

TERAPIA FOTODINÂMICA NA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA CONTRA FUNGOS FILAMENTOSOS

Jade Lima da Silva Costa¹
Nathan de Amorim Brugnerotto²
Vivian Gomes Silva³
Yasmin Rosalia Costa Novais Pinto⁴
Cristiane Metzker Santana de Oliveira⁵

RESUMO: As infecções fúngicas são um importante problema de saúde em todo o mundo. O uso indiscriminado de antimicóticos culminaram em resistências adquiridas aos fungos. A terapia fotodinâmica é uma técnica desenvolvida para o tratamento localizado de tumores, porém, sua aplicação no controle microbiano vem se tornando mais frequente, por sua capacidade de eliminar células fúngicas através da administração de uma substância fotossensibilizadora seguido da aplicação de luz em comprimento de onda visível e compatível. Metodologia: para o desenvolvimento desta revisão, foram utilizadas as plataformas de pesquisa da PUBMED (US National Library of Medicine National Institutes of Health), SciELO (Scientific Electronic Library Online), e Google Acadêmico com as seguintes palavras-chaves: “terapia fotodinâmica”; “antimicrobiano”; “fungos filamentosos”. Resultados: Conclusão: observa-se que a maior relação de experimentos com a terapia fotodinâmica, é relacionada com a *Candida albicans* e a eficácia do tratamento depende de outros fatores, sendo necessário novos estudos sobre a eficácia da terapia fotodinâmica sobre outros tipos de fungos.

1654

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica. Antimicrobiano. Fungos filamentosos.

ABSTRACT: Fungal infections are an important health problem worldwide. The indiscriminate use of antimycotics culminated in acquired resistance to fungi. Photodynamic therapy is a technique developed for the localized treatment of tumors, however, its application in microbial control is becoming more frequent, due to its ability to eliminate fungal cells through the administration of a photosensitizing substance followed by the application of light at a shorter wavelength. visible and compatible. Methodology: to develop this review, the research platforms of PUBMED (US National Library of Medicine National Institutes of Health), SciELO (Scientific Electronic Library Online), and Google Scholar were used with the following keywords: “photodynamic therapy”; “antimicrobial”; “filamentous fungi”. Results: Conclusion: it is observed that the largest number of experiments with photodynamic therapy is related to *Candida albicans* and the effectiveness of the treatment depends on other factors, requiring further studies on the effectiveness of photodynamic therapy on other types of fungi.

Keywords: Photodynamic therapy. Antimicrobial. Filamentous fungi.

¹Graduada em Biomedicina na Universidade Salvador (UNIFACS), Salvador/BA, Brasil.

²Acadêmico do curso de Farmácia da Universidade Salvador (UNIFACS), Salvador/BA, Brasil.

³Acadêmica do curso de Farmácia da Universidade Salvador (UNIFACS), Salvador/BA, Brasil.

⁴Acadêmica do curso de Farmácia da Universidade Salvador (UNIFACS), Salvador/BA, Brasil.

⁵Orientadora Prof^a. Dr^a do curso de Farmácia da Universidade Salvador (UNIFACS), Salvador/BA, Brasil.

I. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos eucarióticos, que apresentam DNA delimitado por dupla membrana. Todas as espécies de fungos possuem parede celular rígida compostas em grande parte por carboidratos, lipídeos, glicoproteínas e grandes cadeias de polissacarídeos. De acordo com a sua morfologia, os fungos podem ser classificados como leveduras ou como fungos filamentosos (SIDRIM; MOREIRA, 1999).

As infecções fúngicas são um importante problema de saúde em todo o mundo, sua incidência aumentou drasticamente nas últimas décadas afetando indivíduos imunocompetentes e imunocomprometidos (COWEN, 2008). Geralmente, as infecções fúngicas requerem prolongada terapia antimicrobiana e o uso indiscriminado de antimicóticos culminaram em resistências adquiridas aos fungos.

A emergência de novas espécies de fungos patogênicos que são resistentes aos antifúngicos leva à necessidade de desenvolver novas estratégias para o tratamento de infecções fúngicas. A inativação fotodinâmica antimicrobiana (IFA) é uma metodologia que apresenta atividade antimicrobiana e, portanto, são promissoras no controle de microrganismos (CARUSO, 2020).

