

22.019 ESTUDO COMPARATIVO DA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA EM CÉLULAS FÚNGICAS EM DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO E SUBMETIDAS A ENVELHECIMENTO CELULAR

Baptista, A. , Kato, I. T. , Nunez, S. C. , Ribeiro, M. S. ,
Centro de Lasers e Aplicações - (CLA/IPEN)

Introducao:

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) é baseada na utilização de um fotossensibilizador (FS) em combinação com uma fonte de luz com comprimento de onda ressonante ao espectro de absorção do FS. O processo fotodinâmico promove a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS- Reactive Oxygen Species), como peróxidos, radicais hidroxilas, íons superóxidos e oxigênio singleto, que levam à morte celular por estresse oxidativo. Diversos estudos têm demonstrado o potencial da aPDT para inativação de grande diversidade de patógenos, incluindo microrganismos resistentes a antibióticos. Uma célula microbiana possui quatro fases de crescimento bem estabelecidas: fase lag, fase exponencial, fase estacionária e fase de morte celular. Sabe-se que células em fase estacionária de crescimento apresentam maior resistência à aPDT do que células em fase logarítmica de crescimento. Além disso, o envelhecimento celular também promove alterações nas células microbianas, que podem favorecer suas defesas contra o estresse oxidativo promovido pelas ROS (Eukaryotic Cell.4:1654, 2005).

Objetivos:

O objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade da aPDT em *Candida albicans* em diferentes estágios de crescimento e submetidas a envelhecimento celular em meio condicionante.

Metodos:

Para os ensaios microbiológicos foram utilizadas *Candida albicans* (ATCC 90028) em diferentes estágios de crescimento (fase exponencial e fase estacionária) 24h e 48h respectivamente e células submetidas a envelhecimento celular (células em fase lag de crescimento – 6h, submetidas por 90min a um meio condicionante). As cepas de *C. albicans* foram repicadas em ágar Sabouraud dextrose e foram incubadas aerobicamente em estufa bacteriológica a 37°C por 24h ou 48h. Decorrido o tempo de incubação, colônias dos microrganismos foram suspensas em solução tampão fosfato-salino e ajustada em espectrofotômetro sob irradiação em $\lambda = 540\text{nm}$ e a transmitância ajustada em 60%, até a obtenção de suspensão padronizada contendo 10⁶ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL. Para a avaliação da susceptibilidade da *C. albicans* em diferentes estágios de crescimento e capacidade antioxidante, foi utilizado como fotossensibilizador o azul de metileno na concentração final de 50 mM. Como fonte de luz foi utilizado um laser de diodo com

comprimento de onda $\lambda = 660\text{nm}$ e $P = 40\text{mW}$. O tempo de pré-irradiação foi de 10min e o tempo de irradiação foi de 3, 6 e 9min.

Resultados:

O fotossensibilizador e a luz sozinhos, não demonstraram nenhuma toxicidade nas células fúngicas após incubação de 10 min no escuro ($P > 0,05$). A aPDT em células fúngicas em crescimento de 24 h (fase exponencial) reduziu o número de células viáveis em 1,5 log ($P < 0,05$) e o efeito observado foi fluência-dependente. As células fúngicas em fase estacionária de crescimento (48 h) e submetidas ao meio condicionante, não demonstraram redução no número de células viáveis ($P > 0,05$).

Conclusão:

Nossos resultados indicam que células submetidas a envelhecimento se comportam como células em fase de crescimento estacionário e são mais resistentes à aPDT.

Apoio Financeiro:

Nossos resultados indicam que células submetidas a envelhecimento se comportam como células em fase de crescimento estacionário e são mais resistentes à aPDT.

Comitê de Ética:

O experimento foi realizado in vitro