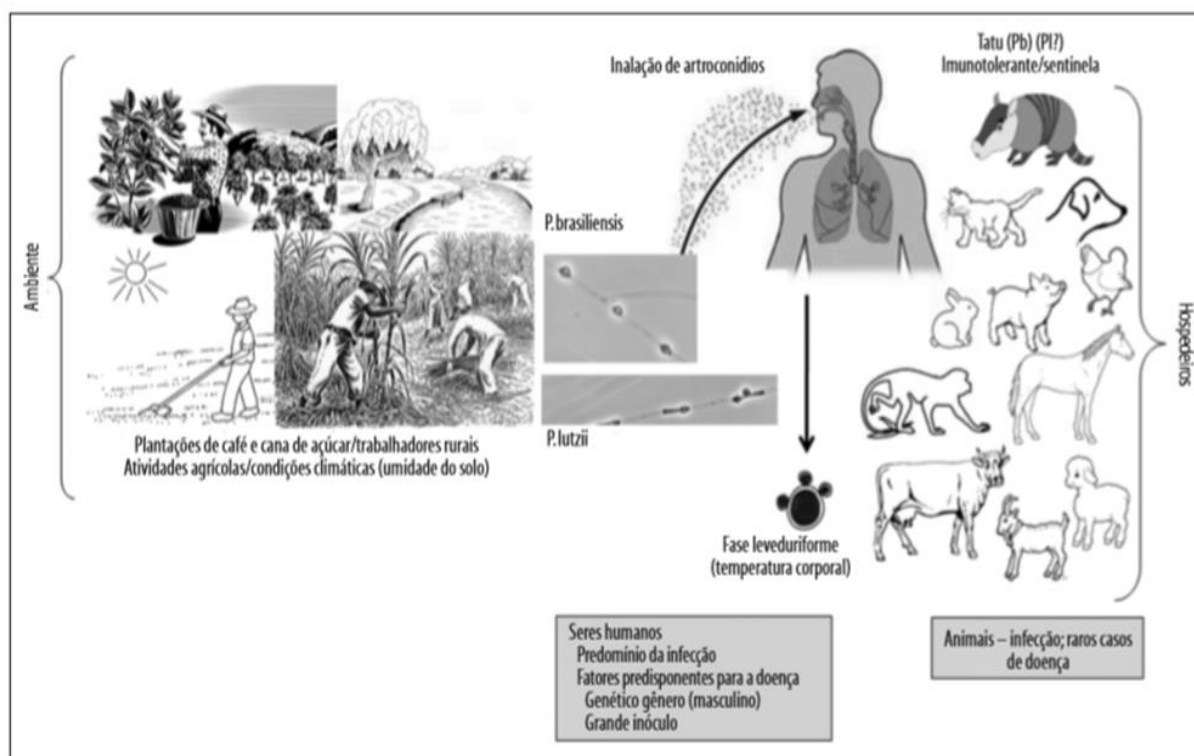


Fonte: Fortes et al., 2011

A infecção paracoccidioidica é contraída pela via inalatória, os conídios atingem unidades bronquíolo-alveolares, onde ocorre sua transformação em leveduras e passam a ser multiplicar por brotamento múltiplo. A seguir, a inflamação provocada pela multiplicação do patógeno estimula a migração de células do sistema imunológico, que agem formando um granuloma epitelióide (FRANCO et al., 2000).

A infecção é adquirida nas primeiras duas décadas de vida, por volta dos 10 a 20 anos de idade. Os trabalhadores rurais que, por sua atividade, permanecem mais tempo em contato com a terra são os mais acometidos. O manejo do solo contaminado com o fungo, como atividades agrícolas, preparo de solo, práticas de jardinagens, estão entre os fatores de risco para contrair a infecção. No Brasil, as áreas com aberturas de novas fronteiras, derrubada de florestas e produção de café são as regiões que mais colaboram com a taxa de incidência da doença (Figura 4) (GÓES et al., 2014).

Figura 4. População de risco para adquirir a infecção por *Paracoccidioides* spp.



Fonte: Mendes e Bagagli

Estima-se que 10 a 50% dos habitantes de zonas endêmicas são expostos ao agente da PCM, mas somente uma pequena parcela desenvolve alguma manifestação clínica da doença.

2.1.6 Epidemiologia da paracoccidioidomicose no Brasil

A PCM não é uma doença de notificação compulsória no Brasil. Desta forma, os cálculos sobre prevalência e incidência são feitos com base aos inquéritos epidemiológicos e série de casos. No Brasil, entre os períodos de 1980 a 1995, o ministério da saúde registrou 3.181 óbitos pela PCM, taxa de mortalidade de 1,45 casos por milhão de habitantes (COUTINHO et al., 2002).

Cerca de 80% dos casos da doença são registrados, no Brasil, os estados mais atingidos são: São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e Rondônia. A incidência anual varia de 0,71 casos a 3,70 casos por 100 mil habitantes, em algumas regiões próximas das bordas da Amazônia legal, a incidência registrada é mais alta, regiões como Rondônia e Maranhão, a ocorrência é 10,8 casos/100.000 habitantes/ano e 9,4 casos por 100.000 habitantes/ano, respectivamente (MATOS et al., 2012; Shikanai-Yasuda et al., 2017).

Entre 1980 a 1995 a PCM era a oitava maior causa de mortalidade entre as doenças infecciosas (COUTINHO et al., 2002). No cenário das DIP a taxa de mortalidade da PCM era maior que as registradas por leishmaniose, e a mais alta entre as micoses sistêmicas. De 1998 a 2006, 13.683 pacientes foram hospitalizados com micoses sistêmicas, a PCM foi responsável pelo maior número de internações (49%), as regiões mais atingidas foram Norte e Centro-Oeste (COUTINHO et al., 2015).

Em Mato Grosso do Sul, um trabalho realizado por Paniago e colaboradores no hospital universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, revisando prontuários entre o período de 1980 a 1999, identificaram 422 casos de PCM. A média de idade foi de 43,4 anos e a proporção homem: mulher foi de 10:1, quase metade (45%) dos doentes era trabalhador rural no momento do diagnóstico e 84,6% apresentavam a forma crônica (tipo adulto). O trabalho mostrou que a doença é um problema de saúde pública no Estado (PANIAGO et al., 2003). Posteriormente, Fabris et al. (2014), realizaram um estudo avaliando o comportamento da PCM entre os anos de 1980 a 2009 de 595 pacientes atendidos no mesmo hospital. Os autores observaram uma redução do percentual de mulheres, de pacientes do grupo de 20 a 39 anos, assim como de casos com a forma aguda/subaguda e um aumento de casos de coinfeção com Aids da primeira para segunda década.

2.1.7 Manifestações clínicas

A PCM pode se apresentar sob três principais formas clínicas: aguda ou subaguda, crônica, residual ou sequela (MENDES et al., 2017).

Forma aguda ou subaguda: esta forma, também chamada de juvenil, representa 20 a 25% dos casos de PCM, acomete principalmente crianças, adolescentes e adultos jovens, caracteriza-se por apresentar instalação rápida em geral consequência da disseminação hematogênica da PCM. Nesta forma clínica, observa-se, normalmente, o comprometimento do baço, fígado, nódulos linfáticos e medula óssea. As manifestações pulmonares são menos frequentes e lesões de mucosas das vias aéreas superiores e digestivas são raras (COURA, 2000; PANIAGO et al., 2003; JÚNIOR et al., 2016; MENDES et al., 2017).

Forma crônica: A forma crônica ou do adulto é a forma mais comum, ocorre em 75 a 80% dos casos de PCM, indivíduos com idade superior a 30 anos do sexo masculino são os mais acometidos por esta forma, apresentam lesões pulmonares com comprometimento de outros órgãos, tais como mucosa das vias aero-digestivas superiores e pele. Outros órgãos como adrenais, sistema nervoso central e ossos também podem ser afetados (MARSIGLIA E PINTO, 1966; PANIAGO et al., 2007; CORREA-DE-CASTRO et al., 2012).

Forma residual ou sequela: Sequelas cicatriciais resultante de lesões ativas pregressa como, por exemplo, enfisema pulmonar, estenose da laringe ou traqueia, icterícia obstrutiva, pelo comprometimento de linfonodos do hilo hepático e à síndrome de má absorção de proteínas e gorduras (MONTENEGRO, 1986).

2.1.8 Mecanismos Imunológicos

Segundo Coelho-Castelo et al., 2009, o surgimento de uma infecção, em um hospedeiro susceptível, ocorre por vários mecanismos, sendo os mais comumente responsáveis: o modo de interação do parasito com o sistema imunológico do hospedeiro e a resposta do organismo frente ao agente agressor.

O sistema imunológico compreende a via principal de resposta do organismo humano frente à exposição a antígenos exógenos e endógenos e se constitui no principal impedimento para a ocorrência de infecções disseminadas, habitualmente associadas com alto índice de mortalidade. É formada por uma série de células e

moléculas distribuídas por todo organismo. A defesa contra microrganismos consiste em dois tipos de reações: Imunidade inata e adaptativa (COELHO-CASTELO et al., 2009).

A primeira linha de defesa envolve ativação da imunidade inata, que serve como um alerta para o sistema imune e permite uma resposta ativa contra o patógeno, até que a ativação da resposta imune adaptativa esteja pronta para atuar (MACHADO et al., 2004; COELHO-CASTELO et al., 2009).

Em contraste, as deficiências imunológicas, sejam da imunidade inata ou da imunidade adaptativa, são fortemente associadas com aumento de susceptibilidade a infecções (MACHADO et al., 2004).

Em humanos, este fungo invade células fagocíticas como mecanismo de escape para se multiplicarem e desenvolverem. Porém, a penetração do parasito ativa o sistema imune que os destroem por meio da produção de óxido nítrico (NO) e de outros componentes secretados por essas células. Adicionalmente, há participação de IFN- γ , aumentando a função de neutrófilos e macrófagos (FRANCO, 1987; MACHADO et al., 2004; COELHO-CASTELO et al., 2009).

Micoses recorrentes e que ocasionalmente desenvolvem formas graves e profundas são frequentemente observadas em pacientes que apresentam neutropenia ou que tenham deficiência da imunidade inata e adaptativa (MACHADO et al., 2004; COELHO-CASTELO et al., 2009).

2.2 Micronutrientes

2.2.1 Cobre

O cobre é um metal de transição com massa atômica de 63.54 Da. e número atômico 29. Descrito pela primeira vez 1816, por Bucholz, ao constatar sua presença nos tecidos vegetais e animais. Posteriormente, Hart et al. (1928), Josephts (1931) e Lewis (1931) evidenciaram sua importância na fisiologia animal e humana (AMANCIO, 2011).

Na literatura médica, o elemento é reconhecido como um nutriente essencial, havendo a necessidade de recebê-lo por meio dos alimentos. A distribuição de cobre nos alimentos vai desde elemento- traço, como por exemplo, encontrado no leite e produtos lácteos até altas concentrações, como, por exemplo, as quantidades encontradas em: leguminosas, nozes, carnes e frutos do mar (AMANCIO, 2011).

No Brasil, a média de ingestão diária de cobre de adulto é de 1,07 mg/dia (1,22 a 2,28 mg/dia) entre adultos jovens (NUNES et al., 2010; COZZOLINO;COMINETTI, 2013). Deste total, apenas 55% a 75% são absorvidos principalmente no duodeno, por um carregador saturável, dependente de energia. Durante seu transporte e absorção no enterócitos, o cobre compete com outros íons metálicos bivalentes, que favorecem ou inibem sua absorção (LINDER E HAZEGH-AZAM, 1996).

Após a absorção no duodeno, o cobre é transportado ligado à albumina e a transcupreína. A maior parte deste elemento é captada pelo fígado através do sistema porta e, posteriormente incorporada a uma glicoproteína com atividade enzimática chamada ceruloplasmina e liberado na corrente sanguínea. A média concentração de plasmática de cobre, derivado de um estudo global é de 0,8 a 1,2 mg/L (GOULLÉ et al., 2005).

Estima-se que 50% do cobre ingerido é excretado nas fezes. A bile é a principal via de excreção de cobre, remanescentes da descamação de células intestinais; fluidos pancreáticos e intestinais ainda do cobre dietético não absorvido (STERN et al., 2007).

O cobre desempenha papel importante na maturação dos tecidos linfóides. Participa como co-fator nas reações de fosforilação oxidativa, inativação dos radicais, coagulação sanguínea, metabolismo de ferro e síntese de catecolaminas. Estudos desmonstram que a deficiência deste elemento pode afetar negativamente a proliferação de células T e, conseqüentemente, a resposta celular (MACÊDO et al., 2010).

Nas doenças infecciosas, o cobre exerce atividade antimicrobiana. Uma estratégia de defesa imunológica do hospedeiro é aumentar os níveis de cobre sérico durante a infecção (SRINIVAS et al., 1988). O aumento de cobre no domínio intracelular dos patógenos é tóxico. A síntese de cobre para controle do patógeno é feita no fagossoma de células imunológicas, os macrófagos (WEISS E CARVER, 2017).

2.2.2 Ferro

Ferro é um metal de transição de número atômico 26 da tabela periódica, quarto elemento mais abundante na Terra. Desde 1860, é considerado um nutriente essencial para os seres humanos, por participar de numerosos processos metabólicos (GERMANO;CANNIATTI-BRAZACA, 2002). As necessidades de ferro podem ser supridas com uma alimentação rica em alimentos de origem animal e vegetal. Uma alimentação mista, pode conter de 15 a 20 mg de ferro. Nos alimentos de origem animal como, por exemplo, as carnes vermelhas, aves e peixes cerca de 30% a 70% do ferro é ferro heme. O ferro heme é absorvido cerca de 2 a 3 vezes mais facilmente que o ferro não-heme encontrado em alimentos de origem vegetal (ZIMMERMANN;HURRELL, 2007; FISBERG et al., 2008).

A absorção de ferro ocorre principalmente no duodeno, que desempenha um papel crítico na homeostase do ferro no organismo. A absorção completa do ferro é feita em três estágios: Inicialmente, com a captação do ferro pela borda em escova do enterócito, em seguida pelo transporte intracelular e finalmente com a transferência para o plasma. O ferro não heme depende de um meio ácido para reduzir Fe^{+3} em Fe^{+2} e ser aproveitado pelo organismo (BOCCIO et al., 2003).

O ferro absorvido é acoplado a proteínas. Há quatro classes de proteínas que contem ferro: 1- proteínas que contem ferro como, por exemplo, hemoglobina, mioglobina e citocromos; 2- enzimas contendo ferro e enxofre, como flavoproteínas e heme flavoproteínas; 3- proteínas de transporte e armazenamento como, por exemplo, transferrina, ferritina, lactoferrina e hemossiderina; 4- enzimas ativadas (contendo enxofre, enzimas não heme) (MUÑOZ et al., 2009).

