

AÇÃO DA CURCUMINA EM ENSAIOS DE INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA SOBRE O FUNGO *Sporothrix brasiliensis*

Gabriela Franco de Oliveira Barbosa (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Juliana Aparecida Fernandes (Pós-graduação), Bárbara Cipulo Legabão (Pós-graduação), Pollyanna Cristina Vincenzi Conrado (Pós-graduação), Gabriel Batista César (Docente), Patrícia de Souza Bonfim-Mendonça (Co-orientador), Terezinha Inez Estivalet Svidzinski (Orientador). e-mail: ra107974@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Análises Clínicas e
Biomedicina /Maringá, PR

Ciências da Saúde - Farmácia

Palavras-chave: terapia fotodinâmica, *Sporothrix*, curcumina

Resumo:

A inativação fotodinâmica é uma metodologia que se baseia na interação entre um comprimento de luz específico e um composto fotossensível (fotossensibilizador). Essa interação, na presença de oxigênio, leva a reações fotoquímicas que induzem a excitação desse composto e a produção de espécies reativas de oxigênio, capazes de levar à inviabilização celular de um tecido danificado ou microrganismos. Um composto muito estudado como fotossensibilizador é a curcumina, um corante originário da Ásia, conhecido por suas propriedades farmacológicas, antibacterianas e antifúngicas. A inativação fotodinâmica (IFD) vem sendo inserida como metodologia alternativa para diferentes ramos da medicina, entre eles, o tratamento de infecções fúngicas. Dentre as infecções fúngicas de grande impacto para a sociedade a esporotricose, causada pelo fungo *Sporothrix*, tem-se destacado com epidemiologia crescente nos últimos anos com desafios no tratamento. Nosso estudo pretende revisar a literatura relacionada à IFD no contexto da esporotricose e determinar na prática a ação, *in vitro*, da curcumina sobre *S. brasiliensis*. Os resultados da revisão de literatura mostraram que a IFD apesar de promissora, é pouco estudada no campo da esporotricose. E os resultados *in vitro* foram promissores, pois mostraram fotoinativação fúngica da curcumina na concentração de 12,5 µmol/L. Dessa forma, o cenário da escassez de estudos, associado aos nossos resultados preliminares, incentivam o contínuo estudo da IFD com curcumina sobre mais cepas de *S. brasiliensis*, além do desenvolvimento biotecnológico de formulações para tratamento clínico.

Introdução

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma técnica moderna, inovadora e promissora que se destaca por ser um método não invasivo e vem sendo muito estudada para aplicação como terapia complementar, em diversos campos da medicina. Essa técnica tem como princípio a interação, na presença de oxigênio, entre uma fonte de luz emitida em um comprimento de onda específico e um composto fotossensível, denominado fotossensibilizador. A incidência da luz sobre esse composto resulta em diversas reações fotoquímicas que excitam o fotossensibilizador e promovem a transferência de elétrons e de energia para o oxigênio, com consequente geração de espécies reativas de oxigênio. Esse processo é capaz de levar à inviabilização de células e tecidos danificados e à destruição de microrganismos patogênicos.

A curcumina é um composto extraído de uma planta originária da Ásia, muito utilizado na culinária como tempero, conservante e corante, além de ser conhecido por possuir propriedades farmacológicas, dentre eles o efeito anti-inflamatório, antioxidante e atividade contra microrganismos, sejam eles bactérias, fungos, vírus ou protozoários.

A esporotricose é uma micose subcutânea de caráter zoonótico e endêmico, causada por fungos do gênero *Sporothrix* que acomete felídeos e homens. Além de suas manifestações subcutâneas, a esporotricose pode apresentar diferentes formas, e os tratamentos variam sua eficácia e a toxicidade que podem causar ao paciente. Dessa forma, a busca por novas metodologias - menos tóxicas, de cura clínica mais rápida e de menor custo - estão sendo muito estudadas.

O objetivo deste trabalho foi reunir informações da literatura sobre o tema da terapia fotodinâmica associada ao tratamento da esporotricose e a aplicação *in vitro* dessa técnica associada à curcumina.

Materiais e métodos

Revisão em escopo

A revisão foi conduzida em duas bases de dados distintas, PubMed e Web of Science, através de buscas de artigos publicados em inglês no período de 2010 a 2020. A busca se baseou em *Mesh Terms* e *Field Tags* relacionados com o objetivo da aplicação da fotodinâmica no tratamento da esporotricose.

