

UTILIZAÇÃO DE AZURES COMO FOTOSSENSIBILIZADORES APLICADOS À TERAPIA FOTODINÂMICA CONTRA *Candida albicans*

Mirian Marcolan¹, Leonardo M. Moreira¹, Juliana Pereira Lyon¹, Maricilia Silva Costa¹, Suellen Marjorie Samuel Tursi¹, Isis Trajano¹, Priscila Afonso Martins¹, Máira R. Rodrigues¹, Lúcia Codognoto¹, Hueder P. M. de Oliveira^{1*}

¹Universidade do Vale do Paraíba/ FCS. Av. Shishima Hifumi, 2911 São José dos Campos, SP
hueder@univap.br

Resumo: Infecções por *Candida albicans* têm emergido como um grave problema em pacientes imunossuprimidos. Devido ao surgimento de amostras resistentes, a busca por novos tratamentos é de grande relevância. A terapia fotodinâmica (TFD) apresenta propriedades antimicrobianas e têm se mostrado promissora nesse sentido. No presente trabalho, testou-se o uso de Azures como fotossensibilizadores na TFD contra *C. albicans*. Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que estas drogas apresentam potencial para serem utilizadas com agentes fotossensibilizantes na terapia fotodinâmica antimicrobiana.

Palavras-chave: TFD, Fotossensibilizadores, Azures, *Candida albicans*

Área do Conhecimento: Química e Engenharia Biomédica

Introdução

Denomina-se candidose, a infecção causada por *Candida spp.* Atualmente, devido ao grande número de pacientes imunodeprimidos, a *Candida* é o principal agente causador de doenças micóticas no homem. Dentre todas as espécies de *Candida* descritas, a responsável pelo maior número de infecções é a *C. albicans* (RESENDE e RESENDE, 1999), estando a candidose associada às altas taxas de mortalidade.

Dentre as espécies do gênero *Candida* encontradas na prática clínica, *Candida albicans* é a de maior prevalência. Frequentemente, *Candida albicans* é susceptível aos agentes antifúngicos do grupo azol. Entretanto, o número de espécies mais tolerantes tem aumentado, provavelmente devido ao crescente uso de itraconazol e fluconazol, as drogas antifúngicas mais utilizadas em candidose (GHANNOUM e RICE, 1999). Assim, há uma grande necessidade de novas terapias antimicrobianas.

Progressivamente, o potencial da terapia fotodinâmica antimicrobiana (PACT) para promover a destruição de microorganismos tem sido mais aceito (MOREIRA et al, 2008). Os mecanismos fotodinâmicos podem ser via radicalar, que é conhecido como mecanismo Tipo I, ou através da ação reativa do oxigênio singlete, o qual é chamado de mecanismo Tipo II. Esta técnica envolve a produção de oxigênio singlete e outras espécies reativas de oxigênio, produzindo danos às células dos microorganismos. Atualmente, tem sido demonstrado o efeito antimicrobiano de uma variedade de compostos fotossensibilizantes, inclusive sobre o patógeno *Candida albicans* (CHABRIER-ROSELLÓ et al., 2005).

O objetivo deste trabalho foi estudar o potencial antimicrobiano da PACT, utilizando diferentes tipos de Azures sobre a *Candida albicans*.

Metodologia

O efeito fototóxico dos diferentes agentes fotossensibilizantes foi determinado sobre o crescimento de culturas de *Candida albicans* (ATCC 10-231) submetidas a diferentes concentrações destas drogas. Suspensões de *Candida albicans* ($1-5 \times 10^5$ células/ml) foram irradiadas com laser diodo (684nm). O crescimento da cultura foi determinado após 18 horas de incubação em caldo Sabouraud (37°C) através da leitura da DO.

Foram utilizadas as fenotiazinas Azure A, Azure B, Azure Tiocianato, Azure BF_4^- e Azure Eosinato. A fonte de luz utilizada foi um laser diodo InGaAlP (Photon Laser, DMC, São Carlos, Brazil), com densidade de potência de 35mW e comprimento de onda de 684nm. A densidade de energia utilizada foi de 28 ou 56J/cm², variando o tempo de irradiação.

Resultados

Foi observado que, utilizando uma DE de 28J/cm², Azure B, Azure Tiocianato e Azure BF_4^- não foram capazes de inibir o crescimento da *C. albicans*, após a irradiação. Entretanto, após uma irradiação com DE de 56J/cm² o Azure Tiocianato foi capaz de inibir o crescimento da *C. albicans* (20-30%). O Azure A reduziu o crescimento da *C. albicans* em 30% e 50-60%, após uma irradiação resultando em uma DE de 28 e 56J/cm², respectivamente. Enquanto que o Azure Eozinato

inibiu o crescimento em 20% com uma DE de 28J/cm² e 50-60% com uma DE de 56J/cm². Os resultados estão apresentados nas tabelas de 1 a 6.