O conteúdo total de ferro no organismo é de aproximadamente de 3,5g. A maior parte de ferro (65% ou 2.300mg) é destinada para os eritrócitos, alocado na hemoglobina. Outra quantia deste mineral (10% ou 350mg) está presente nas fibras musculares (mioglobina) e outros tecidos (em enzimas e citocromos). O restante do metal pode ser encontrado no fígado (200mg), em macrófagos do sistema reticulo endotelial (500mg) e na medula óssea (150mg) (MUÑOZ et al., 2009).

No organismo, o ferro está envolvido no transporte de oxigênio e dióxido de carbono, essencial à respiração celular aeróbica e na formação de numerosas enzimas celulares, importantes para o funcionamento do sistema imunológico (BRICKS, 1994). Estudos sugerem que o ferro é o mineral mais capacitado para

catalisar as reações de oxidação de biomoléculas, evitando o estresse oxidativo (FERREIRA;MATSUBARA, 1997). No entanto, o ferro também é essencial para o desenvolvimento e multiplicação de microorganismos. A maioria das bactérias, exceto os lactobacilos, e a maior parte dos germes patogênicos requer este mineral em quantidades substanciais para se multiplicar no organismo do hospedeiro. Os parasitos do gênero *Paracoccidoides spp.* também necessitam de ferro para potencializar a proteína *Paracoccidoides ssp.(pbAOC)* envolvida no processo de geração de energia para o patógeno (CAMACHO;NIÑO-VEGA, 2017). A necessidade de ferro tanto para o hospedeiro como para o parasito, emerge como um campo de batalha no qual os sistemas de importação de ferro dos microrganismos são colocados contra os sistemas de retirada férrea e sequestro pelos macrófagos, em que ambos competem pelo ferro na interface “parasito-hospedeiro” (BRICKS, 1994; MALAFAIA, 2008).

2.2.3 Magnésio

Magnésio é um metal alcalino- terroso com massa atômica 24,305 e número atômico 12, oitavo elemento mais comum na crosta terrestre (GRÖBER et al., 2015). A denominação Magnésio vem de Magnésia, distrito da Tessalia, região da Grécia, que possuía muitas pedras compostas por carbonos ou óxidos de magnésio ou manganês, vistas pelos alquimistas como componentes da pedra filosofal. A Descoberta e o reconhecimento do elemento químico ocorreram em 1755, por Joseph Black. A partir do século XVIII, o mineral foi também reconhecido como um nutriente importante para os organismos vivos, por suas virtudes curativas e propriedades laxativas e antiácidas (MAGUIRE;COWAN, 2002).

Nos vertebrados, o magnésio é o quarto elemento mais abundante, cerca de 28 g do mineral está presente no corpo de um indivíduo com peso corporal de aproximadamente 59kg. A maior parte deste mineral está concentrado nos ossos (65%) e músculos (34). No plasma, a concentração média de magnésio é cerca de 1,7 e 2,4 mg/dL, 60% encontram- se na forma livre, biologicamente ativa, enquanto o restante circula ligado a proteínas, como a albumina (33%), ou complexados a anions (7%), como fosfato, bicarbonato e citrato (1 a 2%) (SEVERO et al., 2015).

No Brasil, os grupos de alimentos ricos em magnésio são os cereais e derivados, frutas e hortaliças, nozes e sementes. Em menores concentrações

encontramos no leite e carnes (SHILS;SHIKE, 2006). Na água de torneira e as águas minerais as concentrações variam de 0,1 a 18mg/L (REBELO & ARAÚJO, 1999). A recomendação dietética de ingestão (RDA) do mineral para homens e mulheres é de: 400-420 mg/d e 310-320 mg/d, respectivamente (COZZOLINO;COMINETTI, 2013). A absorção e a homeostase do mineral é mantida pelo intestino delgado, ossos e rins. O magnésio capturado pela borda em escova é absorvido na porção entre o duodeno distal e o íleo (via paracelular e transcelular) e armazenado nos ossos, e o seu excesso é excretado pelos rins. Do total de magnésio consumido diariamente, Apenas 24-76% é absorvido no intestino e o resto é eliminado nas fezes (JAHNEN-DECHENT & KETTELER, 2012; SEVERO et al., 2015).

Como dito anteriormente, o magnésio é mineral que participa de várias funções biológicas. Atua como cofator para mais de 100 reações enzimáticas, entre as quais, estão às reações responsáveis pelas diversas atividades metabólicas como na resposta imune inata e adquirida, além do papel importante na maturação dos tecidos e células linfoides. Ativa as enzimas que participam do metabolismo de carboidratos. Participa da síntese proteica como cofator nos ribossomos. Auxilia as reações de óxido-redução e controle ácido-base no organismo. Também exerce um papel estrutural, estabilizando as estruturas de cadeias de DNA e RNA (MACÊDO et al., 2010; MONTEIRO & VANNUCCHI, 2010).

2.2.4 Zinco

Zinco é um metal de transição de número atômico 30 encontrado na natureza, presente em ambientes naturais como na água e no solo. Em 1869, a pesquisadora Jules Raulin, comprovou sua existência também nos sistemas biológicos, através de estudos do crescimento de *Aspergillus níger*. Em 1934, Todd e colaboradores identificaram sua importância na nutrição animal através de pesquisas envolvendo ratos de laboratório apresentando sintomas devido à deficiência do mineral (MARET, 2013).

O zinco é um dos nutrientes mais importantes no metabolismo humano e presente em todos os tecidos, fluidos e secreções. A concentração total de zinco no corpo humano pode variar de 2 a 4 g, com uma concentração plasmática de 12 a 16µm. Cerca de 80% estão distribuídos em ossos, músculos, fígado e pele. No

sangue corresponde a menos de 0,5% do zinco corporal total, dos quais 80% estão presentes nos eritrócitos e 16% no plasma (GAMMOH & RINK, 2017).

Em adultos, as recomendações diárias de ingestão (RDA) do zinco são de 11mg/dia para homens e 8 mg/dia para mulheres. Os valores 5 mg/dia e 10 mg/dia são para crianças até 1 ano e acima de 10 anos, respectivamente (COZZOLINO;COMINETTI, 2013; FERNANDES CRUZ & FREIRE SOARES, 2011).

As principais fontes alimentares de zinco são as carnes (bovinas, aves, peixes), leite e seus derivados, frutos do mar, cereais de grãos integrais, gérmen de trigo, feijões, nozes, amêndoas, castanhas e semente de abóbora (MAFRA & COZZOLINO, 2004)

A absorção de zinco ocorre principalmente no intestino delgado, pelos enterócitos. As proteínas carreadoras responsáveis pela homeostase intracelular de zinco são reunidas em duas famílias: Zrt- e Irt-likeprotein (ZIP) e a transportadora de zinco (ZnT). As proteínas da família ZIP são responsáveis por captar e transportar o zinco da borda em escova do enterócito para o citoplasma. As proteínas transportadoras da família ZnT zinco são responsáveis por carregar o elemento do enterócito para o fígado através da circulação portal (KREBS, 2000). No sangue, o zinco circula ligado principalmente a albumina. Depois de captado pelas células hepáticas, o mineral é distribuído para diferentes órgãos e no fígado, utilizado na síntese de proteínas (WALKER et al., 2005).

A essencialidade do nutriente está relacionada à sua participação no sistema imunológico, na divisão celular, no desenvolvimento reprodutivo, no restabelecimento da pele e ferimentos e na constituição de mais de 300 enzimas (COMINETTI & COZZOLINO, 2009). A importância do zinco na modulação do sistema imunológico frente às infecções é conhecida mundialmente. Sabe-se que este elemento participa como cofator em diversas reações do organismo, na regulação gênica dos linfócitos e resposta imune não específica como neutrófilos e células natural Killer (BRICKS, 1994; SHANKAR & PRASAD, 1998; RICHARD *et al.*, 2006). Em um estudo realizado em Campo Grande- MS com 29 pacientes do setor pediátrico de um hospital universitário encontraram um número expressivo de crianças portadoras de leishmaniose visceral com deficiência de zinco ao final do tratamento (20,6%) (CARBONE et al., 2018). O efeito da suplementação com zinco tem se mostrado benéfica em crianças com quadro de diarreia e infecções respiratórias, reduzindo a morbi-mortalidade. No entanto, a avaliação deste

micronutriente nas doenças infecto-parasitárias é escassa nos adultos (SHANKAR et al., 2000; RICHARD et al., 2006). Sua deficiência tem sido relacionada com a redução da atividade do hormônio tímico, alterando a defesa do hospedeiro (SRINIVAS et al., 1988; FRAKER, 2005).

2.3 Alterações hormonais nas doenças infecciosas

Diversas doenças infecciosas e parasitárias podem afetar a função tireoidiana e provocar variadas manifestações clínicas. Entre os agentes patogênicos responsáveis pela disfunção tireodéica estão: *Pneumocystis jirovecii*, *cytomegalovirus*, *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporidia*. O agente etiológico da PCM (*Paracoccidioides brasiliensis*) possui tropismo para vários órgãos, em particular as glândulas endócrinas, como adrenal e tireoide (MORREALE DE ESCOBAR et al., 1986; KIY et al., 1988; MATARAZZO et al., 1994; FUNDARO et al., 1998; CHIARELLI et al., 1999).

As alterações hormonais comumente encontradas em pacientes com PCM caracterizam a síndrome do doente eutiroideano, situação em que se reduzem os níveis T3 e os níveis de TSH e T4 livre (L) permanecem em níveis normais ou baixos (WARTOFSKY; BURMAN, 1982).

Para alguns pesquisadores, os distúrbios hormonais presentes em pacientes portadores de DIPs podem ser agravados pela deficiência de nutrientes antioxidantes, uma vez que a ação hormonal está diretamente associada com o balanço oxidante/antioxidante intracelular. Os antioxidantes obtidos na dieta são indispensáveis para a defesa apropriada contra a oxidação possuindo um papel importante na manutenção da saúde impedindo os efeitos prejudiciais dos radicais livres, sendo o selênio e o zinco mencionados na literatura como os principais agentes antioxidantes da tireoide (BARROSO et al., 2011).

2.4 O Papel dos minerais em doenças infecciosas

Em humanos, bactérias, fungos e vírus a concentração dos minerais intracelular são importantes para funcionamento adequado das reações metabólicas, especialmente, as reações enzimáticas (FAILLA, 2003; CHATURVEDI et al., 2004).

A necessidade destes oligoelementos tanto para o hospedeiro como para o parasito, emerge como um campo de batalha, em que ambos competem pelos minerais podendo modificar a homeostase sérica dos oligoelementos durante o curso da infecção (SRINIVAS et al., 1988). Vários mecanismos são adotados pelos patógenos para contornar a imunidade nutricional gerado pelo hospedeiro a fim de limitar a aquisição dos íons metálicos (WEISS & CARVER, 2017).

A redistribuição sérica dos oligoelementos provocadas pelas células de defesa durante a infecção aguda ou doença ainda não é bem estudada e é geralmente avaliada apenas para íons metálicos isolados (BEISEL, 1976).

Sabe-se que o processo de envelhecimento pode alterar a produção de subpopulações celulares, nos padrões de secreção de citocinas, na tolerância imunológica, entre outras funções por condições nutricionais inadequadas, níveis exagerados de estresse, doenças e outros fatores, os quais vão alterando a anatomia e funcionalidade do sistema imunitário contribuindo com maior incidência de doença infecciosa (TONET & NÓBREGA, 2008).

O conhecimento sobre as modulações de tais vias, hospedeiras e patógenas, pode contribuir para a criação de estratégias médicas que visam controlar o acesso dos patógenos aos metais e diminuir a suscetibilidade à infecção (WEISS & CARVER, 2017).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a dinâmica das concentrações plasmáticas de zinco, cobre, ferro, magnésio e função tiroideia em pacientes com paracoccidioidomicose antes e durante o tratamento clínico.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o estado nutricional e o consumo alimentar dos pacientes antes e durante o tratamento;
- Analisar a dinâmica das concentrações plasmáticas do zinco, ferro, cobre e magnésio;
- Avaliar a função tiroideia, T3 e T4L;
- Correlacionar as concentrações plasmáticas dos elementos com as proteínas séricas e os hormônios da tireoide.

4. METODOLOGIA

4. 1 Tipos de estudo

Trata-se de um estudo observacional, prospectivo envolvendo pacientes com PCM no município de Campo Grande- MS no período de fevereiro de 2016 e março de 2017.

4.2 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEP – UFMS) sob número 1.345.541. Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

4.3 Local e período do estudo

O estudo foi realizado em pacientes admitidos ao Ambulatório de Micoses Sistêmicas da Unidade de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário “Maria Aparecida Pedrossian” (UDIP-HUMAP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

4.4 Pacientes

4.4.1 Definição de caso

Foi considerado caso de PCM, pacientes com manifestações clínicas em cuja secreção, fluido corporal ou material de lesão for observada a presença de elementos fúngicos sugestivos de *Paracoccidioides* spp em exame micológico direto ou exame histopatológico, assim como seu isolamento em cultivo de qualquer material biológico.

4.4.2 Critérios de inclusão e exclusão

Foram convidados a participar do estudo todos os pacientes sem tratamento para PCM atendidos no local e período do estudo e foram alocados os casos que atendiam aos critérios definidos a seguir.

Critérios de inclusão: ter idade menor que 60 anos, pela imunossupressão ser mais comum na faixa etária dos idosos, de qualquer sexo, ter PCM (forma crônica ou aguda) em atividade e sem qualquer tratamento antes da admissão ao serviço.

Critérios de exclusão: ter como comorbidade, outra doença de origem neoplásica, inflamatória ou crônica, exceto DPOC, e, não estar em uso de medicamentos imunossupressores.

4.4.3 Dados demográficos e clínicos

Foi utilizado um formulário elaborado para o estudo, com dados demográficos, clínicos e avaliação nutricional. Os dados foram registrados pelo mesmo pesquisador durante a admissão e ao longo do tratamento do paciente no Serviço.

Sexo, idade e cidade de procedência foram os dados demográficos coletados para o estudo. O consumo alimentar foi registrado pelo método recordatório de 24 horas. As tabelas Pinheiro et al (2008) e Philippi (2016) foram utilizadas para quantificar o consumo dos nutrientes e energia. Considerou-se a Recommended Dietary Allowance (RDA), Estimated Average Requirement (EAR) ou Adequate Intake (AI) como valores de referencia (PADOVANI, 2006). Valores de cobre não foram apresentados nas duas tabelas de composição de alimentos.

Os dados clínicos avaliados foram peso antes de adoecer, peso na admissão e no seguimento, estatura, índice de massa corporal (IMC), forma clínica, gravidade, órgãos ou sistema comprometidos e antifúngico usado.

Foram adotados valores normais de IMC de 18,5 a 24,9 Kg/m² (OMS, 1995).

A gravidade e forma clínica da doença foram classificadas segundo os critérios de Mendes et al. colaboradores (2017) (tabela, 1).