Microrganismos

A cepa utilizada neste projeto foi de *Sporothrix brasiliensis*, cedida pelo Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (Lapclin-Dermzoo) e reativada em *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) a 25 °C por 7 dias.

Fotossensibilizador

O fotossensibilizador utilizado foi a curcumina sintetizada pelo Núcleo de Pesquisa em Sistemas Fotodinâmicos (NUPESF) da Universidade Estadual

de Maringá, diluída em dimetilsulfóxido (DMSO), até a obtenção de uma concentração final de 100 µmol/L.

Fonte de luz

Uma placa de luz LED com comprimento de onda entre 440 e 460 nm foi utilizada para ativar o fotossensibilizador e desenvolvida pelo Laboratório de Físico-Química da Universidade Estadual de Maringá.

Preparo do inóculo

Para o preparo do inóculo, foi realizado um repique a partir da amostra reativada em SDA, incubada a 25 °C por 7 dias. Os conídios formados pelo fungo foram filtrados com salina em uma seringa com algodão autoclavados até a obtenção de uma concentração de 2x10⁶ CFU/mL em contagem na Câmara de Neubauer

Ensaio de inativação fotodinâmica

Os testes consistiram de ensaios de microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de curcumina e do tempo de irradiação mais efetivos para inibir o crescimento de colônias fúngicas. Os tempos e as potências de irradiação foram de 15 minutos de pré-irradiação (incubação no escuro), 15 minutos de irradiação e potências variadas de 10, 15 e 20 J/cm², a uma distância de 5 cm da placa de luz. Testes de controles claro e escuro também foram avaliados. Após os ensaios de fotodinâmica, as placas foram incubadas a 25 °C por 5 dias. Testes executados em duplicata.

Resultados e Discussão

A revisão em escopo localizou seis artigos condizentes com o objetivo do trabalho, com resultados de ensaios da TFD para *Sporothrix spp.* *in vitro* e aplicações *in vivo* da técnica, sendo que, em todos os artigos analisados, a fotodinâmica mostrou resultados promissores no tratamento da esporotricose e na inibição do crescimento fúngico. Nossos resultados *in vitro* mostraram uma diminuição no crescimento de colônias fúngicas a partir da concentração de 6,25 µmol/L de curcumina, sendo que foi observado uma inibição no crescimento das colônias com 12,5 µmol/L do fotossensibilizador em questão. Não houve diferença significativa de inibição entre as diferentes potências avaliadas e, através da avaliação do crescimento das colônias referentes aos controles claro e escuro, foi possível observar que a dose de luz emitida não foi tóxica para o fungo e que a curcumina, sem a ação da luz, não possui efeito fungicida nas concentrações avaliadas.

Conclusões

A revisão da literatura mostrou que a TFD pode ser uma grande aliada na terapêutica da esporotricose, impulsionando estudos com essa técnica para

viabilização do tratamento clínico. Entretanto, observa-se escassez de publicações, nossos resultados preliminares *in vitro*, mostraram, pela primeira vez, que a TFD+curcumina pode ser eficaz contra cepas de *Sporothrix brasiliensis*, incentivando estudos com outras cepas e avanço nas formulações biotecnológicas e farmacêuticas para aplicação da TFD em casos de esporotricose.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação Araucária pelo financiamento deste projeto, à Universidade Estadual de Maringá e às minhas professoras orientadoras.

Referências

Almeida-Paes R, de Oliveira LC, Oliveira MM, Gutierrez-Galhardo MC, Nosanchuk JD, Zancopé-Oliveira RM. **Phenotypic characteristics associated with virulence of clinical isolates from the Sporothrix complex**. Biomed Res Int. 2015 Apr 19;2015:21230.

Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, Saczko J, Kędzierska E, Knap-Czop K, Kotlińska J, Michel O, Kotowski K, Kulbacka J. **Photodynamic therapy - mechanisms, photosensitizers and combinations**. Biomed Pharmacother. 2018 Oct;106:1098-1107.

Orofino-Costa R, Macedo PM, Rodrigues AM, Bernardes-Engemann AR. **Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics**. An Bras Dermatol. 2017 Sep-Oct;92(5):606-620

SUETH-SANTIAGO, V. et al. **Curcumina, o pó dourado do açafão-da-terra: introspectivas sobre química e atividades biológicas**. Química Nova, Rio de Janeiro, 38(4):538-552, 2015.