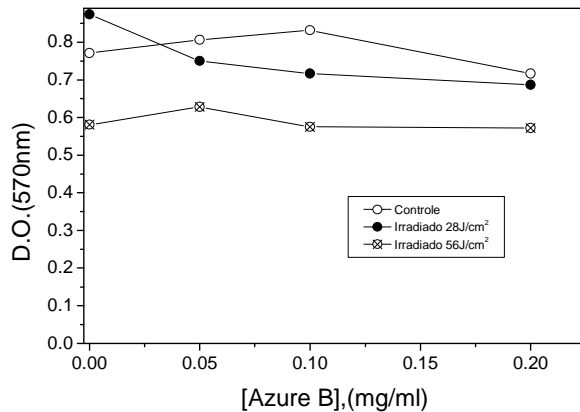


Figura 1 - Efeito do Azure B antes (O) e após a irradiação com laser diodo com DE de 28J/cm² (●) e 56J/cm².

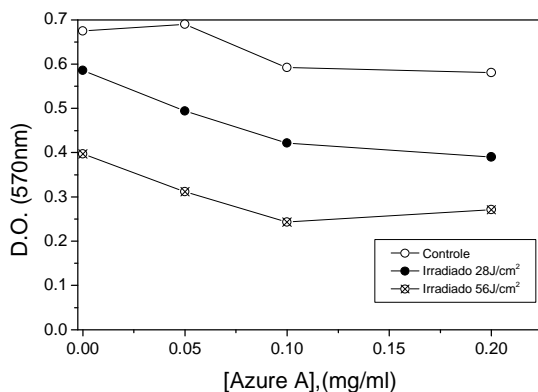


Figura 1 - Efeito do Azure A antes (O) e após a irradiação com laser diodo com DE de 28J/cm² (●) e 56J/cm².

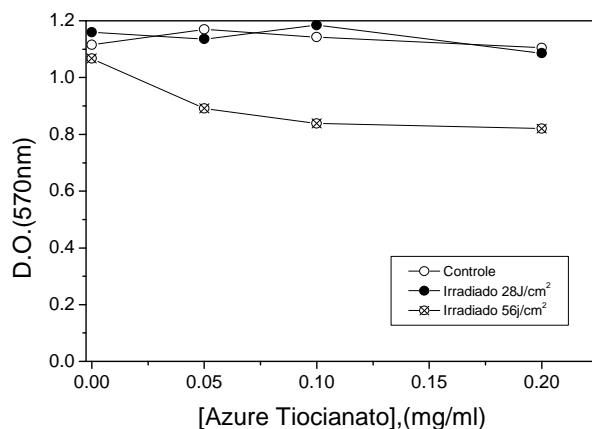


Figura 2 - Efeito do Azure (Tiocianato) antes (O) e após a irradiação com laser diodo com DE de 28J/cm² (●) e 56J/cm².

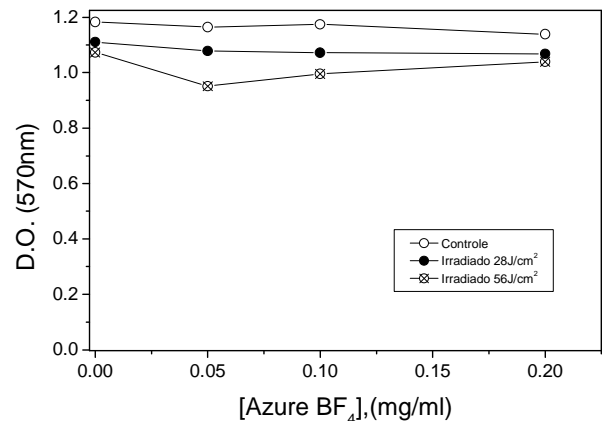


Figura 4 - Efeito do Azure (Tetrafluorborato) antes (O) e após a irradiação com laser diodo com DE de 28J/cm² (●) e 56J/cm².