Os pacientes foram tratados com itraconazol ou com a associação sulfametoxazol – trimetoprim, também denominada cotrimoxazol (CMX), seguindo as recomendações do Consenso Brasileiro de Paracoccidioidomicose (SHIKANAI-YASUDA et al., 2006). O itraconazol (ITC) foi introduzido no final da década de 1980 e mostrou-se 100 vezes mais ativo *in vitro* contra *P. brasiliensis* que o ketoconazole (BORGERS & VAN DE VEM, 1987; MENDES et al., 2017). A eficácia da combinação trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol, CMX) foi demonstrada por Barbosa e Vasconcelos, em 1973 e, tornou-se amplamente utilizada no tratamento da PCM.

Tabela 1. Classificação clínica da paracoccidioidomicose

Forma clínica	Gravidade
1. Infecção paracoccidioidica	
2. Paracoccidioidomicose (doença)	
2.1 Aguda/subaguda (Juvenil)	Moderada
	Grave
2.2 Crônica (do adulto)	Leve
	Moderada
	Grave
3. Residual ou sequelas	-

Fonte: Mendes et al., 2017

4.5 Desenho do estudo

Os pacientes foram submetidos à avaliação de níveis séricos ou plasmáticos de cobre, zinco, ferro, magnésio, hemoglobina, ferritina, albumina, globulinas, TSH, T4 L e T3 na admissão do paciente, e no primeiro, segundo, quarto e sexto mês de tratamento conforme os trabalhos anteriores de Tuberculose, nos quais as mudanças nos níveis séricos dos minerais foram observadas entre a terceira semana, segundo e sexto mês de tratamento (KOCYIGIT, 1998; CIFTCI et al., 2003; POURFALLAH et al., 2011). Este grupo de pacientes foi dividido em dois sub-grupos: 13 pacientes com a forma crônica (PCM-FC) e 1 paciente com a forma aguda-subaguda (PCM-FAS) (MENDES et al., 2017).

O grupo controle foi constituído por 10 indivíduos saudáveis admitidos no hospital universitário, sem história prévia das doenças acima citadas, também do sexo masculino, procedentes do mesmo Estado de residência dos pacientes. Eles foram submetidos à avaliação dos níveis séricos ou plasmáticos dos elementos acima citados em apenas um momento e aos testes sorológicos para doenças infecciosas, tais como, HIV, HBV, HCV.

4.6 Coletas de sangue

As amostras de sangue dos grupos para as dosagens séricas de cobre e zinco foram obtidas pela punção venosa em tubos de polipropileno a vácuo, siliconizado, com tampa de borracha, sem anticoagulante e próprio para coleta de metais.

As amostras de sangue para os exames laboratoriais: ferro, magnésio, albumina e globulinas, PCR, T3, T4 livre e TSH foram também obtidas pela punção venosa em tubos de coleta a vácuo para sorologia com gel separador.

Para o hemograma (dosagem de hemoglobina) as amostras de sangue foram obtidas pela punção venosa utilizando frasco a vácuo com EDTA.

As amostras de sangue para sorologia e hemograma foram encaminhadas para o laboratório de análises clínicas do hospital universitário e foram mantidas sob-refrigeração (2 e 8°C) até 48 horas. Para a quantificação de cobre e zinco sérico as amostras foram encaminhadas para o laboratório de metabolismo de mineral da UFMS e congeladas em um ultrafreezer -70°C para posterior determinação dos elementos.

4.6.1 Cobre e zinco.

Cobre e zinco foram analisados no Laboratório de Metabolismo de Mineral da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Para as quantificações, as amostras foram submetidas previamente à digestão em um forno de microondas, para eliminar a matéria orgânica. Alíquotas de 0,5 mL foram digeridas usando 1,00 mL de HNO₃ (65% Sigma-Aldrich), 1,00 mL de H₂O (18 MΩ cm, Milli-Q®, Millipore) e 0,50 mL de H₂O₂ (30% m m⁻¹ Merck) em microondas forno (Speedwave® four, Berghof Germany), equipado com rotor de 12 posições. As amostras foram digeridas a 200 ° C por 40 min (ULBRECHT et al. 2019).

Os elementos foram dosados usando um espectrômetro de emissão óptica de plasma indutivamente acoplado (ICP OES Thermo Scientific iCAP 6300). Todas as determinações de Cu e Zn pelo ICP OES foram realizadas com vista de observação axial do plasma, com potência de radiofrequência de 1250 W, fluxo de amostra 0,45 L min⁻¹, fluxo de gás de plasma 12 L min⁻¹, tempo de integração 15 s, tempo de estabilização 20 s e pressão de nebulização 20 psi. O método de calibração externa foi monitorado a 324,7 nm para cobre e 213,9 nm para leitura de zinco.

As curvas de calibração apresentaram coeficiente linear de 0,9999 e os limites de detecção e quantificação foram respectivamente 0,0003 e 0,0008 para Cu e 0,0001 e 0,0004mgL⁻¹ para Zn.

Os valores considerados normais pelo fabricante foram de 0,8 a 1,2 mg/L para o cobre e 0,7 a 1,2 mg/L para o zinco (tabela 2).

4.6.2 Ferro, magnésio, albumina e globulinas.

Os elementos ferro e magnésio, bem como as proteínas albumina e globulinas foram dosados no soro pelo método colorimétrico.

Os valores considerados normais pelo fabricante foram: ferro de 61 a 157 mcg/dL, magnésio de 1,27 a 2,6 mg/dL, albumina de 3,5 a 5,5g/dL e globulinas de 1,8 a 4,4 g/dL (tabela 2).

4.6.3 Proteína C reativa (PCR).

Os níveis séricos de PCR de alta sensibilidade foram medidos pelo método imunoturbidimétrico. Os valores considerados normais pelo fabricante foram de 0 até 5,0mg/L (tabela 2).

4.6.4 Hemoglobina.

A concentração sanguínea de hemoglobina foi avaliada pelo equipamento de contagem de células automatizada Sysmex XE2100 e medidos em unidades. Os valores considerados normais pelo fabricante foram de 13,5 a 17g/dL (tabela 2).

4.6.5 T3, T4 livre e TSH

As determinações das concentrações séricas de T3, T4 livre e TSH foram realizadas por método de eletroquimioluminescência.

Segundo o fabricante, os valores normais de TSH estão entre 0,27 e 4,2 ng/mL, para T4 livre de 0,93 a 1,7 ng/mL e para T3 0,8 a 2,0 ng/mL (tabela 2).

Tabela 2. Valores de referência dos minerais e função da tireoide (T3 e T4 Livre).

Minerais	valores de referência
Cobre	0,8 a 1,2mg/L
Zinco	0,7 a 1,2mg/L
Ferro	61 a 157mcg /dL
Ferritina	30 a 400ng /mL
Magnésio	1,27 a 2,6mg/dL
Albumina	3,5 a 5,5g/dL
Globulinas	1,8 a 4,4g/dL
PCR	0 até 5,0mg/L
Hemoglobina	13,5 a 17g/dL
TSH	0,27 e 4,2ng/mL
T4 livre	0,93 a 1,7ng/mL
T3	0,8 a 2,0ng/mL

4.7 Análise estatística

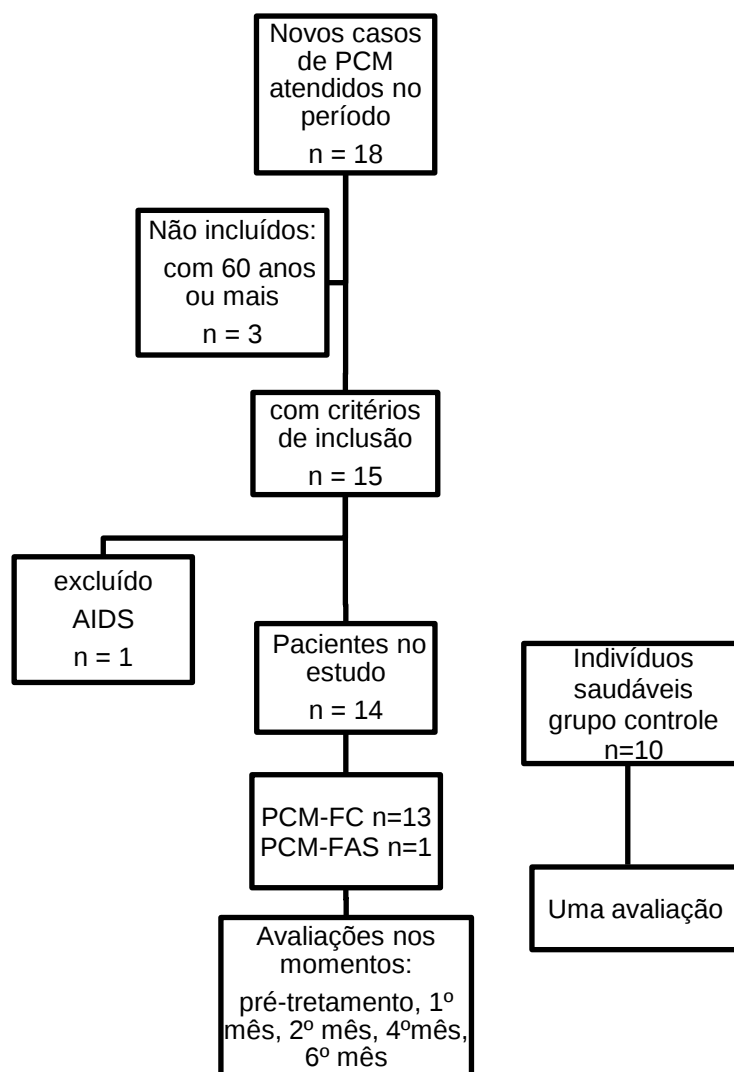
A comparação de variáveis categóricas entre grupos foi feita pelo teste exato de Fisher, e entre proporções em um grupo o teste de comparação entre proporções. Para comparar médias de variáveis numéricas dos diferentes momentos dos pacientes foi usada a análise de medidas repetidas, para comparar mediana de variáveis numéricas dos diferentes momentos dos pacientes foi usado o teste de Friedman. Para comparar a mediana entre grupo controle e o grupo com PCM o teste aplicado foi de Mann Whitney. As correlações entre variáveis foram analisadas pelo teste de correlação de Pearson. Um valor de p menor ou igual a 0,05 foi utilizado para definir diferenças estatísticas.

Para a realização dos testes estatísticos utilizou-se o programa SPSS.

5. RESULTADOS

Como mostrado na figura 5, dezoito casos novos de PCM foram admitidos no Serviço entre fevereiro de 2016 e março de 2017.

Figura 5. Diagrama de fluxo da seleção dos participantes e do desenho do estudo.



PCM-FC: forma crônica da PCM; PCM-FAS: forma aguda-subaguda da PCM

5.1 Dados demográficos e clínicos dos participantes

As características demográficas e clínicas dos participantes estão representadas na tabela 3. Os grupos PCM e controle não diferiram quanto a faixa etária e sexo, mas sim quanto ao município de procedência, como revela a tabela 3. À admissão, 71,4 % dos pacientes referiram emagrecimento maior do que 10% de

seu peso corporal (tabela 3). A maioria dos doentes tinha a forma crônica de gravidade moderada, com acometimento de pulmões e vias aero-digestivas superiores (tabela 3).

Tabela 3- Características demográficas e clínicas de 14 pacientes com paracoccidioomicose (grupo PCM) e de 10 controles saudáveis (grupo controle)

Características	Grupo PCM	Grupo Controle	p- valor
	n=14 n (%) ou Md (IQR)	n=10 n (%) ou Md (IQR)	
Idade (anos)	49,0 (48-56)	42,5 (31-53)	0,308*
Sexo masculino	14 (100)	10 (100)	1,00*
Procedência			0,02*
Campo Grande	7 (50,0)	10 (100)	
Outros	7 (50,0)	0 (0)	
IMC à admissão	21,0 (19,0-23,0)	27,5 (22,1-28,3)	0,001*
Perda de peso de mais do que 10% (antes do tratamento-admissão)	10 (71,4)	...	
Redução do peso entre o início dos sintomas e a admissão (%)	14 (11-19)	...	
Forma clínica/gravidade			
Crônica leve	2 (14,3)	...	
Crônica moderada	8 (57,1)	...	
Crônica grave	3 (21,4)	...	
Aguda/Subaguda grave	1 (7,2)	...	
Órgãos acometidos [#]			
Pulmões	12 (85,7)	...	
VADS	11 (78,6)	...	
Pele	8 (57,1)	...	
Linfonodos	5 (35,7)	...	
Adrenais	3 (21,4)	...	
Sistema Nervoso Central	1 (7,1)	...	
Antifúngico			p>0,05**
Itraconazol	9 (64,3)	...	
CMX	5 (35,7)	...	

IQR- intervalo interquartil, IMC- índice de massa corpórea, VADS- vias aerodigestivas superiores, CMX- Cotrimoxazol.

* Mann Whitney U test na comparação das variáveis numéricas e Fisher para comparação das variáveis categóricas.

** Comparação entre proporções dos compostos antifúngicos utilizados.

[#] Um paciente podia apresentar mais de um órgão acometido.

Neste estudo, houve a preocupação de analisar o valor nutricional das dietas a partir de uma análise quantitativa da alimentação, em relação à energia e alguns nutrientes como proteínas, carboidratos, lipídeos, fibras além dos minerais investigados neste estudo, cobre, ferro, magnésio e zinco (Tabela 4). Não foi observada diferença estatisticamente significativa quanto à ingestão de nutrientes em relação ao grupo controle. Frente às recomendações, tanto os pacientes quanto o grupo controle apresentaram consumo de magnésio, cobre, zinco e fibras inferior à ingestão recomendada.

Tabela 4- Ingestão média de energia, carboidratos, proteínas, gorduras totais, fibras totais, ferro, magnésio e zinco em pacientes de 14 pacientes com paracoccidiodomicose e 10 controle saudáveis na admissão

Variáveis	Grupo PCM N=14	Grupo controle N=10	VR	p- valor
	Md (IQR)	Md (IQR)		
Energia (Kcal)	1632,33 (681,18)	1888,47 (775,49)	ND	0,208*
Carboidratos (g)	208,59 (134,46)	230,02 (126,45)	130	0,395*
Proteínas (g)	74,30 (38,52)	91,72 (34,20)	56	0,495*
Gorduras totais (g)	58,18 (29,30)	64,19 (27,83)	ND	0,136*
Fibras totais (g)	13,05 (15,89)	15,54 (8,57)	38	0,93*
Cobre (mg)	0,67 (1,04)	0,57 (0,44)	0,9	0,75*
Ferro (mg)	15,11 (9,49)	15,07 (7,19)	8	0,704*
Magnésio (mg)	192,41 (146,09)	195,02 (106,07)	420	0,748*
Zinco (mg)	9,13 (9,47)	9,98 (7,06)	11	0,841*

IQR- intervalo interquartil

* Mann Whitney U test na comparação das variáveis numéricas

5. 2 Concentração das proteínas inflamatórias, hemoglobina e dos elementos traços e TSH, T3 e T4 livre em pacientes com paracoccidiodomicose e grupo controle na admissão

O grupo de pacientes com PCM apresentou, antes do tratamento, níveis mais elevados de cobre, PCR e globulinas; e níveis mais baixos de ferro, hemoglobina e albumina que o grupo controle. Os níveis médios de zinco foram baixos em ambos os grupos (tabela 5).