Nesse contexto, destaca-se a terapia fotodinâmica (PDT – do inglês *Photodynamic Therapy*), que é uma técnica desenvolvida para o tratamento localizado de tumores, porém, sua aplicação no controle microbiano vem se tornando mais frequente, por sua capacidade de eliminar células fúngicas através da administração de uma substância fotossensibilizadora seguido da aplicação de luz em comprimento de onda visível e compatível. No caso do tratamento de tecidos infectados, a aPDT (do inglês *Antimicrobial Photodynamic Therapy*) é indicada para o controle do crescimento microbiano e a indução da morte celular microbiana, onde o seu objetivo é obter a morte seletiva dos micro-organismos, mas não a célula humana.

A terapia fotodinâmica é uma reação química ativada por luz usada para destruição seletiva de um tecido e requer um agente fotossensibilizante no tecido-alvo, uma fonte de luz e oxigênio (JORI, 2006). Suas primeiras aplicações foram realizadas quando Oscar Raab, em seu trabalho de doutorado, observou que a combinação de luz com o corante acridina era letal para o microorganismo *Paramecium caudatum*. Em 1903, Herman Von Tappeiner, orientador de Oscar Raab, denominou esse efeito da luz de “efeito fotodinâmico” (ROLIM, 2012). Foi que nesta mesma época, conduziram os primeiros testes clínicos da terapia fotodinâmica.

Conceituando, a PDT é a indução de fototoxicidade letal nas células alteradas através de um fármaco fotossensibilizador (FS), fonte de luz e oxigênio molecular. Esse processo acontece devido à excitação eletrônica do fotossensibilizador que, a partir do estado excitado, pode retornar ao estado fundamental, por meio de emissão de energia na forma de fluorescência, ou dar origem a dois mecanismos principais de reação (BUZZÁ, 2012).

O mecanismo tipo I é quando há a interação direta do fotossensibilizador excitado com o substrato (componentes do sistema), gerando íons radicais. Esses radicais livres vão interagir quase que instantaneamente com o oxigênio no estado fundamental e formar intermediários de oxigênio altamente reativos que podem oxidar uma série de biomoléculas.

O mecanismo tipo II é quando há transferência de energia do fotossensibilizador no estado tripleto para o oxigênio molecular, gerando oxigênio singleto. O oxigênio singleto é uma forma reativa do oxigênio e é altamente citotóxico, sendo o principal mediador do dano celular causado pela PDT.

Os dois tipos de reação podem acontecer simultaneamente, portanto, entre os produtos formados é influenciada pelas características do fotossensibilizador, pela concentração de oxigênio e pelos substratos intracelulares. A morte celular causada pela PDT tem como principais mecanismos de ação a produção do oxigênio singleto e a indução da morte celular por apoptose.

Nesta terapia, moléculas do FS no estado excitado mediam a geração de espécies reativas de oxigênio que por sua vez, induzem ao processo de destruição oxidativa causando desintegração estrutural e inibição de atividades funcionais de estruturas celulares e como consequência, a inativação celular (QUEIROGA, 2010).

