

# AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE OCTOPIROX OLAMINA QUANTO AO CRESCIMENTO E MORFOGÊNESE DE LEVEDURAS CLÍNICAS QUANDO EXPOSTAS A VARIADAS TEMPERATURAS

Rair de Menezes Quirino<sup>1</sup>; Rejane Pereira Neves<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Medicina-CCS– UFPE; E-mail: rair\_cabrobo@hotmail.com, <sup>2</sup>Docente/pesquisador do Depto de Micologia – UFPE – sigla da Universidade. E-mail: rejadel@yahoo.com.br

**Sumário:** O objetivo deste trabalho foi determinar potencial de octopirox-olamina na inibição do crescimento e morfogênese em diferentes isolados de *Candida*, provenientes de portadores de neoplasias malignas. Por meio de 13 isolados de leveduras coletados da Coleção de Culturas Micoteca URM de *C. parapsilosis* recém isoladas de amostras clínicas de pacientes com neoplasias malignas, foram realizados testes para reativação e revisão taxonômica das culturas estocadas. Em sequência, outros testes realizados tiveram o objetivo de analisar o efeito antifúngico de octopirox-olamina relacionado a inibição de crescimento e morfogênese dos isolados clínicos de *Candida*, sendo feita análise à microscopia, quantitativa e qualitativa, dos isolados após a exposição à droga. Com isso, com auxílio e embasamento teórico da literatura e de resultados apresentados por outros autores, fica evidente o potencial antimicótico apresentado pela Octopirox olamina frente a leveduras do gênero *Candida* associadas à pacientes com diferentes processos neoplásicos.

**Palavras-chave:** *Candida*; Morfogênese; Neoplasia; Octopirox olamina.

## INTRODUÇÃO

Octopirox olamina ou piroctona olamina, constitui a família das hidroxipiridonas, representadas tanto pelo octopirox como ciclopirox e rilopirox (Sigle et al., 2006; Kim et al., 2011). Em se tratando de ação antifúngica, octopirox olamina tem comprovada ação apenas em *Malassezia* inibindo o crescimento de substâncias irritantes no couro cabeludo, que constituem os fatores externos para a formação da caspa (Dubini et al., 2005; Sigle et al., 2006). A relação entre octopirox olamina e células neoplásicas foi observada por Kim *et al.* (2011) em estudo sobre o aumento da eficácia *in vivo* de lenalidomida com a adição de octopirox olamina. Por outro lado, uma grande atenção deve ser direcionada às infecções causadas por leveduras, destacando-se as espécies do gênero *Candida*, as quais representam altas taxas de mortalidade em pacientes imunossuprimidos, sobretudo em portadores de câncer (Pemán *et al.*, 2012). Esta característica pode estar relacionada a um aumento na resistência aos antifúngicos convencionais, tornando-se necessário a avaliação da ação de novos fármacos no desenvolvimento e pleomorfismo das espécies de *Candida*, agentes etiológicos de leveduroses em pacientes com neoplasia maligna, a fim de inibir o desenvolvimento da infecção. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar o potencial de octopirox-olamina na inibição do crescimento e morfogênese em diferentes isolados de *Candida*, provenientes de portadores de neoplasias malignas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os isolados de *C. parapsilosis*, provenientes de amostras clínicas de pacientes com neoplasia maligna, foram retirados da Coleção de Culturas Micoteca URM foram obtidos cepas mantidas em óleo mineral (Sherf, 1943).

Foram realizadas a reativação dos respectivos isolados, por meio do caldo glicosado, e a revisão taxonômica, através dos critérios clássicos segundo Barnett et al. (2000) e Hoog et al. (2000). Posteriormente, os isolados clínicos de *Candida* foram submetidos a diferentes condições de cultivo no meio ágar Sabouraud e mantidos em variadas temperaturas por um período de três dias. Posteriormente, foram realizados retrocultivos em tubos de ensaio contendo ágar Sabouraud para a avaliação quanto ao crescimento em diferentes temperaturas. Em seguida, os isolados crescidos foram expostos a diferentes concentrações anteriormente definidas de octopirox-olamina seguindo o CLSI (2008). De acordo com a morfogênese observada nos ensaios anteriores, foram determinadas através da preparação lâminas com azul de Aman, as alterações decorrentes da exposição ao antifúngico nas mesmas condições anteriormente descritas.

## RESULTADOS

Foram obtidos 13 isolados de *C. parapsilosis* provenientes de material biológico, sob óleo mineral com o específico substrato de origem e tipo de neoplasia como mostra a tabela 1. Todos os isolados autenticados mantiveram as características pertinentes à espécie estudada. As culturas revisadas apresentaram as características morfofisiológicas dos isolados de leveduras. A assimilação de fontes de carbono e nitrogênio (auxonograma) e fermentação de fontes de carbono (zimograma) foram as mesmas para todos os isolados e ainda a ausência de urease e produção de ácido. Os isolados crescidos foram expostos a diferentes concentrações anteriormente definidas de octopirox-olamina seguindo o CLSI (2008). Os isolados foram analisados e, após 48 horas de exposição à droga, apresentaram o seguinte padrão estatístico de sensibilidade: dois isolados (15,38%) com MIC (Concentração Inibitória Mínima) de 1 mg/ml; quatro isolados (30,76%) com MIC de 0,5 mg/ml; e sete isolados (53,86%) com MIC de 0,25 mg/ml. As análises microscópicas feitas das lâminas produzidas a partir das células ao MIC encontrado demonstraram alterações na morfogênese dos isolados, tanto qualitativamente, com destruição de pseudomicélio e hifas verdadeiras e inibição da formação de estruturas de brotamento, como quantitativamente, como diminuição da quantidade das estruturas citadas anteriormente.