Tabela 5- Níveis séricos de minerais (Ferro, Magnésio, Zinco e Cobre), proteínas séricas (hemoglobina, ferritina, albumina e globulina) e hormônios tireoideanos (Hormônio estimulador da tireoide-TSH, triiodotironina-T3 e tiroxina -T4 livre) de 14 pacientes com paracoccidioidomicose (grupo PCM) à admissão e 10 indivíduos saudáveis (grupo controle).

Variáveis	Grupo PCM (n=14)	Grupo Controle (n=10)	Valor de	
	Média (DP) ou median [IQR]	Média (DP) ou median [IQR]	referência	p-Valor
Magnésio (mg/dL)	1,87 (0,32)	2,09 (0,12)	1,27-2,6	0,07
Zinco (mg/L)	0,24 (0,32)	0,55 (0,38)	0,7-1,2	0,20
Cobre (mg/L)	1,16 (0,40)	0,58 (0,17)	0,8-1,2	<0,001
Ferro (mcg/dL)	52,3 (25,97)	116,29 (34,08)	61-157	<0,001
Hemoglobina (g/dL)	13,16 (2,80)	15,84 (0,73)	13,5-17	0,01
Ferritina (ng/mL)	511,88 (357,43)	264,08 (183,93)	30-400	0,09
Albumina (g/dL)	3,98 (0,80)	4,74 (0,15)	3,5-5,5	0,01
Globulina (g/dL)	3,56 (0,66)	2,58 (0,88)	1,8-4,4	0,007
PCR (mg/L)	40,59[12,5-64,8]	0,97[0,76-2,39]	0,0-5,0	<0,001*
TSH (ng/mL)	2,69 (1,85)	2,23 (1,58)	0,27-4,2	0,54
T4 livre (ng/mL)	1,23 (0,22)	1,31 (0,27)	0,93-1,7	0,46
T3 (ng/mL)	1,12 (0,31)	1,32 (0,18)	0,8-2,0	0,13

Teste de *t* de student para comparação de médias e teste de Mann-Whitney* para comparação de medianas.

5. 3 Concentração das proteínas inflamatórias, hemoglobina e dos elementos traços e TSH, T3 e T4 livre em pacientes com paracoccidioidomicose na admissão e durante o tratamento.

Foi possível demonstrar alterações durante o tratamento de algumas variáveis estudadas (tabela 6). Observou-se elevação do IMC no primeiro e segundo mês, mantendo-se então, estável ao longo do tratamento. A albumina se elevou no primeiro mês e manteve-se estável. Ferritina e PCR reduziram já no primeiro mês de tratamento, enquanto nota-se redução das globulinas após o segundo mês (tabela 6).

Dos oligoelementos, o único que sofreu alteração durante os primeiros 6 meses de tratamento foi o ferro, que após um mês elevou-se, alcançando níveis médios normais. Magnésio, zinco e cobre permaneceram sem alterações significativas no transcorrer dos primeiros 6 meses de tratamento (tabela 6).

Os níveis médios de TSH, T4livre e T3 estavam normais à admissão e não se modificaram significativamente com o tratamento (tabela 6). À admissão, um dos 14

pacientes apresentava níveis baixos T3 com TSH alto, que era o paciente com forma aguda-subaguda grave.

Tabela 6- Níveis séricos de minerais (Ferro, Magnésio, Zinco e Cobre), proteínas séricas (hemoglobina, ferritina, albumina e globulina) e hormônios tireoideanos (Hormônio estimulador da tireoide-TSH, triiodotironina-T3 e tiroxina -T4 livre) e do índice de massa corpórea (IMC) de 14 pacientes com paracoccidiodomicose (grupo PCM) na admissão e durante o tratamento.

Variáveis	Acompanhamento						
	Média (DP) ou Mediana [IRQ]						
	Admissão	1º mês	2º mês	4º mês	6º mês	V.R	P
Magnésio (mg/dL)	1,87 (0,32)	2,33(1,24)	1,91 (0,28)	1,99 (0,24)	2,00 (0,19)	1,27-2,6	0,30
Zinco (mg/L)	0,31 (0,33)	0,75 (0,37)	0,64 (0,29)	0,69 (0,33)	0,61 (0,32)	0,7-1,2	0,09
Cobre (mg/L)	1,16 (0,40)	0,99 (0,21)	0,96 (0,27)	0,92 (0,20)	0,85 (0,23)	0,8-1,2	0,08
Ferro (mcg/dL)	52,3 (26,0) ^a	80,2 (23,4) ^b	92,3 (28,0) ^b	85,1 (22,5) ^b	82,5 (21,5) ^b	61-157	<0,001
Hemoglob (g/dL)	13,2 (3,1) ^a	13,8 (1,8) ^{ab}	14,4 (1,6) ^{bc}	15,0 (1,6) ^c	15,2 (1,6) ^c	13,5-17	<0,001
Ferritina (ng/mL)	511,9 (357,4) ^a	391,3 (275,5) ^b	313,5 (236,4) ^{bc}	309,6(247,3) ^{bc}	279,3(165,4) ^c	30-400	<0,001
Albumina (g/dL)	4,0 (0,8) ^a	4,3 (0,4) ^b	4,4 (0,2) ^b	4,6 (0,3) ^b	4,5 (0,4) ^b	3,5-5,5	0,01
Globulinas (g/dL)	3,6 (0,7) ^a	3,3 (0,6) ^{ab}	3,2 (0,5) ^b	2,7 (0,5) ^c	2,7 (0,4) ^c	1,8-4,4	<0,001
PCR (mg/L)	40,1[8,6-58,4] ^a	4,8 [3,7-10,8] ^b	5,1 [2,4-8,0] ^b	3,2 [1,4-6,2] ^b	2,7 [1,2-6,1] ^b	0,0-5,0	0,02 ^{**}
IMC (kg/m²)	21,2 (3,7) ^a	22,1 (3,6) ^b	23,0 (4,0) ^c	22,9(3,9) ^c	22,6 (3,8) ^c	18,5-24,9	<0,001
TSH (ng/mL)	2,7 (1,9)	2,3 (1,2)	3,0 (2,0)	3,2 (2,0)	2,4 (1,1)	0,27-4,2	0,66
T4 livre (ng/mL)	1,2 (0,2)	1,1 (0,2)	1,1 (0,2)	1,1 (0,2)	1,2 (0,2)	0,93-1,7	0,24
T3 (ng/mL)	1,1 (0,3)	1,5 (0,8)	1,2 (0,1)	1,2 (0,3)	1,7 (1,3)	0,8-2,0	0,25

Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si ($p>0,05$) e valores seguidos de letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p\leq 0,05$) A letra "a" sinaliza o valor menor.

Valor de p foram determinados por análise de medidas repetidas, exceto na variável PCR a qual usou-se teste de Friedman^{**}

V.R- Valor de referência

Entre os pacientes, a única correlação observada foi entre os níveis séricos ou plasmáticos de cobre e magnésio que se revelou direta. No grupo controle, observaram-se correlações diretas entre os níveis de magnésio e T3, Cobre e Zinco, e tendência à correlação direta entre IMC e T4L ($p=0,058$), como revela a tabela 7.

Tabela 7. Correlação entre níveis séricos de minerais (Ferro, Magnésio, Zinco e Cobre), proteínas séricas (hemoglobina, ferritina, albumina e globulina), hormônios tireoideanos (Hormônio estimulador da tireoide-TSH, triiodotironina-T3 e tiroxina -T4 livre) e índice de massa corpórea (IMC) em 14 pacientes com paracoccidioidomicose (grupo PCM) à admissão (A) e em 10 indivíduos saudáveis (grupo controle) (B).

A		Grupo PCM							
		IMC (kg/m ²)	TSH (ng/mL)	T4L (ng/mL)	T3 (ng/mL)	Cu (mg/L)	Zn (mg/L)	Mg (mg/dL)	Fe (mcg/dL)
TSH	R	-0,365							
	P	0,200							
T4L	R	0,272	-0,219						
	P	0,347	0,452						
T3	R	0,388	-0,372	0,029					
	P	0,212	0,234	0,928					
Cu	R	-0,266	0,327	0,474	0,064				
	P	0,358	0,254	0,087	0,843				
Zn	R	-0,008	0,088	0,288	-0,065	0,348			
	P	0,978	0,765	0,318	0,841	0,223			
Mg	R	0,031	0,180	0,435	0,347	0,735	0,403		
	P	0,916	0,538	0,120	0,270	0,003	0,153		
Fe	R	-0,253	-0,186	0,223	0,373	-0,100	0,111	0,180	
	P	0,384	0,523	0,443	0,232	0,735	0,705	0,538	
PCR	R	-0,457	0,240	0,070	-0,498	0,374	0,106	0,289	-0,411
	P	0,135	0,452	0,828	0,119	0,231	0,743	0,363	0,184
B		Grupo Controle							
		IMC (kg/m ²)	TSH (ng/mL)	T4L (ng/mL)	T3 (ng/mL)	Cu (mg/L)	Zn (mg/L)	Mg (mg/dL)	Fe (mcg/dL)
TSH	R	0,440							
	P	0,236							
T4L	R	-0,651	-0,499						
	P	0,058	0,171						
T3	R	0,497	0,089	0,208					
	P	0,256	0,850	0,655					
Cu	R	0,060	-0,253	0,234	0,635				
	P	0,869	0,511	0,545	0,126				
Zn	R	-0,514	-0,065	0,549	0,524	0,621			
	P	0,128	0,868	0,125	0,228	0,055			
Mg	R	-0,150	0,074	0,231	0,748	0,002	0,838		
	P	0,679	0,850	0,551	0,050	0,007	0,002		
Fe	R	0,177	0,528	0,082	-0,100	-0,023	0,073	-0,087	
	P	0,625	0,144	0,834	0,832	0,950	0,842	0,811	
PCR	R	0,045	-0,261	-0,519	-0,275	0,130	-0,133	-0,163	0,117
	P	0,924	0,571	0,233	0,551	0,781	0,777	0,727	0,802

6. DISCUSSÃO

O estado nutricional é um dos principais moduladores da resposta imune e tanto a deficiência de macronutrientes como de micronutrientes pode contribuir para uma resposta ineficaz do hospedeiro (WERNECK et al., 2011). O presente estudo revelou melhora significativa do estado nutricional com a instituição do tratamento. Embora o IMC dos pacientes à admissão pudesse ser considerado normal, 71,4% deles apresentaram emagrecimento de mais de 10% do peso corpóreo, que pode estar associado à ação de hormônios, citocinas que diminuem o apetite e ao catabolismo elevado observado no estado infeccioso. Emagrecimento superior a 10% do peso corpóreo habitual constitui um dos critérios para considerar grave a PCM (MENDES et al., 2017). A avaliação do consumo alimentar revelou ingesta adequada de macronutrientes, porém uma ingesta insuficiente dos minerais zinco e magnésio. Uma reposição de nutrientes à dieta pode contribuir para a restauração da função imune e, desta forma, com a resistência a infecção paracoccidióidica.

Baixos níveis de albumina e elevados níveis de globulinas são relatados em estudos envolvendo pacientes com PCM (FIORILLO et al., 1972; HILDEBRAND et al., 1987). Marquez et al. (2009) analisando as proteínas séricas de 30 pacientes com PCM crônica e 12 pacientes com a forma aguda encontraram altas concentrações de globulinas em ambos os grupos. O presente estudo revelou valores altos de globulinas nos pacientes no momento da admissão que diminuíram progressivamente após o início do tratamento até o quarto mês, confirmando estudos prévios (SANTOS NOGUEIRA et al., 2006; MARQUEZ et al., 2009). Níveis mais baixos de albumina também foram identificados nos pacientes à admissão, e se observou aumento no primeiro mês de tratamento. A redução da albumina sérica pode ser explicada pelo consumo causado pelo estado infeccioso e pelos desvios da linha metabólica, para incrementar a produção de outras proteínas durante o processo inflamatório (RESTREPO et al., 1978; SANTOS NOGUEIRA et al., 2006).

Mudanças nas concentrações plasmáticas da proteína C-reativa são comumente relatadas nas doenças infecciosas, especialmente na vigência de atividade inflamatória, sendo considerada um marcador de inflamação (SPROSTON & ASHWORTH, 2018). No presente estudo, os níveis de PCR revelaram-se elevados, achado semelhante ao de outros estudos realizados na Coreia e no Brasil, em pacientes com tuberculose (MORAES et al., 2014; CHOI et al., 2015). Estudos

em pacientes com tuberculose demonstraram que a PCR pode não só ajudar no diagnóstico de TB como também ser um marcador de persistência de baciloscopia positiva após um mês de tratamento (CHOI et al., 2015). No entanto, o tratamento da PCM é mais prologando que o da tuberculose, o que poderia explicar a persistência de altos níveis de PCR mesmo após seis meses de tratamento. Essas observações indicam a presença de atividade inflamatória nos pacientes do estudo, e se constitui numa variável que pode ser útil no controle de cura (MENDES et al., 2017).

De modo geral, a deficiência de micronutrientes suprime as funções da resposta imune por afetar a imunidade inata do hospedeiro, bem como desregular a polarização das respostas imunes adaptativas mediada por células T e a imunidade humoral (WINTERGERST et al., 2007). Em doenças crônicas infecciosas, como a leishmaniose tegumentar americana, observa-se que cobre, ferro, zinco e selênio participam de diversas etapas da proliferação e maturação de fagócitos, assim como na capacidade citotóxica dos mesmos e na indução da resposta imune tipo Th1, importante na proteção do hospedeiro (KOCYIGIT et al., 1998; ERICKSON et al., 2000). Além disso, estudos realizados em tuberculose, as concentrações séricas dos elementos traços podem sofrer mudanças no organismo, que são influenciadas pela dieta e fisiologia do hospedeiro ou do patógeno (CIFTCI et al. 2003; CHOI et al., 2015).

Por outro lado, à semelhança do nosso estudo, elevados níveis séricos de cobre tem sido detectados durante a fase inicial de outras doenças infecciosas crônicas em relação ao grupo controle (CIFTCI et al.; KOCYIGIT et al., 1998). Os íons de cobre são cruciais para o controle de bactérias intracelulares por otimizar o ataque oxidativo ao *M. tuberculosis* dentro dos fagolisosomos macrofágicos (LIBARDO et al., 2018). Assim, os níveis elevados poderiam indicar uma tentativa de controle da infecção paracoccidióidica. No entanto, esses íons também têm sido implicados na ativação canônica do inflamassoma NLRP3 e consequente produção da citocina pró-inflamatória IL-1 β (DEIGENDESCH et al., 2018). Elevada produção de peróxido de hidrogênio e IL-1 β por fagócitos mononucleares e aumento na expressão de NLRP3 têm sido observados em pacientes com a forma crônica da PCM antes do início do tratamento antifúngico (CALVI et al., 2003; VENTURINI et al., 2014). Assim, observa-se um desliza de abreviações como fazer balanço na resposta inflamatória dos pacientes com PCM, em que prevalece um perfil

inflamatório mais deletério que protetor, com o cobre exercendo um importante papel nesse processo.