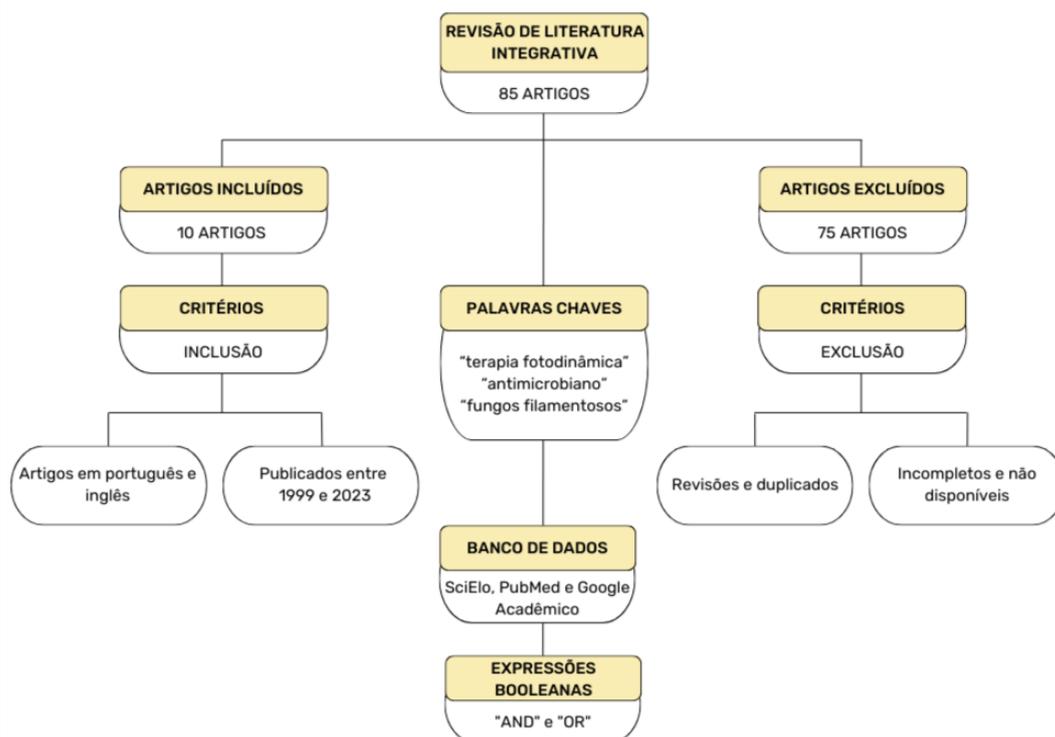
Esta terapia antifúngica é uma área de interesse crescente, pois apresenta-se como uma grande alternativa a diversos tratamentos, devido sua alta eficiência antimicrobiana, seletividade e caráter não invasivo. Diante deste cenário, a terapia fotodinâmica antimicrobiana é uma alternativa promissora no mercado e o histórico de sua aplicação vem mostrando excelentes resultados no tratamento e cura de diversas patologias, incluindo infecções fúngicas, bacterianas e tumores. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica contra fungos filamentosos.

1. METODOLOGIA

Esse estudo consistiu em uma revisão integrativa. Os critérios de elegibilidade definidos para inclusão de um artigo nesta revisão, trata-se da eficácia antimicrobiana na

terapia fotodinâmica, ter sido publicado em inglês ou português entre os anos de 1999 até 2023 e estar indexado nas bases de dados eletrônicas PubMed, SciElo e Google Acadêmico. As palavras chaves utilizadas foram “terapia fotodinâmica”, “antimicrobiano”, “fungos filamentosos”. A expressão booleana “AND” foi utilizada para encontrar os registros em que “terapia fotodinâmica” foi associado a pelo menos um outro termo descritivo listado. Observe a figura 1.

Figura 1: Fluxograma de metodologia de trabalho.



Fonte: Elaboração dos autores, 2023.

1. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em uma pesquisa experimental feito por Bacelli *et al.*, (2007), foi avaliado o efeito do azul de metileno (AM) como agente fotossensibilizante sobre a levedura *Candida albicans*. Os resultados mostraram que a aPDT foi capaz de inibir o crescimento da levedura, sendo que o agente fotossensibilizante do experimento ainda depende da densidade de energia empregada, sendo capaz de inibir o crescimento da *C. albicans*.

BRIANEZY *et al.*, (2023), realizaram uma pesquisa experimental sobre a atividade antifúngica da PFD associada à Curcumina (CUR), conhecida popularmente como açafrão da terra sobre cepas do fungo *Fusarium spp*. O resultado do experimento demonstrou eficaz atividade antifúngica, logo que, foi capaz de inibir o crescimento da maioria dos isolados

clínicos de *Fusarium* testados. Contudo, os autores relataram a necessidade da realização de mais estudos para adaptar as técnicas, com o intuito de encontrar uma fórmula que garanta que toda concentração testada seja fotoativada, melhorando a atividade antifúngica.

Em uma pesquisa experimental, analítica e qualitativa feito por Cavalcanti (2016), foi realizado um estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana da terapia fotodinâmica utilizando cloroalúminio ftalocianina em nanoemulsão (CIAIPc/NE) como fotossensibilizador em espécie de cepas isoladas de *Candida albicans*. Segundo o autor, pode-se dizer que a aPDT foi eficiente na redução de espécie de *C. albicans* e o melhor custo-benefício para a terapia foi o usando o tempo de 10 minutos e concentração de 20 μ U do CIAIPc/NE.

MARQUES (2022), realizou um estudo *in vitro* da inativação fotodinâmica do *Rhizopus oryzae*, utilizando *Photodithazine*, que é um pó composto por um tipo de alga, tendo a forma de sal de glucosamina e dissolvido em água, como fotossensibilizador. O estudo mostrou uma ótima resposta fotodinâmica, inibindo 94% do crescimento. Porém, o tratamento não foi capaz de inativar todas as hifas e o patógeno retomou o crescimento após 48 horas. Assim, a autora relata a necessidade de otimização do protocolo e novas investigações.