Tabela 1: Isolados de *Candida parapsilosis* estocados na Micoteca URM da UFPE.

Número da Linhagem Micoteca URM	Neoplasia	Substrato de Origem
7087	Tumor maligno de boca	Fragmento de Tecido
6557	Leucemia	Sangue
6387	Leucemia	Sangue
6376	Leucemia	Sangue
5890	Tumor Maligno de boca	Fragmento de Tecido
5891	Tumor Maligno de	Fragmento de

	boca	Tecido
5888	Tumor Maligno de Pavilhão Auricular	Fragmento de Tecido
5885	Tumor Maligno em região orbicular	Fragmento de Tecido
5559	Leucemia	Sangue
6363	Leucemia	Sangue
5877	Leucemia	Sangue
5874	Leucemia	Ponta de Cateter
5875	Osteossarcoma	Sangue

### DISCUSSÃO

Para a maioria das leveduras, a concentração mínima fungicida encontra-se entre um valor padronizado que varia de 0,9 a 3,9mg/ml, sendo o cultivo dos microorganismos realizado em ágar Sabouraud-dextrose (ABRAMS et al., 1992), fortalecendo e comprovando a eficácia da droga analisada neste estudo.

Além disso, utilizando-se Ciclopirox olamina, droga da mesma classe da Octopirox olamina, a sua ação antifúngica diante de leveduras, inclusive do gênero *Candida*, já foi bem relatada (WALASH et al., 2006), da mesma forma que não foram demonstrados potenciais de carcinogenicidade e malignidade em testes realizados para avaliar a sua toxicidade (GUPTA; SKINNER, 2003).

Sobre o mecanismo de ação da droga, um dos mecanismos de ação relatados sobre a Ciclopirox olamina pode ser comparado a ação de quebra de integridade das células fúngicas, a partir da quelatação de íons férricos, os quais são impedidos de inibir a ação das enzimas peroxidase e catalase para manter o padrão estrutural do microorganismo (BOHR; KRAEMER, 2000).

### CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados pela metodologia proposta, fica evidente o potencial antifúngico da Octopirox olamina frente a leveduras causadas por *C. parapsilosis* em pacientes portadores de neoplasia. Entretanto, novos estudos e análises são fundamentais.

### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/PIBIC/UFPE pela bolsa concedida para a realização do trabalho. À Professora Doutora Rejane Pereira Neves pela orientação do projeto. À bióloga doutoranda Daniela Buonafina, à biomédica mestrandia Melyna Leite Chaves e aos demais colegas pela colaboração durante a execução do trabalho.

### REFERÊNCIAS

- BARNETT, J.A.; PAINE, R.W.; YARROW, D. (2000) Yeasts: Characteristics and Identification. Cambridge, Cambridge University Press.
- SCHALKA S, DOS REIS VM, CUCÉ LC. The influence of the amount of sunscreen applied and its sun protection factor (SPF): Evaluation of two sunscreens including the same ingredients at different concentrations. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2012;25:175-80.

DUBINI A., MUS F., SEIBERT M., GROSSMAN A. R., POSEWITZ M. C. (2009). Flexibility in anaerobic metabolism as revealed in a mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* lacking hydrogenase activity. *J. Biol. Chem.* 284 7201–7213

PIÉRARD-FRANCHIMONT C, PAQUET R, ARRESE JE, PIÉRARD GE: Healing rate and bacterial necrotizing vasculitis in venous leg ulcers. *Dermatology* 2002;194:383–387.

PEMÁN J, CANTÓN E, QUINDÓS G, ET AL. FUNGEMYCA Study Group Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(5):1181–1187.

COLOMBO, A.L. & GUIMARÃES, T. - Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, 36: 599-607, 2003.

S.L. HINRICHSEN, E. FALCÃO, T.A.S. VILELLA, L. RÊGO, C. LIRA, L. ALMEIDA, *ET AL.* **Candidemia em hospital terciário do Nordeste do Brasil** *Rev Soc Bras Med Trop*, 41 (2008), pp. 394–398

SHERF, A.F. A method for maintaining *Phytophthora sepedomica* for long periods without transference. *Phytopathology*, 31: 30-32, 1943.

DE HOOG G, GUARRO J, GENE J, FIGUERAS MJ. *Atlas of Clinical Fungi*. Utrecht, the Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures; 2000

T HUNTER; **Cooperation between oncogenes** *Cell*, 64 (1989), pp. 249–270

DALMAU, L. M. 1929 Remarques sur la technique mycologique (1). *Ann. parasitol. humaine et comparee*, 7, 536-545. ABRAMS et al., 1992

GUPTA AK, SKINNER AR. Ciclopirox for the treatment of superficial fungal infections: a review. *Int J Dermatol* 2003; 42 (Suppl. 1): 3–9.