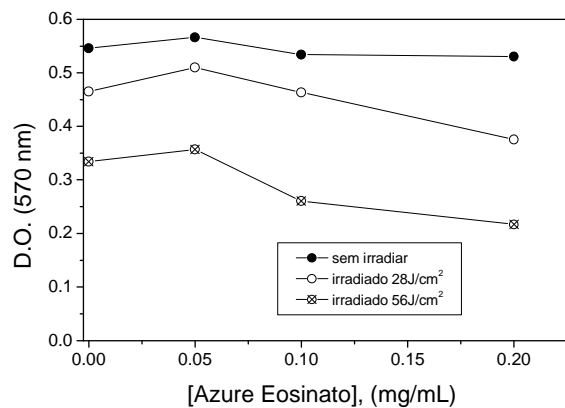


Figura 3 - Efeito do Azure (Eosinato) antes (O) e após a irradiação com laser diodo com DE de 28J/cm² (●) e 56J/cm².

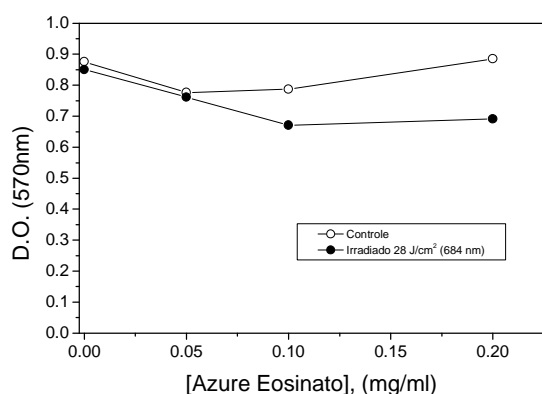


Figura 6 - Efeito do Azure (Eosinato) antes (O) e após a irradiação com laser diodo com DE de 28J/cm² (●) e 56J/cm².

Discussão

Os resultados apresentados mostraram que os compostos fenotiazínicos utilizados no

presente trabalho apresentam diferentes perfis de inibição sobre o crescimento da *C. albicans*, sendo sua eficiência dependente da concentração de agente fotossensibilizante utilizado e, ainda, da densidade de energia empregada. Realmente, o número de espécies reativas de oxigênio gerado através do procedimento de TFD depende basicamente da concentração do agente fotossensibilizante na região tratada, o que é influenciado decisivamente pela seletividade desse agente pela região em questão (foco infeccioso da micose); da intensidade de luz (potência do feixe) projetada na referida região, isto é, o número de fótons que geram interação energia eletromagnética/matéria (vale lembrar que tal fator é decisivamente determinado pela facilidade de contato da fonte com o órgão em questão, o que, obviamente, é mais acessível nos chamados órgãos endoluminais e, sobretudo, na pele); e do tempo de exposição à fonte luminosa empregada. É importante registrar que a presente técnica pode apresentar amplas possibilidades futuras, haja vista a grande incidência de infecções micóticas em áreas fisiológicas de reconhecido sucesso no que se refere ao emprego de TFD. De fato, especialmente em áreas de mais fácil acesso à fonte luminosa (laser ou Led), como é o caso da pele, que é uma das regiões mais afetadas por infecções micóticas, o emprego de TFD têm se mostrado extremamente promissor em função de uma mais fácil acessibilidade dos fótons oriundos da fonte luminosa em relação ao tecido infectado, o qual, nestas condições, já deve apresentar significativa concentração do agente fotossensibilizante. Desta forma, a geração de espécies reativas de oxigênio, que apresentam alto poder oxidativo, se torna intensa e, conseqüentemente, em uma região de raio definido em torno da concentração do agente fotossensibilizante, ou seja, ao redor da região infectada, as referidas espécies reativas promovem significativa morte celular.

Conclusão

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que estas drogas apresentam potencial para serem utilizadas com agentes fotossensibilizantes na terapia fotodinâmica antimicrobiana.

Referências

1. GHANNOUM, M.A., RICE, L.B. Antifungal agents: Mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 12, p.501-17, 1999.

2. RESENDE J.C., RESENDE, M.A. *In vitro* susceptibility of clinical isolates of *Candida* spp. from hospitalized patients. *Mycoses*. v.42, p. 641-644, 1999.
3. MOREIRA L.M., SANTOS F.V., LYON J.P., COSTA M.M., SOARES C.P., SILVA N.S. Photodynamic Therapy (PDT): Porphyrins and Phthalocyanines as Photosensitizers (PS). *Australian Journal of Chemistry*, 2008, in press.
4. CHABRIER-ROSELLÓ Y, FOSTER TH, PÉREZ-NAZARIO N, MITRA S, HAIDARIS CG. Sensitivity of *Candida albicans* germ tubes and biofilms to photofrin-mediated phototoxicity. *Antimicrobial agents Chemotherapy*, v. 49, p. 4288-4295, 2005.