

## INVESTIGAÇÃO DO EFEITO FOTODINÂMICO EM CEPAS DE *Candida albicans* PRÉ-TRATADAS COM GLICOSE – ESTUDO *IN VITRO*

T. Oliveira-Silva\*, L. C. Suzuki\*\*, C. R. L. Leal\*, I. T. Kato\*\*\*, L. H. Alvarenga\*, Martha S. Ribeiro\*\* e R. A. Prates\*

\* Programa de Pós Graduação em Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde - Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, Brasil.

\*\* Centro de Lasers e Aplicações IPEN-CNEN/SP, São Paulo, Brasil.

\*\*\* Departamento de Engenharia Biomédica – Universidade Federal do ABC (UFABC), Santo André, Brasil.

e-mail: oliveira\_silva@icloud.com

**Introdução:** *Candida albicans* é um micro-organismo comensal presente em 80% dos indivíduos. No entanto, sua natureza oportunista pode causar severas infecções, sendo responsável por 15% dos casos de septicemia. Pode atingir indivíduos imunocompetentes e imunossuprimidos, causando infecções mais graves no segundo grupo. Sua alta patogenicidade está relacionada a sua capacidade formar biofilme, uma estrutura complexa capaz de proteger *C. albicans* de condições ambientais desfavoráveis. O tratamento convencional com azóis não tem se mostrado eficiente devido ao aumento da expressão dos sistemas de transporte por membrana da família ABC (*ATP Binding Cassette Transportes*). Frente ao cenário de resistência microbiana, há necessidade de investigar novas alternativas. Uma fototerapia promissora é a terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *phodynamic therapy*) que baseia-se na utilização de luz e fotossensibilizador (FS) na presença de oxigênio, formando espécies reativas de oxigênio que podem causar danos letais às células. *C. albicans* apresenta sensores de glicose relacionado ao seu dimorfismo (levedura-hifa), sua resposta à presença da glicose é pouco conhecida, mas acredita-se que gera um sinal intracelular que ativa os sistemas de transporte. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o papel da glicose ativação de uma via de entrada de fotossensibilizador para o citoplasma fúngico.

**Materiais e Métodos:** Para o desenvolvimento do estudo, foram selecionadas as cepas ATCC 10231, YEM 13 super-expressora de poros de difusão facilitada por membrana e sua cepa selvagem YEM 12; YEM 15 superexpressora de bombas de transporte ativo e sua cepa selvagem YEM 14. *C. albicans* foram cultivadas aerobicamente em ágar Sabouraud e incubadas a 30°C por 24h. Os inóculos microbianos foram divididos em 4 grupos: Controle sem tratamentos; grupo irradiado sem fotossensibilizador; toxicidade do fotossensibilizador (FS) e 3 grupos PDT com irradiação de 1, 3 e 6 min. Azul de metileno na concentração final de 100µM foi utilizado como fotossensibilizador. Todos os experimentos foram realizados com e sem glicose a 50 mM. Cada experimento foi repetido pelo menos 3 vezes. Após passar pelos tratamentos, as unidades formadoras de colônia foram contadas e os dados foram submetidos à análise estatística (ANOVA) e teste de Tukey.

**Resultados:** Os grupos irradiados sem FS não apresentaram inativação quando comparados ao grupo controle, bem como o azul de metileno não se mostrou tóxico nos parâmetros adotados no estudo. No entanto, a PDT causou morte celular proporcional a quantidade de luz entregue ao sistema. A cepa ATCC 10231 apresentou total inativação celular nos grupos com e sem glicose a partir de 3 min de irradiação. Por outro lado, as diferenças na inativação das cepas YEM 12/13 demonstram que a presença da glicose aumenta a entrada de FS e consequentemente aumenta a resposta à PDT. De maneira contrária, nas cepas YEM 14/15, a glicose promove uma espécie de proteção contra a ação da PDT. Isso pode ser relacionado à presença de bombas de transporte ativo, que com mais glicose disponível, podem bombear o FS do citoplasma. A compreensão do papel da glicose na inativação de leveduras pode elucidar mecanismos metabólicos de resposta à PDT e ser uma ferramenta importante na criação de modelos de estudos no desenvolvimento de técnicas antimicrobianas.

**Conclusões:** A presença de glicose pode ativar a entrada de azul de metileno no citoplasma fúngico e aumentar o efeito fotodinâmico. Por outro lado, a mesma presença de glicose pode ativar bombas de efluxo na membrana da levedura e expulsar fotossensibilizador de dentro do fungo.

**Referências:** [1] Megha Gulati, Clarissa J. Nobile (2016) “*Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms”, Institut Pasteur – Microbes and Infection, 310-321.. [2] Jeffrey Sabina and Victoria Beown (2009) “*Glucose sensing network in Candida albicans: a sweet spot for fungal morphogenesis*”, Eukaryotic Cell, 1314–1320.

**Palavras-chave:** Terapia fotodinâmica. Fototerapia. Dosimetria.

**Agência Financiadora:** Financiamento próprio.