Nesse estudo não foi observada diferença dos níveis plasmáticos de zinco entre pacientes com PCM à admissão e os controles, ambos os grupos tinham valores baixos de zinco, mas observa-se uma tendência de aumento durante o tratamento. O consumo de zinco nas dietas brasileiras é limítrofe para a grande maioria dos indivíduos e baixa para determinados grupos, como idosos e crianças (COZZOLINO, 2007; FIETZ, 2007). Neste estudo, a avaliação do consumo alimentar mostrou baixa ingesta de deste mineral em ambos os grupos. Portanto níveis baixos de zinco encontrados nos controles deste estudo pode ser relacionado à ingesta inadequada do micronutriente. Estudos realizados em pacientes com tuberculose pulmonar (POURFALLAH et al., 2011) e leishmaniose visceral (LAL et al., 2013) revelaram baixos níveis de zinco na fase ativa dessas doenças.

Durante as fases iniciais da infecção, observa-se que mecanismos da imunidade inata, incluindo quimiotaxia de neutrófilos, fagocitose e *burst* oxidativo, estão comprometidos quando há deficiência de zinco (GAMMOH & RINK, 2017). A presença do zinco no interior dos fagócitos promove o aumento da expressão dos receptores intracelulares PKA (proteína quinase A) e PPAR- α (*peroxisome proliferator-activated receptor α*), que são moduladores envolvidos em diversos processos celulares, incluindo a inflamação. O aumento desses receptores inibe a expressão do fator de transcrição NF- κ B, envolvido na produção de citocinas inflamatórias (BRIEGER et al., 2013). Consequentemente, quando há deficiência de zinco, observa-se aumento na produção das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-6, IL-1 β e MCP-1 (JAROSZ et al., 2017). Considerando-se que o comprometimento do funcional dos fagócitos e a presença marcante de inflamação sistêmica são características observadas em doenças infecciosas granulomatosas crônicas, é possível que a deficiência de zinco possa contribuir com a cronicidade dessas doenças infecciosas, incluindo a PCM.

O zinco também tem sido relacionado diretamente à morte de patógenos intracelulares. Macrófagos infectados por *Histoplasma capsulatum* privam o fungo do zinco por diminuírem a quantidade desse micronutriente no interior do fagolissoma através do sequestro do zinco pelo complexo de Golgi (VIGNESH et al., 2013). Por outro lado, o *Mycobacterium tuberculosis* é morto pelo excesso de zinco e cobre no interior de macrófagos (BOTELLA et al., 2012). Curcio et al (2017) avaliaram a

regulação de zinco em proteínas de membrana de *P. lutzii*, observando que a privação de zinco pode elevar o estresse celular e diminuir a captação de glicose para obtenção de energia para este patógeno. Logo, essas mudanças repercutem na formação da parede celular, interferindo no sucesso da infecção. Desta forma, os autores sugerem que o uso de quelantes de zinco poderia, inclusive, contribuir para o tratamento.

Os níveis de ferro sérico nos pacientes deste estudo foram menores que os do grupo controle. O ferro é um nutriente onipresente nas células vivas. Assim como os humanos, as plantas e os animais, os microorganismos, tais como, os fungos e as bactérias, requerem este mineral em quantidades substanciais para se multiplicar no hospedeiro. A necessidade deste nutriente tanto para o ser humano como para o patógeno, emerge como um campo de batalha no qual os sistemas de importação de ferro dos microorganismos são colocados contra os sistemas de sua retirada e sequestro pelos macrófagos, em que ambos competem pelo ferro na interface “parasito-hospedeiro” (BRICKS, 1994; MALAFAIA, 2008). Um dos principais mecanismos de retirada de ferro no organismo é aumentar os níveis de ceruloplasmina para oxidar o ferro e facilitar seu transporte, pela ferritina, para os diferentes tecidos criando um ambiente escasso em ferro, a fim de impedir o crescimento e expansão do patógeno. Para captação de ferro pelo microorganismo, os mecanismos são a importação de metal, aquisição de proteínas hospedeiras e remoção de metais de locais extracelulares por sideróforos, sendo, este último considerado a principal rota pela qual a maioria dos patógenos pode abstrair ferro do hospedeiro (BAILÃO et al., 2015; FANG et al., 2015; WEISS; CARVER, 2017). Todos esses mecanismos podem ser potencializados quando o patógeno se encontra em uma privação de ferro para o seu crescimento (RATLEDGE, 2007). No presente trabalho os níveis de cobre foram mais elevados no grupo PCM que os do grupo controle, achado que pode estar relacionado a maior produção de ceruloplasmina, impedindo o aproveitamento de ferro pelo parasita. Além disso, os valores de ferritina estavam também aumentados antes do tratamento. Pacientes com doenças infecciosas crônicas podem apresentar distúrbio da reutilização de ferro que se mantém sob a forma de depósitos. Este bloqueio é causado pelo aumento de IL-1 produzido por células de defesa, como neutrófilos e macrófagos. Essa entidade clínica pode ser definida como Anemia de Doença Crônica (ACD) (CASH & SEARS, 1989).

O magnésio participa de várias funções biológicas, atuando como cofator para mais de cem reações enzimáticas e na regulação da resposta imunológica do hospedeiro (MACÊDO et al., 2010). Níveis normais de magnésio foram identificados nos pacientes deste estudo. O aumento de magnésio ocorre quando existe redução dos níveis plasmáticos de zinco em pacientes com as fases aguda e crônica da leishmaniose (DEIGENDESCH et al., 2018). No entanto, esses achados não se confirmaram no presente estudo, em pacientes com PCM crônica. Em nosso estudo, observamos uma tendência de aumento de zinco durante o tratamento, mas à admissão estes valores não diferiram do grupo controle. Uma correlação positiva foi observada entre níveis de cobre e magnésio dos pacientes do estudo. Ambos os micronutrientes atuam na maturação dos tecidos e células linfoides e na diminuição do óxido nítrico (NO) dos macrófagos responsáveis pela liberação de radicais livres no organismo. Há controvérsias acerca dos benefícios do magnésio em relação à sua ação frente aos macrófagos, pois para alguns autores, os efeitos do magnésio sobre o óxido nítrico pode prejudicar a atividade microbicida. Murray et al. (1999) identificaram o óxido nítrico como um agente leishmanicida. A diminuição de zinco e o aumento do nível de magnésio em pacientes com leishmaniose parecem aumentar a suscetibilidade da infecção (LAL et al., 2013).

Os níveis de PCR podem provocar mudanças no comportamento dos micronutrientes (TOMKINS, 2003). Altas concentrações de PCR são normalmente registradas em pacientes que apresentam baixa concentração plasmática de zinco e altos níveis séricos de cobre (KASSU et al., 2006). No presente estudo não foram observadas correlações entre PCR e níveis séricos ou plasmáticos de minerais.

Diversas doenças infecciosas e parasitárias podem afetar a função tireoidiana e provocar variadas manifestações clínicas. *Paracoccidioides* spp possuem tropismo para vários órgãos, inclusive as glândulas endócrinas, tais como adrenal e, com menor frequência, tireoide (BRANDÃO et al, 2004.; MORREALE DE ESCOBAR et al., 1986; MATARAZZO et al., 1994; FUNDARO et al., 1998; CHIARELLI et al., 1999).

Em 1988, Kiy et al,(1988) avaliaram as concentrações plasmáticas basais e pós- teste do TRH dos hormônios T3 e T4 em pacientes com PCM e, detectaram níveis baixos de T3 em pacientes com a forma aguda da doença ou crônica disseminada. Brandão et al. (2004) encontraram T3 baixo em 47% dos pacientes que participaram do estudo. Em nosso estudo, não encontramos diferença de T4

livre, T3 e TSH de pacientes comparado com os controles e não se observaram alterações durante o tratamento. Entre os 14 pacientes, dois apresentaram níveis baixos de T3 e elevados de TSH, caracterizada a forma juvenil em um dos casos e a forma crônica grave da doença, respectivamente, mas não caracterizando a síndrome do doente eutiroideano.

Nosso estudo tiveram algumas limitações. Em primeiro lugar, o tamanho da amostra era pequeno. No entanto, é importante considerar que a baixa incidência de PCM (cerca de 17 novos casos por ano) (FABRIS et al 2014) dificulta a obtenção de uma grande amostra maior de novos casos que atendem aos critérios do estudo em um único centro. Esperamos que a publicação de nossos resultados contribua para estudos futuros, incluindo revisões sistemáticas da questão. Em segundo lugar, a metodologia que utilizamos no nosso trabalho não foi possível determinar os níveis de selênio. Outro aspecto a considerar é que o grupo de controle era formado por funcionários ou estudantes de faculdades de medicina e estudantes e não trabalhadores rurais. As diferentes pressões de fatores epidemiológicos entre os grupos, incluindo os nutricionais, podem influenciar os resultados. No entanto, deve-se considerar que a ingestão diária semelhante dos nutrientes analisados foi demonstrada para ambos os grupos.

7 CONCLUSÕES

- Os pacientes com PCM apresentaram uma melhora significativa do estado nutricional com a instituição do tratamento.
- Os pacientes não apresentaram diferença estatística quanto à ingestão de nutrientes em relação ao grupo controle, tanto os pacientes quanto o grupo controle apresentaram consumo de magnésio, cobre, zinco e fibras inferior à ingestão recomendada.
- Os pacientes com PCM tinham altos níveis de Cobre e baixos níveis de Ferro sérico do que o grupo controle, antes do tratamento.
- Enquanto os níveis de ferro aumentaram após um mês de tratamento, os níveis de cobre não diminuíram após seis meses de tratamento.
- Os níveis plasmáticos de zinco dos pacientes com PCM e o grupo controle eram baixos no momento da admissão. Uma tendência de aumento de zinco foi observada durante o tratamento dos pacientes com PCM.
- Os níveis de T3, T4 livre e TSH dos pacientes deste estudo eram semelhantes ao grupo controle, e não foi observada nenhuma alteração ao longo do tratamento.
- Níveis normais de magnésio foram observados nos pacientes deste estudo.
- A redução na atividade inflamatória revelada pela normalização da PCR, ferritina, albumina e globulina foi observada durante o tratamento.
- Nenhuma correlação entre minerais e atividade inflamatória ou função tireoidiana pode ser observada no estudo.
- Nossos resultados mostraram níveis séricos aumentados na admissão do paciente, correspondendo à imunossupressão Th1. Além disso, os níveis séricos de ferro diminuíram simultaneamente com a intensa atividade fúngica observada na doença ativa. Ambos os parâmetros alcançados progrediram para valores normais após a introdução de tratamento específico.

REFERÊNCIAS

- AMANCIO, O.M.S. Funções plenamente conhecidas de nutrientes: cobre. **São Paulo: ILSI Brasil**, 2011.
- BAILÃO, E.F.L., LIMA, P.D.S., SILVA-BAILÃO, M.G., BAILÃO, A.M., FERNANDES, G.D.R., KOSMAN, D.J et al. *Paracoccidioides spp.* ferrous and ferric iron assimilation pathways. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 821, 2015.
- BARBOSA, W., VASCONCELOS, W. M. P. Ação da sulfametoxazol associada ao trimetoprim na terapêutica da blastomicose sul-americana. **Revista de Patologia Tropical**, v.2, n.3, p.329-339, 1973.
- BARROSO, C.F., SANTOS, L.B., PESSOA, P.P., VIEIRA, D.K., JÚNIOR, R.M., COZZOLINO, S.M. et al. Minerais com função antioxidante e distúrbios da tireóide: avaliação do consumo alimentar em pacientes atendidos em um hospital público de Fortaleza/CE. **Nutrire**, v. 36, n. Suplemento, p. 343-343, 2011.
- BEISEL, W.R. Trace Elements in Infectious Processes. **Medical Clinics of North America**, v. 60, n. 4, p. 831-849, 1976.
- BOCCIO, J., SALGUEIRO, J., LYSIONEK, A., ZUBILLAGA, M., GOLDMAN, C., WEILL, R. et al. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 53, n. 2, p. 119-132, 2003.
- BORGERS, M., VAN DE VEN, M. Degenerative changes in fungi after itraconazole treatment. **Reviews of infectious diseases**, v. 9, n. 1, p. S33-S42, 1987.
- BOTELLA, H., STADTHAGEN, G., LUGO-VILLARINO, G., DE CHASTELLIER, C., NEYROLLES, O. Metallobiology of host–pathogen interactions: an intoxicating new insight. **Trends in microbiology**, v. 20, n. 3, p. 106-112, 2012.
- BRANDÃO, C. D. G., DO VALLE, A. C. F., COSTA, R. L. B., WANKE, B., TENDRICH, M., VAISMAN, M. **Avaliação funcional da tireóide na paracoccidioidomicose**. São Paulo:Moreira Jr. editora, 2004.
- BRICKS, L.F. Ferro e infecções: atualização. **Pediatria (São Paulo)**, v. 16, n. 1, p. 34-43, 1994.
- BRIEGER, A.; RINK, L.; HAASE, H. Differential regulation of TLR-dependent MyD88 and TRIF signaling pathways by free zinc ions. **The Journal of Immunology**, p. 1301261, 2013.
- CALVI, S.A., SOARES, A.M., PERAÇOLI, M.T.S., FRANCO, M., RUIZ JR, R.L., MARCONDES-MACHADO, J. et al. Study of bronchoalveolar lavage fluid in paracoccidioidomycosis: cytopathology and alveolar macrophage function in response to gamma interferon; comparison with blood monocytes. **Microbes and infection**, v. 5, n. 15, p. 1373-1379, 2003.

CAMACHO, E.; NIÑO-VEGA, G.A. *Paracoccidioides Spp.* Virulence Factors and Immune-Evasion Strategies. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, 2017.

CARBONE, D.C.B., ZANONI, L.Z.G., CÔNSOLO, F.Z., SANCHES, S.C., REIS, V.Q.D., MULLER, K.D.T.C. et al. Potential role of zinc in the visceromegaly regression and recovery of hematological parameters during treatment of visceral leishmaniasis in children from an endemic area. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, 2018.

CASH, J. M.; SEARS, D. A. The anemia of chronic disease: spectrum of associated diseases in a series of unselected hospitalized patients. **The American journal of medicine**, v. 87, n. 6, p. 638-644, 1989.

CHATURVEDI, U. C.; SHRIVASTAVA, R.; UPRETI, R. K. Viral infections and trace elements: A complex interaction. **Current Science**, v. 87, n. 11, p. 1536-1554, 2004.