Em um estudo realizado por PRATES, *et al.*, 2010, foram selecionadas três espécies distintas de fungos. A *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*. O corante utilizado como fotossensibilizante foi o corante azul de metileno, o qual mostrou sua efetividade em uma série de estudos sobre fotoinativação microbiana. As células de *C. neoformans* mostraram-se mais resistentes à inativação quando comparadas com as espécies *C. albicans* e *C. krusei*. Ambas as espécies apresentaram comportamentos similares na resposta à PDT, onde a *C. albicans* ainda mostrou maior redução. A *C. krusei* consegue bombear moléculas tóxicas para fora da célula, fazendo com que a eficácia da aplicação não afere tanto, devido ao seu pouco acúmulo no citoplasma. O principal motivo da diferença de qualidade de eficácia nas espécies, está relacionada com o comprimento de onda de emissão do laser, sendo necessária a otimização de protocolos e estudos.

PIRES (2012), realizou um estudo sobre terapia fotodinâmica para inativação do *Pythium insidiosum*, testando como fotossensibilizantes o azul de metileno e o *Photodithazine*, onde relatou que as taxas de inibição no crescimento *in vitro* de *P. insidiosum* submetidos à PDT com *Photodithazine* mostraram-se superiores a 80% para todos os parâmetros avaliados na sua pesquisa após uma única sessão de PDT. É relatado também

que o azul de metileno não foi eficiente na inativação do microrganismo, sendo o Photodithazine sendo mais efetivo.

Em uma pesquisa realizada por Freire (2018), relata-se o efeito da PDT utilizando a clorina e6 (Ce6) como fotossensibilizador sobre o crescimento de *C. krusei*. O autor observou uma redução significativa do crescimento celular. O autor relatou que utilizando Ce6 como fotossensibilizador, tem a capacidade de inibir tanto o crescimento, quanto a formação de biofilme de *C. krusei in vitro*. Os dados obtidos por esse experimento, abrem caminho para mais pesquisas utilizando a PDT, o fotossensibilizador Ce6 e suas aplicações para tratamentos antifúngicos.

Majewski *et. al.*, (2014), realizou um estudo experimental utilizando um laser de Arseno de Gálio Alumínio e azul de metileno como fotossensibilizante sobre cepas do gênero *Candida*, sendo *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lipolytica* e *C. stellatoidea*. Foi observado que todas as cepas de *Candida albicans* e não-*albicans* analisadas foram resistentes ao tratamento utilizando o AM, havendo variação na redução nas cepas da mesma espécie e espécies diferentes. Os autores relataram que os resultados do estudo não foram satisfatórios quando comparados aos dados da literatura, contudo, concluíram que as cepas de *Candida* analisadas apresentaram sensibilidade ao laser de baixa potência na presença ou não de azul de metileno.

1659

Em um estudo comparativo realizado por Melo, *et al.*, 2012, foi relatado os problemas enfrentados na inativação fotodinâmica e amicrobianos. Neste estudo, os autores relataram que a eficácia da aPDT para os diferentes tipos de micro-organismos depende tanto do tipo quanto da concentração do fotossensibilizador, que é influenciado pelo sítio de ação.

Diante os estudos citados, observa-se que a maior relação de experimentos com a terapia fotodinâmica, é relacionada com a *Candida albicans*. Além de ser um fungo bastante comum de ser encontrado, sua hidrofobicidade superficial é menor em relação a outros gêneros de fungos, como a própria *Candida krusei*, por exemplo. Essa característica é responsável pela maior tendência de agregação de células quando estão na forma de levedura, e essa agregação celular pode dificultar a difusão do fotossensibilizador e a associação do oxigênio singlete à superfície celular.

Pode-se observar que há dificuldades na obtenção de bons resultados com a fotoinativação de algumas leveduras. Segundo Donnelly *et al.*, (2008) as leveduras são mais difíceis de serem mortas pela PDT porque possuem membrana nuclear e maior tamanho celular. A eficácia do tratamento também depende tanto do tipo quanto da concentração do

fotossensibilizador, é necessário novos estudos sobre a eficácia da terapia fotodinâmica sobre outros tipos de fungos.

I. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Numerosos tratamentos antifúngicos são administrados para tratar infecções. A terapia fotodinâmica vem se mostrando eficiente na inativação de fungos, vírus e bactérias. Uma das vantagens da técnica é a baixa probabilidade de seleção de micro-organismos resistentes.

A tendência de pesquisas futuras em PDT tem-se voltado para o desenvolvimento de novos sensibilizadores com características melhoradas, como por exemplo maior seletividade frente às células e ou tecidos-alvo, e maior absorvidade molar no seu máximo de absorção, de modo a permitir uma maior efetividade do tratamento.

No entanto, infelizmente, pouco tem sido feito no Brasil no sentido de estimular a pesquisa e o desenvolvimento nessa modalidade terapêutica, e conseqüentemente sua aplicação, embora deva-se reconhecer que este tema de pesquisa possui grande interesse estratégico. Assim, para que a PDT seja utilizada no tratamento de infecções, muitos estudos ainda são necessários para escolher um fotossensibilizador adequado e otimizar a aplicação da técnica.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, I. S. **Produção de colorantes naturais por cultivo submerso de *Talaromyces amestolkiae* e avaliação do seu potencial como agente fotossensibilizador para terapia fotodinâmica antimicrobiana.** Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2021.

BACELLI, G. K.; et al. **Estudo da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (PACT) em *Candida Albicans*.** XI Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino-Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2007.

BRIANEZY, L. S., CONRADO, P. C. V., MATOS, G. C. G., CAETANO, W., COTICA, E. S. K., MENCONÇA, P. S. B. **Avaliação da atividade antifúngica *in vitro* da curcumina associada a terapia fotodinâmica sobre espécies do *Complexo Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum*.** Research, Society and Development, v. 12, n.9. 2023.

BUZZÁ, H. H. **Avaliação do efeito vascular da terapia fotodinâmica empregando derivados de porfirina e clorina na membrana corioalantóica.** 2011. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012

CARUSO, Gláucia Rigotto. **Efeito da inativação fotodinâmica em fungos utilizando fotossensibilizadores fenotiazínicos associados a nanopartículas de prata.** Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. 2020.

- CAVALCANTI, T.M. **Terapia fotodinâmica antimicrobiana utilizando ftalocianina de cloroalumínio em nanoemulsão em espécie de *Candida albicans***. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2016.
- FREIRE, L. A. 2018. **Estudo do efeito da terapia fotodinâmica utilizando o fotossensibilizador clorina e6 em culturas de *Candida krusei***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, SP, 2018.
- JORI, G. **Photodynamic Therapy of Microbial Infections: State of the Art and Perspectives**. Vol 25, Ed. 1-2. 2006
- MACHADO, A. **Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas**. Instituto de Química - Universidade Federal de Uberlândia, 2000.
- MAJEWSKI M.; JORGE, A.O.C.; JUNQUEIRA, J.C. **Efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana em leveduras do gênero *Candida***. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, São Paulo, 2014.
- MARQUES, M. J. A. M. **Estudo in vitro da inativação fotodinâmica do *Rhizopus oryzae***. Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, São Carlos, 2022.
- MELO, W.C.M.A.; PERUSSI, J.R. **Comparando inativação fotodinâmica e antimicrobianos**. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. São Paulo, 2012.
- NÚÑEZ, S. C., RIBEIRO, M. S., GARCEZ, A. S. **PDT – Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana na Odontologia**. Editora Elsevier, 2013.
- PRATES, A.R.; SILVA, E.G.; SUZUKI, L.C.; PAULA, C.R.; RIBEIRO, M.S. **Parâmetros de irradiação influenciam na inativação de leveduras tratadas com terapia fotodinâmica**. Revista Brasileira de Física Médica, São Paulo, 2010.
- PIRES, L. **Terapia fotodinâmica para inativação do *Pythium insidiosum* – estudo in vitro e in vivo**. Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, São Carlos, 2012.
- QUEIROGA, Andréa Sarmiento. **Avaliação da atividade antimicrobiana da terapia fotodinâmica sobre a inativação de espécies do gênero *Candida*: Estudo In Vitro**. 2010.
- ROLIM, J. **The antimicrobial activity of photodynamic therapy against *Streptococcus mutans* using different photosensitizers**. Journal of Photochemistry and Photobiology, vol. 106. 2012.
- SIDRIM, J. J. C., MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- SILVA, AP. **Photodynamic inactivation of micro-organisms causing onychomycosis – clinical and in vitro study**. Physics Institute of São Carlos, University of São Paulo, 2012.