CHIARELLI, F., VERROTTI, A., GALLI, L., BASCIANI, F., DE MARTINO, M. Endocrine dysfunction in children with HIV-1 infection. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 12, n. 1, p. 17-26, 1999.

CHOI, R., KIM, H.T., LIM, Y., KIM, M.J., KWON, O.J., JEON, K.. et al. Serum concentrations of trace elements in patients with tuberculosis and its association with treatment outcome. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5969-5981, 2015.

CHOW, C.C., MAK, T.W.L., CHAN, C.H.S., COCKRAM, C.S. Euthyroid Sick Syndrome in Pulmonary Tuberculosis before and after Treatment. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 32, n. 4, p. 385-391, 1995.

CIFTCI, T.U., CIFTCI, B., YIS, Ö., GUNEY, Y., BILGIHAN, A., OGRETENSOY, M. Changes in serum selenium, copper, zinc levels and cu/zr ratio in patients with pulmonary tuberculosis during therapy. **Biological trace element research**, v. 95, n. 1, p. 65-71, 2003.

COELHO-CASTELO, A.A., TROMBONE, A.P., ROCHA, C.D., LORENZI, J.C. Resposta imune a doenças infecciosas. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 42, n. 2, p. 127-142, 2009.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes–zinco. **ISLI Brasil**, v. 7, p. 1-19, 2009.

CORREA-DE-CASTRO, B., POMPILIO, M.A., ODASHIRO, D.N., ODASHIRO, M., ARAO-FILHO, A., PANIAGO, A.M. Unifocal bone paracoccidioidomycosis, Brazil. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 86, n. 3, p. 470-473, 2012.

COURA, J. R. **Síntese das doenças infecciosas e parasitárias**. Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2000.

COUTINHO, Z.F., SILVA, D.D., LAZÉRA, M., PETRI, V., OLIVEIRA, R.M.D., SABROZA, P.C., WANKE, B. Paracoccidioidomycosis mortality in Brazil (1980-1995). **Caderno de Saude Publica**, v. 18, n. 5, p. 1441-54, 2002.

COUTINHO, Z.F., WANKE, B., TRAVASSOS, C., OLIVEIRA, R.M., XAVIER, D.R., COIMBRA JR, C.E. Hospital morbidity due to paracoccidioidomycosis in Brazil (1998-2006). **Tropical Medicine & International Health**, v. 20, n. 5, p. 673-680, 2015.

COZZOLINO, S. M. F. Mineral deficiencies. **estudos avançados**, v. 21, n. 60, p. 119-126, 2007.

CURCIO, J.S., SILVA, M.G., SILVA BAILAO, M.G., BÃO, S.N., CASALETTI, L., BAILÃO, A.M., DE ALMEIDA SOARES, C.M. Identification of membrane proteome of *Paracoccidioides lutzii* and its regulation by zinc. **Future Sci OA**, v. 3, n. 4, p. FSO232, 2017.

DEIGENDESCH, N.; ZYCHLINSKY, A.; MEISSNER, F. Copper Regulates the Canonical NLRP3 Inflammasome. **The Journal of Immunology**, p. ji1700712, 2018.

ERICKSON, K.L.; MEDINA, E.A.; HUBBARD, N.E. Micronutrients and innate immunity. **The Journal of infectious diseases**, v. 182, n. Supplement_1, p. S5-S10, 2000.

FABRIS, L. R.; ANDRADE, Ú. V.; SANTOS, A. F. D.; MARQUES, A. P. D. C.; OLIVEIRA, S. M. D. V. L.; MENDES, R. P.; PANIAGO, A. M. M. Decreasing prevalence of the acute/subacute clinical form of paracoccidioidomycosis in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 2, p. 121-125, 2014.

FAILLA, M.L. Trace elements and host defense: recent advances and continuing challenges. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 5 Suppl 1, p. 1443S-7S, 05 2003.

FANG, Z., SAMPSON, S. L., WARREN, R. M., VAN PITTIUS, N. C. G., NEWTON-FOOT, M. Iron acquisition strategies in mycobacteria. **Tuberculosis**, v. 95, n. 2, p. 123-30, 2015.

FERNANDES CRUZ, J.B.; FREIRE SOARES, H. Uma revisão sobre o zinco. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 15, n. 1, 2011.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FIETZ, V.R. Estado nutricional, consumo de alimentos e condições socioeconômicas das famílias de assentamento rural em Mato Grosso do Sul, Brasil. 2007.

FIORILLO, A.M.; TAKAOKA, L.; FERNANDES, L.A.R. Estudo das proteínas séricas na blastomicose americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 6, n. 3, p. 117-128, 1972.

FISBERG, M., BRAGA, J., BARBOSA, T., MARTINS, F. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes Ferro. **Série de publicações ILSI**, 2008.

FORTES, M. R. P., MIOT, H. A., KUROKAWA, C. S., MARQUES, M. E. A., MARQUES, S. A. Immunology of paracoccidioidomycosis. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 86, n. 3, p. 516-524, 2011.

FRAKER, P.J. Roles for cell death in zinc deficiency. **The Journal of nutrition**, v. 135, n. 3, p. 359-362, 2005.

FRANCO, M. Host-parasite relationships in paracoccidioidomycosis. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 25, n. 1, p. 5-18, 1987.

FRANCO, M., BAGAGLI, E., SCAPOLIO, S., LACAZ, C.D.S. A critical analysis of isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from soil. **Medical mycology**, v. 38, n. 3, p. 185-191, 2000.

FUNDARO, C., OLIVIERI, A., RENDELI, C., GENOVESE, O., MARTINO, A.M., D'ARCHIVIO, M., SORCINI, M. Occurrence of anti-thyroid autoantibodies in children vertically infected with HIV-1. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 11, n. 6, p. 745-750, 1998.

GAMMOH, N.Z.; RINK, L. Zinc in Infection and Inflammation. **Nutrients**, v. 9, n. 6, p. 624, 2017.

GERMANO, R.M.D.A.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Importância do ferro em nutrição humana. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr**, v. 24, p. 85-104, 2002.

GOULLÉ, J. P., MAHIEU, L., CASTERMANT, J., NEVEU, N., BONNEAU, L., LAINÉ, G., LACROIX, C. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair: Reference values. **Forensic Science International**, v. 153, n. 1, p. 39-44, 2005.

GRÖBER, U.; SCHMIDT, J.; KISTERS, K. Magnesium in Prevention and Therapy. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 8199-8226, 2015.

GÓES, A. M. D. et al. Paracoccidioidomicose (doença de Lutz-Splendore-Almeida): etiologia, epidemiologia e patogênese. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 4, p. 58-63, 2014.

HILDEBRAND, T.M., ROSÁRIO FILHO, N.A., TELLES FILHO, F.D.Q., COSTA, O., MIASAKI, N., MIRA, J.G.S., MIYAKI, M. Paracoccidioidomicose na criança: aspectos clínicos e laboratoriais em 25 casos. **Jornal de pediatria**, v. 63, n. 2, p. 92-7, 1987.

JAHNEN-DECHENT, W.; KETTELER, M. Magnesium basics. **Clinical Kidney Journal**, v. 5, n. Suppl 1, p. i3-i14, 2012.

JAROSZ, M., OLBERT, M., WYSZOGRODZKA, G., MŁYNYEC, K., LIBROWSKI, T. Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF-κB signaling. **Inflammopharmacology**, v. 25, n. 1, p. 11-24, 2017.

JÚNIOR, E. G.-J.; MONTI, L. M.; GAETTI-JARDIM, E. C. Etiologia, epidemiologia e manifestações clínicas da paracoccidioidomicose. **Archives of Health Investigation**, v. 5, n. 2, 2016.

KASSU, A., YABUTANI, T., MAHMUD, Z.H., MOHAMMAD, A., NGUYEN, N., HUONG, B.T.M. et. al Alterations in serum levels of trace elements in tuberculosis and HIV infections. **European journal of clinical nutrition**, v. 60, n. 5, p. 580-6, 2006.

KIY, Y., MACHADO, J.M., MENDES, R.P., BARRAVIERA, B., PEREIRA, P.C.M., CURY, P.R. Paracoccidioidomycosis in the region of Botucatu (state of São Paulo, Brazil). Evaluation of serum thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3) levels and of the response to thyrotropin releasing hormone (TRH). **Mycopathologia**, v. 103, n. 1, p. 3-9, 1988.

KOCYIGIT, A., EREL, O., SEYREK, A., GUREL, M. S., AKTEPE, N., AVCI, S., VURAL, H. Effects of antimonial therapy on serum zinc, copper and iron concentrations in patients with cutaneous Leishmaniasis in Turkey. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 28, n. 1, p. 133-142, 1998.

KREBS, N.F. Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tract. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 5, p. 1374S-1377S, 2000.

LAL, C. S., KUMAR, S., RANJAN, A., RABIDAS, V. N., VERMA, N., PANDEY, K., ET. AL. Comparative analysis of serum zinc, copper, magnesium, calcium and iron level in acute and chronic patients of visceral leishmaniasis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 27, n. 2, p. 98-102, 2013

LAZZARINI-DE-OLIVEIRA, L.C.; ARANTES, A.A.; CAIUBY, M.J.M. Utilidade da investigação rotineira de infecção fúngica pela broncoscopia em pacientes infectados ou não pelo HIV em um hospital geral, referência para SIDA. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 3, p. 255-261, 1999.

LIBARDO, M.D.J., DE LA FUENTE-NUNEZ, C., ANAND, K., KRISHNAMOORTHY, G., KAISER, P., PRINGLE, S.C., ET. AL. Phagosomal Copper-Promoted Oxidative Attack on Intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. **ACS infectious diseases**, v. 4, n. 11, p. 1623-1634, 2018.

LINDER, M. C.; HAZEGH-AZAM, M. Copper biochemistry and molecular biology. **The American journal of clinical nutrition**, v. 63, n. 5, p. 797S-811S, 1996.

LUTZ, A. Uma micose pseudocócídica localizada na boca e observada no Brasil: contribuição ao conhecimento das hifoblastomicoses americanas. **Brasil Med**, v. 22, p. 121-4, 1908.

MACÊDO, É.M.C., AMORIM, M.A.F., DA SILVA, A.C.S., DE CASTRO, C.M.M. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças

com desnutrição grave. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 3, p. 329-336, 2010.

MACHADO, P.R., ARAÚJO, M.I.A., CARVALHO, L., CARVALHO, E.M.. Mecanismos de resposta imune às infecções Immune response mechanisms to infections. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 79, n. 6, p. 647-664, 2004.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana The importance of zinc in human nutrition. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 79-87, 2004.

MAGUIRE, M.; A COWAN, J. Magnesium chemistry and biochemistry. **Biometals**, v. 15, n. 3, p. 203-210, 2002.

MALAFIA, G. Captação de ferro pelos parasitos do gênero *Leishmania*. **Revista Biociências**, v. 14, n. 1, 2008.

MARET, W. Zinc Biochemistry: From a Single Zinc Enzyme to a Key Element of Life. **Advances in Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 82-91, 2013.

MARQUEZ, A.D.S., MOREIRA, A.P.V., LEONELLO, P.C., NAKANISHI, F.A., ITANO, E.N. Serum proteins and fractions, HDL-cholesterol and total IgG and IgE levels in cases of acute and chronic paracoccidioidomycosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 245-249, 2009.

MARSIGLIA, I.; PINTO, J. Adrenal cortical insufficiency associated with paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis). Report of four patients. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 26, n. 10, p. 110-1115, 1966.

MARTINEZ, R. Epidemiology of paracoccidioidomycosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 11-20, 2015.

MATARAZZO, P., PALOMBA, E., LALA, R., CIUTI, E., ALTARE, F., SANCTIS, L.D., TOVO, P.A. Growth impairment, IGF I hyposecretion and thyroid dysfunction in children with perinatal HIV-1 infection. **Acta Paediatrica**, v. 83, n. 10, p. 1029-1034, 1994.

MATOS, W.B.D., SANTOS, G.M.C.D., SILVA, V.E.B.D., GONÇALVES, E.D.G.D.R., SILVA, A.R.D. Paracoccidioidomycosis in the state of Maranhão, Brazil: geographical and clinical aspects. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 3, p. 385-389, 2012.

MENDES, R.P., DE SOUZA CAVALCANTE, R., MARQUES, S.A., MARQUES, M.E.A., VENTURINI, J., SYLVESTRE, T.F.ET.AL. Paracoccidioidomycosis: Current Perspectives from Brazil. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, p. 224-282, 2017.

MONTEIRO, T. H.; VANNUCCHI, H. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes. **International Life Sciences Institute, São Paulo**, v. 16, p. 12-13, 2010.

MONTENEGRO, M. R. G. Formas clínicas da paracoccidiodomicose. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 28, n. 3, p. 203-204, 1986.

MORAES, M.L., DE PAULA RAMALHO, D.M., DELOGO, K.N., MIRANDA, P.F.C., MESQUITA, E. D.D., NETTO, A.R. et al. Association of Serum Levels of Iron, Copper, and Zinc, and Inflammatory Markers with Bacteriological Sputum Conversion During Tuberculosis. **Treatment. Biological trace element research**, v. 160, n. 2, p. 176-184, 2014.

MORREALE DE ESCOBAR, G., PASTOR, R., OBREGON, M.J., ESCOBAR DEL REY, F. Effects of maternal thyroidectomy on rat embryonic T4 and T3 contents and development, before and after onset of fetal thyroid function. **frontiers of thyroidology. Plenum Medical**, p. 1177-1181, 1986.

MURRAY, H.W.; NATHAN, C.F. Macrophage microbicidal mechanisms in vivo: reactive nitrogen versus oxygen intermediates in the killing of intracellular visceral *Leishmania donovani*. **The Journal of experimental medicine**, v. 189, n. 4, p. 741-746, 1999.

MUÑOZ, M.; VILLAR, I.; GARCÍA-ERCE, J. A. An update on iron physiology. **World Journal of Gastroenterology : WJG**, v. 15, n. 37, p. 4617-4626, 2009.

MUÑOZ, J.F.; FARRER, R.A.; DESJARDINS, C.A.; GALLO, J.E.; SYKES, S.; SAKTHIKUMAR, S.; MISAS, E. WHISTON, E. A.; BAGAGLI, EDUARDO.; SOARES, C.M. A.; TEIXEIRA, M.M.; TAYLOR, J.W.; CLAY, O.K.; MCEWEN, J.G.; CUOMO, C.A. Genome diversity, recombination, and virulence across the major lineages of *Paracoccidioides*. **MSphere**, v.1, n.5, p. 00213-16, 2016.

NUNES, J.A., BATISTA, B.L., RODRIGUES, J.L., CALDAS, N.M., NETO, J.A., BARBOSA JR, F. A Simple Method Based on ICP-MS for Estimation of Background Levels of Arsenic, Cadmium, Copper, Manganese, Nickel, Lead, and Selenium in Blood of the Brazilian Population. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 73, n. 13-14, p. 878-887, 2010.

Organização Mundial de Saúde – OMS. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Geneva: WHO, 1995.

PADOVANI, R. M., AMAYA-FARFÁN, J., COLUGNATI, F. A. B., DOMENE, S. M. Á. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Revista de Nutrição**, v.19, n.6, p:741-760, 2006.

PANIAGO, A.M.M., AGUIAR, J.I.A., AGUIAR, E.S., CUNHA, R.V.D., PEREIRA, G.R.D.O.L., LONDERO, A.T.ET AL. Paracoccidiodomycosis: a clinical and epidemiological study of 422 cases observed in Mato Grosso do Sul .**Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. -9, 2003.

PANIAGO, A.M.M., DE OLIVEIRA, P.A., AGUIAR, E.S.A., AGUIAR, J.I.A., DA CUNHA, R.V., LEME, L. M. et.al. Neuroparacoccidiodomycosis: analysis of 13 cases observed in an endemic area in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 4, p. 414-420, 2007.

PINHEIRO, A.B.V., LACERDA, E.M.A., BENZECRY, E.H., GOMES, M.C.S., COSTA, V.M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. São Paulo: Atheneu, 2008.

PHILIPPI, S.T. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. 5 edição. São Paulo: Manole, 2016

POURFALLAH, F., JAVADIAN, S., ZAMANI, Z., SAGHIRI, R., SADEGHI, S., ZAREA, B. ET. AL. Evaluation of serum levels of essential trace elements in patients with pulmonary tuberculosis before and after treatment by age and gender. **Pakistan journal of biological sciences: PJBS**, v. 14, n. 10, p. 590-594, 2011.

RATLEDGE, C. Iron Metabolism and Infection. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 28, n. 4_suppl4, p. S515-S523, 2007.

REBELO, M. A. P.; ARAÚJO, N. C. Águas minerais de algumas fontes naturais brasileiras. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, n. Supl 3, p. 255-60, 1999.

RESTREPO, A., RESTREPO, M., DE RESTREPO, F., ARISTIZÁBAL, L.H., MONCADA, L.H., VÉLEZ, H. Immune responses in paracoccidioidomycosis: A controlled study of 16 patients before and after treatment. **Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 16, n. 2, p. 151-163, 1978.

RICHARD, S.A., ZAVALA, N., CAULFIELD, L.E., BLACK, R.E., WITZIG, R.S., SHANKAR, A.H. Zinc and iron supplementation and malaria, diarrhea, and respiratory infections in children in the Peruvian Amazon. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 75, n. 1, p. 126-132, 2006.

SANTOS NOGUEIRA, M.G., ANDRADE, G.M.Q., TONELLI, E., DINIZ, S.N., GOES, A.M., CISALPINO, P.S.. Aspectos laboratoriais evolutivos de crianças em tratamento da paracoccidioidomicose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p. 478-83, 2006.

SEVERO, J.S., MORAIS, J.B., DE FREITAS, T.E.C., CRUZ, K.J.C., DE OLIVEIRA, A.R.S., POLTRONIERI, F. et al. Aspectos metabólicos e nutricionais do magnésio. **Nutrición clínica y dietética hospitalaria**, v. 35, n. 2, p. 67-74, 2015.

SHANKAR, A.H., GENTON, B., BAISOR, M., PAINO, J., TAMJA, S., ADIGUMA, T. et.al. The influence of zinc supplementation on morbidity due to *Plasmodium falciparum*: a randomized trial in preschool children in Papua New Guinea. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 62, n. 6, p. 663-669, 2000.

SHANKAR, A. H.; PRASAD, A. S. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. **The American journal of clinical nutrition**, v. 68, n. 2, p. 447S-463S, 1998.

SHIKANAI-YASUDA, M.A., TELLES FILHO, F.D.Q., MENDES, R.P., COLOMBO, A.L., MORETTI, M. L. Guideliness in paracoccidioidomycosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, p. 297-310, 2006.

SHILS, M. E.; SHIKE, M. **Modern nutrition in health and disease**. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

SILVA, J.D.F., DE OLIVEIRA, H.C., MARCOS, C.M., ASSATO, P.A., FUSCO-ALMEIDA, A.M., MENDES-GIANNINI, M.J.S. Advances and challenges in paracoccidioidomycosis serology caused by *Paracoccidioides* species complex: an update. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 84, n. 1, p. 87-94, 2016.

SPROSTON, N.R.; ASHWORTH, J.J. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 754, 2018.

SRINIVAS, U., ABDULLA, M., ÅKESSON, B., ÖCKERMAN, P. A., BRACONIER, J. H., JEPPSSON, B. Trace element alterations in infectious diseases. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 48, n. 6, p. 495-500, 1988.

STERN, B.R., SOLIOZ, M., KREWSKI, D., AGGETT, P., AW, T.C., BAKER, S. Copper and human health: biochemistry, genetics, and strategies for modeling dose-response relationships. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 10, n. 3, p. 157-222, 2007.

STURME, M.H., PUCCIA, R., GOLDMAN, G.H., RODRIGUES, F. Molecular biology of the dimorphic fungi *Paracoccidioides* spp. **Fungal Biology Reviews**, v. 25, n. 2, p. 89-97, 2011.

TEIXEIRA, M.D.M., THEODORO, R.C., OLIVEIRA, F.F.M.D., MACHADO, G.C., HAHN, R.C., BAGAGLI, E. et.al. *Paracoccidioides lutzii* sp. nov.: biological and clinical implications. **Medical Mycology**, v. 52, n. 1, p. 19-28, 2014.

TEIXEIRA, M.M., THEODORO, R.C., NINO-VEGA, G., BAGAGLI, E., FELIPE, M.S. *Paracoccidioides* species complex: ecology, phylogeny, sexual reproduction, and virulence. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 10, p. e1004397, 2014.

THEODORO, R.C., DE MELO TEIXEIRA, M., FELIPE, M.S.S., DOS SANTOS PADUAN, K., RIBOLLA, P.M., SAN-BLAS, G. et al. Genus *Paracoccidioides*: species recognition and biogeographic aspects. **PloS one**, v. 7, n. 5, p. e37694, 2012.

TONET, A.C., T.N., O. Imunossenescência: a relação entre leucócitos, citocinas e doenças crônicas. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 11, n. 2, p. 259-273, 2008.

TOMKINS, A. Assessing Micronutrient Status in the Presence of Inflammation. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1649S-1655S, 2003.

TURISSINI, D.A., GOMEZ, O.M., TEIXEIRA, M.M., MCEWEN, J.G., MATUTE, D.R. Species boundaries in the human pathogen *Paracoccidioides*. **Fungal Genet Biol**, v. 106, p. 9-25, Sep 2017.

ULBRECHT, M.O.O.; GONÇALVES, D. A.; ZANONI, L.Z.G.; NASCIMENTO, V.A. Association Between Selenium and Malondialdehyde as an Efficient Biomarker of

Oxidative Stress in Infantile Cardiac Surgery. **Biological Trace Element Research**, v.187, p. 74–79, 2019.

VENTURINI, J., CAVALCANTE, R.S., DE ASSIS GOLIM, M., MARCHETTI, C. M., DE AZEVEDO, P. Z., AMORIM, B. C., ET. AL. Phenotypic and functional evaluations of peripheral blood monocytes from chronic-form paracoccidioidomycosis patients before and after treatment. **BMC infectious diseases**, v. 14, n. 1, p. 552, 2014.

VIGNESH, K.S., FIGUEROA, J.A.L., POROLLO, A., CARUSO, J.A., DEEPE JR, G.S. Granulocyte macrophage-colony stimulating factor induced Zn sequestration enhances macrophage superoxide and limits intracellular pathogen survival. **Immunity**, v. 39, n. 4, p. 697-710, 2013.

WALKER, C.F., KORDAS, K., STOLTZFUS, R.J., BLACK, R.E. Interactive effects of iron and zinc on biochemical and functional outcomes in supplementation trials. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 1, p. 5-12, 2005.

WANKES, B.; LONDERO, A. T. Epidemiology and Paracoccidioidomycosis. FRANCO, M.; LACAZ, CS; RESTREPO, A.; DEL NEGRO, G. **Paracoccidioidomycosis**, Boca Raton: **CRC Press**, v. 410, p. 109-20, 1994.

WARTOFSKY, L.; BURMAN, K.D. Alterations in Thyroid Function in Patients with Systemic Illness: The “Euthyroid Sick Syndrome”*. **Endocrine Reviews**, v. 3, n. 2, p. 164-217, 1982.

WEISS, G.; CARVER, P. L. Role of divalent metals in infectious disease susceptibility and outcome. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 24, n. 1, p. 16-23, 2018.

WERNECK, G.L.; HASSELMANN, M.H.; GOUVÊA, T.G. Panorama dos estudos sobre nutrição e doenças negligenciadas no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 39-62, 2011.

WINTERGERST, E.S.; MAGGINI, S.; HORNIG, D.H. Contribution of Selected Vitamins and Trace Elements to Immune Function. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 51, n. 4, p. 301-323, 2007.

ZIMMERMANN, M.B.; HURRELL, R.F. Nutritional iron deficiency. **The Lancet**, v. 370, n. 9586, p. 511-520, 2007.

Apêndice 1- Termo de consentimento livre e esclarecido-TCLE



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO/TCLE**

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada **“Análise comparativa de zinco, cobre, ferro, selênio, estresse oxidativo, TSH e T4 livre em pacientes com doenças infecciosas crônicas”**, sob a responsabilidade das pesquisadoras Jeniffer Michelline de Oliveira Custódio e Anamaria Mello Miranda Paniago.

O convite para sua participação foi porque você recebeu um diagnóstico de tuberculose ou paracoccidiodomicose ou ainda por ser um indivíduo saudável que atuará como grupo controle e por ter idade entre 18 a 59 anos.

Os pacientes portadores de tuberculose ou paracoccidiodomicose, dependendo da gravidade e duração da doença, podem ter um comprometimento do estado nutricional. A finalidade deste estudo é saber se pacientes com tuberculose ou paracoccidiodomicose apresentam alterações de alguns nutrientes e hormônios, pois sabemos que eles são importantes para as defesas do organismo contra muitas doenças. E, desta forma, contribuir para medidas de controle da doença, portanto, é muito importante a sua participação voluntária neste estudo como paciente ou no grupo “controle sadio”.

Ao participar deste estudo você permitirá a coleta de algumas informações pessoais e sobre seu estado de saúde através de um formulário de pesquisa que será preenchido pelo entrevistador. Você será submetido a medidas de peso e altura para realização do diagnóstico do estado nutricional, este procedimento será realizado em cinco momentos do seu tratamento: na admissão do hospital (T0), no primeiro (T1), no segundo (T2), quarto (T4) e sexto mês (T6) de tratamento. Além disso, será requisitado punção de uma veia do braço para coleta de 20 mL (1 colher de sopa) de sangue, coletados em cinco tubos, este também será feito de acordo com a rotina de atendimento: na admissão do hospital (T0), no primeiro (atendimento semanal), no segundo (T2), quarto (T4) e sexto mês (T6) de tratamento, por um profissional habilitado, durante o atendimento médico realizado no Hospital Dia Profª Esterina

Corsini. Os indivíduos saudáveis, que atuarão como grupo controle, a medida de peso e altura bem como a coleta de sangue serão feitas somente em um período do estudo: na admissão (T0). O período da pesquisa será de janeiro 2016 a fevereiro de 2019. A participação NÃO é obrigatória, a qualquer momento você terá a liberdade de desistir de participar e retirar seu consentimento e a sua recusa NÃO trará nenhum prejuízo em relação ao tratamento, acompanhamento, assistência ou qualquer outro benefício ao qual tenha direito.

A anamnese (entrevista médica) e exame clínico podem causar o constrangimento habitual de qualquer consulta médica. O volume de sangue retirado não causa distúrbios ou riscos ao organismo. Os possíveis desconfortos, se ocorrerem, são relacionados a retirada do sangue, como extravasamento de sangue, dor no local da picada da agulha. Você poderá notar uma mancha arroxeadada no local da punção que regride após 3 a 5 dias.

Todo material biológico coletado será utilizado somente para fins de diagnóstico e pesquisa. Os pesquisadores deverão, a qualquer momento esclarecer suas dúvidas sobre a doença, a utilização do material biológico coletado e os resultados obtidos com o estudo. Você saberá o resultado de todos os seus exames. Estes resultados poderão ser divulgados na forma de comunicação científica, sendo que a sua identificação será estritamente confidencial.

O benefício que você receberá será o diagnóstico e encaminhamento para tratamento de doenças relacionadas com o estado nutricional como por exemplo, desnutrição, obesidade, doenças da tireoide e carência ou excesso micronutrientes analisados. A equipe de médicos e nutricionista do estudo será responsável pelas orientações e tratamentos necessários para as alterações encontradas, até para os participantes do grupo controle.

Você não terá nenhuma despesa extra e não receberá nenhum pagamento por participar desta pesquisa.

Uso do sangue para outros estudos: O sangue coletado para os exames deste estudo será estocado e solicitamos sua autorização para que seja usado em futuros estudos somente sobre estas doenças. Não será feito uso comercial deste sangue e nem estudo genéticos. Caso você não concorde com a utilização do seu sangue em outros estudos, o sangue será desprezado após o término da pesquisa.

(,) concordo que meu sangue seja usado em outras pesquisas

(,) não concordo que meu sangue seja usado em outras pesquisas

Este documento será elaborado em 2 vias, ficando 1 arquivada na Unidade de Saúde responsável pelo atendimento e a outra cópia de posse do participante.

Após estes esclarecimentos, declaro estar ciente do teor deste Termo de Consentimento livre e Esclarecido e decidido a consentir de forma livre a minha participação nesta pesquisa.

Este TCLE esta de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e com o Comitê de Ética em Pesquisa com seres Humanos da UFMS

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Campo Grande, MS ____/____/____

Telefone do pesquisador: Jeniffer Custódio (67) 9977-4073

Telefone do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da UFMS: (67) 3345-7187

Apêndice 2- Termo de autorização para realização da pesquisa no laboratório de Análises clínicas-UFMS

  
Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DA PESQUISA

Eu, Luciana Maria Marangoni Iglicias, Cargo chefe da Unidade de Laboratório de Análises Clínicas, RG 436586, CPF 529336951-20, AUTORIZO Jeniffer Michelline de Oliveira Custódio, RG 1.810.454, CPF 010.961.231-00, aluna do programa de pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, a realizar a dosagem ferro, ferritina, e hormônios (TSH, T4 Livre), teste bioquímicos (creatinina, uréia, AST e ALT, proteínas totais e frações, bilirrubinas totais e frações, glicose) e hematológicos (hemograma, VHS) de pacientes com tuberculose, paracoccidioidomicose e grupo controle no laboratório de Análises Clínicas-UFMS, para a realização do Projeto de Pesquisa "*Análise comparativa de zinco, cobre, ferro, selênio, estresse oxidativo, TSH e T4 Livre em pacientes com doenças infecciosas crônicas*", que tem por objetivo primário fornecer conhecimentos sobre a importância do estado nutricional no curso da infecção. E, desta forma, contribuir para medidas de controle da infecção, desde que o projeto de pesquisa seja submetido a análise e aprovação da Gerência de Ensino e Pesquisa do HUMAP/UFMS/EBSERH e que o pesquisador apresente uma planilha com o quantitativo de cada dosagem que pretende realizar e comprometa à repor os reagentes quando solicitado.

O pesquisador deverá apresentar a autorização da Gerência de Ensino e Pesquisa do HUMAP/EBSERH/UFMS à chefe desta unidade antes do início da pesquisa.





Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



A pesquisadora acima qualificada se compromete a:

- 1- Iniciar a coleta de dados somente após o Projeto de Pesquisa ser aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.
- 2- Obedecer às disposições éticas de proteger os participantes da pesquisa, garantindo-lhes o máximo de benefícios e o mínimo de riscos.
- 3- Assegurar a privacidade das pessoas citadas nos documentos institucionais e/ou contatadas diretamente, de modo a proteger suas imagens, bem como garantir que não utilizarão as informações coletadas em prejuízo dessas pessoas e/ou da instituição, respeitando deste modo as Diretrizes Éticas da Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, nos termos estabelecidos na Resolução CNS Nº 466/2012.

Campo Grande, 20 de Outubro de 2015

Luciana Maria Marangoni Iglesias
Farmacêutica
CRF / MS - 1150
Unidade de Laboratório de Análises Clínicas
HUMAP/TEREH

Apêndice 3- Termo de autorização para realização da pesquisa no laboratório de Metabolismo mineral



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DA PESQUISA

Eu, Valter A. do Nascimento cargo Professor
, RG 845839, CPF 79035507134, AUTORIZO Jeniffer
Michelline de Oliveira Custódio, RG 1.810.454, CPF 010.961.231-00, aluna do programa
de pós- Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, a realizar a
dosagem dos micronutrientes e estresse oxidativo de pacientes com tuberculose,
Paracoccidioidomicose e grupo controle no laboratório de metabolismo mineral e
biomateriais, para a realização do Projeto de Pesquisa Análise comparativa de zinco, cobre,
ferro, selênio, estresse oxidativo, TSH e T4 Livre em pacientes com doenças infecciosas
crônicas, que tem por objetivo primário fornecer conhecimentos sobre a importância do
estado nutricional no curso da infecção. E, desta forma, contribuir para medidas de controle
da infecção.

A pesquisadora acima qualificada se compromete a:

- 4- Iniciar a coleta de dados somente após o Projeto de Pesquisa ser aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.
- 5- Obedecer às disposições éticas de proteger os participantes da pesquisa, garantindo-lhes o máximo de benefícios e o mínimo de riscos.
- 6- Assegurar a privacidade das pessoas citadas nos documentos institucionais e/ou contactadas diretamente, de modo a proteger suas imagens, bem como garantir que não utilize as informações coletadas em prejuízo dessas pessoas e/ou da instituição, respeitando deste modo as Diretrizes Éticas da Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, nos termos estabelecidos na Resolução CNS Nº 466/2012.

Campo Grande, 07 de 10 de 2015

Valter Aragão do Nascimento

[assinatura do responsável do laboratório]

Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento

Apêndice 4- Aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul-UFMS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise comparativa de zinco, cobre, ferro, selênio, estresse oxidativo, TSH e T4 livre em pacientes com doenças infecciosas crônicas.

Pesquisador: Jennifer Michelina de Oliveira Custódio

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 49364715.1.0000.0021

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.345.541

Apresentação do Projeto:

O presente estudo objetiva compreender a dinâmica de micronutrientes em pacientes com Tuberculose e Paracoccidiodomicose, visando propor medidas nutricionais preventivas e contribuir com a redução da morbimortalidade dessas doenças. O trabalho será realizado no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian de Mato Grosso do Sul no período de janeiro 2016 a fevereiro de 2019. Serão coletados dados demográficos, clínicos, antropométricos e laboratoriais de todos os pacientes e grupo controle. Amostras de sangue para realização dos exames laboratoriais (Fe, ferritina THS, T4L e teste bioquímicos e hematológicos) serão coletadas e dosadas de acordo com a rotina já estabelecida no Laboratório de Análises Clínicas-UFMS. Os elementos (zinco, cobre e selênio) serão dosados por um espectrômetro de absorção atômica equipado com lâmpada de deutério como corretor de fundo. O espectrômetro Thermo Scientific (ICP- OES) será utilizado nesse estudo. Cada amostra será lida em duplicata. O resultado de cada amostra será a média das leituras das amostras. A avaliação do estresse oxidativo será realizada através da determinação dos níveis de malondialdeído (MDA), resultantes da peroxidação lipídica através de TBA.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Celular: Celso Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** bracedon@gruppo.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Contratação do Paciente: 1.345.541

Avaliar a dinâmica das concentrações plasmáticas de zinco, cobre, ferro, selênio, o estresse oxidativo e função tireoideia em pacientes com Tuberculose e Paracoccidiodomicose durante o tratamento clínico.

Objetivo Secundário:

1. Avaliar o estado nutricional dos pacientes antes e durante o tratamento;
2. Analisar a dinâmica das concentrações plasmáticas do zinco, ferro, cobre, selênio;
3. Avaliar a função tireoideia;
4. Avaliar o estresse oxidativo;
5. Correlacionar as concentrações plasmáticas dos elementos com estado nutricional dos pacientes, função tireoideia, estresse oxidativo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A anamnese (entrevista médica) e exame clínico poderá causar o constrangimento habitual de qualquer consulta médica. O volume de sangue retirado não causa distúrbios ou riscos ao organismo. Os possíveis desconfortos, se ocorrerem, são relacionados a problemas durante a retirada do sangue, como extravasamento de sangue, dor no local da picada da agulha. Além disso, o paciente poderá notar uma mancha arroxada no local da punção que regride após 3 a 5 dias.

Benefícios:

O benefício que o paciente receberá será o diagnóstico e encaminhamento para tratamento de doenças relacionadas com o estado nutricional como, por exemplo, desnutrição, obesidade, doenças da tireoide e carência ou excesso micronutrientes analisados. A equipe de médicos e nutricionista do estudo será responsável pelas orientações e tratamentos necessários para as alterações encontradas, até para os participantes do grupo controle.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

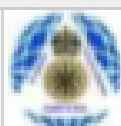
Pesquisa objetiva correlacionar alguns minerais plasmáticos com estado nutricional, estresse oxidativo, função tireoideana e infecção por tuberculose e paracoccidiodomicose.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto com termo de compromisso assinado pela Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da UFMS.

Termo de anuência com a pesquisa do chefe do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do HUMAP a ser realizada no Hospital-dia Prof. Esterina Corsini.

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFMS
Celular: Celso Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** bricefcon@propp.ufms.br



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS**



Confirmação do Parecer: 1.045.041

Cronograma adequado.

TGLE adequado.

Orçamento da pesquisa necessita ajuste.

Autorização para uso do laboratório de metabolismo mineral pelo Prof. Valtier Aragão do Nascimento/FAMED/UFMS.

Autorização para uso do Laboratório de Análises Clínicas-UFMS pela Chefe do LAC, condicionada à aprovação da Gerência de Ensino e Pesquisa do HUMAP/UFMS.

Declaração de responsabilidade financeira assinada pela orientadora do projeto.

Recomendações:

Verificar no item 1 do orçamento informado e corrigir o valor.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências corrigidas.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PI_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_545539.pdf	14/11/2015 12:09:49		Aceito
Orçamento	texto_teste2.pdf	14/11/2015 12:03:56	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Orçamento	texto_teste.pdf	14/11/2015 12:03:41	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Outros	cartarespostaspendencia_texto.pdf	14/11/2015 12:00:09	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoCompleto_texto.pdf	14/11/2015 11:58:29	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Folha de Rosto	folhaderoasto_teste.pdf	22/10/2015 15:36:19	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCompleto_teste.pdf	22/10/2015 14:52:21	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Outros	colaborador_texto.pdf	22/10/2015 14:50:23	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Endereço: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110

UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE

Telefone: (67)3345-7167 **Fax:** (67)3345-7167 **E-mail:** brasil@propp.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Continuação do Parecer: 1.245.041

Outros	analisesclinicas_teste.pdf	22/10/2015 14:45:31	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Outros	analisesclinicas_teste.pdf	22/10/2015 14:42:59	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Outros	metabolismomineral_teste.pdf	22/10/2015 14:39:46	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_teste.pdf	22/10/2015 14:37:14	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta.jpg	27/08/2015 11:18:25	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	27/08/2015 11:11:29	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	texto.pdf	18/08/2015 16:56:45	Jeniffer Micheline de Oliveira Custódio	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPO GRANDE, 01 de Dezembro de 2015

Assinado por:

PAULO ROBERTO HAIDAMUS DE OLIVEIRA BASTOS
(Coordenador)

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Caixa: Caixa Postal 555 CEP: 79.070-110

UF: MS Município: CAMPO GRANDE

Telefone: (87)3345-7187 Fax: (87)3345-7187 E-mail: brasil@gruppo.ufms.br

Apêndice 5- Formulário da pesquisa

COLETA DE DADOS		
DADOS DEMOGRÁFICOS		TCLE ()
Data coleta de dados: __/__/____	Nº	RGHU:
TB ()	PCM ()	CS ()
código:		
Idade:	Sexo: _____	Data Nasc.: __/__/____
Profissão:	Anos de estudo:	Estado Civil: Solteiro(a) (); Casado(a) ()
Cor: branca () preto () parda () índio (). Outros:		
Naturalidade: _____	UF _____	
Procedência _____	UF _____	
HÁBITOS DE VIDA		
Tabagismo: _____	(Regular, Ocasional, Ex*; Nunca) nº de cigarros/ dia:	/ idade de início:
Etilismo: _____	(Regular, Ocasional, Ex*; Nunca) quantidade/ semana:	
Atividade em Lavoura: _____	(Regular, Ocasional, Ex*; Nunca)	
*ex= se parou há mais de 6 meses		
Presidiário:		
Caso Novo:		
Data do 1º diagnóstico: __/__/____		
Data do Diagnóstico: __/__/____	Data do início dos sintomas: __/__/____	
DOENÇAS ASSOCIADAS		
HAS () DM 2 () Outras doenças: _____		
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS- LABORATORIAIS		
Paracoccidioidomicose () PCM pele () local pele: _____ PCM boca () PCM nariz () PCM laringe () PCM linfonodo () PCM fígado () PCM baço () PCM intestino () PCM osso ()		
PCM SNC () PCM pulmões () PCM adrenais () PCM outra () Forma clínica PCM: _____ (Aguda ou crônica) Gravidade PCM: _____ (Leve, moderado, Grave) Tratamento PCM: _____ (itraconazol, SMZ/TMP, anfotericina b)		

Tuberculose: () TB pulmões() TB pleura () TB SNC () TB linfonodo () TB osso ()	TB mama () TB outro: _____ Forma clínica TB: _____ (Aguda ou crônica) Gravidade TB: _____ (Leve, moderado, grave) Tratamento: RIPE () SOE () Outro tratamento TB:
--	--

Controle ()
AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

Emagrecimento () Quantos Kg: _____

Altura: _____

seguimento

	Tempo (0)	Tempo (1semana)	Tempo (2semanas)	Tempo (3 semanas)
Peso				
IMC				
Hemoglobina				
HCM				
VCM				
CHCM				
Hematócrito				
Leucócitos				
Sódio				
Potássio				
VHS				
Ferro				
Ferritina				
Creatina				
Uréia				
AST				
ALT				
Proteínas Totais				
Proteínas frações				
Bilirrubinas totais				
Bilirrubinas frações				
HDL				
LDL				
VLDL				
Colesterol				
Triglicerídeos				
Pressão arterial				
Glicose				
TSH				
T4 livre				
MDA				
Cobre				
Selênio				
Zinco				

seguimento				
	Tempo(1 mes)	Tempo (2 mês)	Tempo (4 mês)	Tempo (6 mês)
Peso				
IMC				
Hemoglobina				
HCM				
VCM				
CHCM				
Hematócrito				
Leucócitos				
Sódio				
Potássio				
VHS				
Ferro				
Ferritina				
Creatina				
Uréia				
AST				
ALT				
Proteínas Totais				
Proteínas frações				
Bilirrubinas totais				
Bilirrubinas frações				
HDL				
LDL				
VLDL				
Colesterol				
Triglicerídeos				
Pressão arterial				
Glicose				
TSH				
T4 livre				
MDA				
Cobre				
Selênio				
Zinco				
seguimento				
	Tempo(1 mes)	Tempo (2 mês)	Tempo (4 mês)	Tempo (6 mês)
Peso				
IMC				
Hemoglobina				
HCM				
VCM				
CHCM				
Hematócrito				
Leucócitos				
Sódio				
Potássio				
VHS				
Ferro				
Ferritina				
Creatina				
Uréia				
AST				
ALT				
Proteínas Totais				

Proteínas frações				
Bilirrubinas totais				
Bilirrubinas frações				
HDL				
LDL				
VLDL				
Colesterol				
Triglicerídeos				
Pressão arterial				
Glicose				
TSH				
T4 livre				
MDA				
Cobre				
Selênio				
Zinco				

Apêndice 6- Índice de Massa corporal, hormônios tireoidianos, níveis séricos de minerais, proteínas séricas dos 10 controles saudáveis na admissão

Código	Grupo	IMC	TSH	T4 LIVRE	T3	Cobre	Zinco	Ferro	PCR	Magnésio	Albumina	Globulina	Ferritina	Hemoglobina
1	CONTROLE	23,12	1,07	1,22	1,10	0,58	0,53	-	3,35	1,98	4,93	4,93	598,50	15,40
2	CONTROLE	27,41	0,88	1,00	1,34	0,68	0,31	-	1,51	2,23	4,71	2,20	-	15,70
3	CONTROLE	28,32	5,91	0,89	-	0,53	0,72	136,00	-	2,00	4,90	2,30	24,31	16,30
4	CONTROLE	29,76	2,62	1,28	1,43	0,41	0,27	137,00	0,86	1,87	4,43	2,30	390,90	16,20
5	CONTROLE	27,51	2,42	1,30		0,49	0,32	94,00	-	2,12	4,85	2,30	160,00	16,00
6	CONTROLE	23,03	1,11	1,54	1,14	0,30	0,49	125,00	0,76	2,13	4,72	2,40	214,00	15,80
7	CONTROLE	23,89	0,93	1,74	1,60	0,96	1,50	167,00	1,08	2,18	4,79	2,30	243,80	17,50
8	CONTROLE	22,16	2,76	1,56	1,23	0,58	0,67	78,00	0,64	2,12	4,65	2,30	105,40	15,40
9	CONTROLE	36,51	-	-		0,69	0,19	-	-	-	-	-	-	15,00
10	CONTROLE	28,34	2,33	1,22	1,42	0,60	0,53	77,00	2,39	2,20	4,64	2,21	375,70	15,10