

11/01/13

Marta Isabel Paiva Pereira Veloso

LEITURA

BIBLIOTECA

LEITURA INTERNA

Anfotericina B, Cetoconazol, Itraconazol e Fluconazol – Uso Terapêutico e Efeito sobre o Sistema Imune –

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2010

U. S. A.
1917-1918
A. H. C.

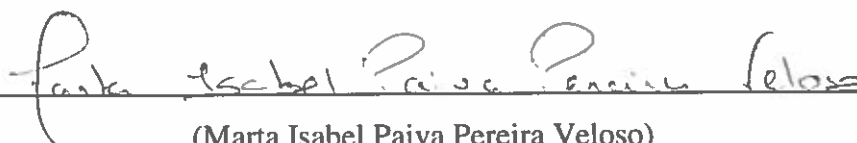
Marta Isabel Paiva Pereira Veloso

**Anfotericina B, Cetoconazol, Itraconazol e Fluconazol – Uso Terapêutico e Efeito
sobre o Sistema Imune –**

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2010

Marta Isabel Paiva Pereira Veloso

Anfotericina B, Cetoconazol, Itraconazol e Fluconazol – Uso Terapêutico e Efeito sobre
o Sistema Imune –



(Marta Isabel Paiva Pereira Veloso)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando
Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do
grau de Licenciada em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora:

Professora Doutora Fátima Cerqueira

Porto 2010

SUMÁRIO

A realização deste trabalho tem como objectivo o estudo do efeito imunomodulador do polieno anfotericina B e dos azóis cetoconazol itraconazol e fluconazol, numa tentativa de compreender como é que a sua actividade sobre o sistema imunológico pode, ou não, influenciar o sistema imunológico.

Os resultados obtidos a partir do estudo da actividade dos antifúngicos azólicos (fluconazol, cetoconazol e itraconazol) sobre os linfócitos T, demonstraram que alguns azóis estão envolvidos na mediação de actividades imunossupressivas da função das células T *in vitro*. O itraconazol é o fármaco com efeito supressor mais forte, enquanto que o fluconazol não causa inibição do *Multi-Level Cell* (MLC).

A imunopotenciação selectiva pela anfotericina B ao nível da resposta humoral, depende dos antigénios das células T e, além disso, evidências de efeitos preferenciais dos linfócitos T em suspensão, também indicam que uma subpopulação de células T é importante para a expressão dos efeitos adjuvantes. Os efeitos sobre a resposta proliferativa ao nível do antigénio *in vitro*, sugerem que os linfócitos T são responsáveis pela resposta reforçada por sensibilidade de contacto, induzida pela anfotericina B.

A principal conclusão tirada deste trabalho é que no caso de indivíduos imunodeprimidos sujeitos a terapêuticas de tratamento ou profilaxia com os fármacos – itraconazol, fluconazol cetoconazol e anfotericina B – em estudo, deve haver um rigoroso critério de escolha do fármaco a administrar, uma vez que o risco de diminuição de proliferação de linfócitos é um dos efeitos adversos que se poderá manifestar e que em nada irá ser favorável ao aumento das defesas no indivíduo a tratar.

AGRADECIMENTOS

“Apesar do processo solitário a que qualquer investigador está destinado, reúne contributos de várias pessoas.”

Esta foi uma citação que encontrei durante a realização de um trabalho de investigação, mas a qual subscrevo com a certeza que nunca foi tão verdadeira quanto agora.

Gostaria de começar por agradecer a Deus, sem Ele nada seria possível.

À Professora Doutora Fátima Cerqueira, que desde logo aceitou a orientação deste trabalho, pelo estímulo e entusiasmo revelado, pelas críticas e sugestões relevantes feitas durante a orientação, pela disponibilidade sempre revelada, pelo incansável apoio moral e, sobretudo pela amizade e confiança demonstradas.

Aos meus pais por tudo o que sou. Agradeço o amor, a compreensão, a paciência e todo o resto que só os pais nos sabem ensinar! Jamais esquecerei tudo o que fizeram e continuam a fazer por mim. Tenho muito orgulho em vocês.

À minha irmã, por toda a amizade e cumplicidade que fomos construindo ao longo das nossas vidas. Pelo incentivo, críticas mas acima de tudo pelo seu contagiante sentido de humor.

Ao Nuno, pelo amor, compreensão e incentivo ao longo desta etapa. Estiveste sempre presente e isso jamais poderei esquecer.

Ao Dr. Pedro e aos professores do ISCE – Colégio de Guimarães. A todos os professores que tive ao longo da licenciatura, e particularmente ao Digníssimo Reitor Professor Doutor Salvato Trigo pela forma única como acredita e vive esse processo tão único que nos torna profissionais – o projecto Universidade Fernando Pessoa. Obrigada!

ABREVIATURAS

Ag – Antígeno

CD – *Cluster of Differentiation/Designation*

DNBSO₃ – 2,4-dinitrobenzeno-1-sulfonato de sódio

DNFB – Dinitroflúorbenzeno

MHC – *Major Histocompatibility Complex*

MLC – *Multi-Level Cell*

NK – *Natural Killer*

SC – Sensibilidade de Contacto

SIDA – Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

SNC – Sistema Nervoso Central

Tc – Linfócitos T citotóxicos

TCR – *T cell receptor*

Th – Células T *helper*

Ts – Células T supressoras

ÍNDICE

SUMÁRIO.....	1
AGRADECIMENTOS.....	2
ABREVIATURAS.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. AZÓIS.....	10
Mecanismo de Acção.....	10
Resistência aos Azóis.....	10
2.1. Imidazóis.....	12
2.2.1. Cetoconazol.....	12
Espectro de acção.....	13
Mecanismos de resistência.....	13
Posologia.....	14
Efeitos adversos.....	14
Indicações clínicas	15
2.2. Triazóis.....	15
Espectro de acção.....	15
Resistência aos derivados triazólicos.....	16
2.2.1. Fluconazol.....	16
Posologia.....	17
Efeitos adversos.....	18
Interacções medicamentosas.....	18
Indicações clínicas.....	19
2.2.2. Itraconazol.....	19
Posologia.....	20

Efeitos adversos.....	21
Interacções medicamentosas.....	21
Indicações clínicas.....	22
2.2.3. Voriconazol.....	22
3. POLIENOS.....	23
3.1. Anfotericina B.....	24
Espectro de actividade antifúngica.....	25
Mecanismos de resistência.....	25
Farmacocinética.....	26
Posologia.....	27
Efeitos adversos.....	28
Interacções medicamentosas.....	29
Indicações clínicas.....	29
Formulações lipídicas de Anfotericina B.....	29
4. SISTEMA IMUNOLÓGICO.....	31
4.1. Interferência dos Antifúngicos com o Sistema Imunológico Humano.....	33
<i>Efeito dos Azóis (fluconazol, cetoconazol e itraconazol) na proliferação linfócitos T.....</i>	33
<i>Efeito de imunopotenciação da Anfotericina B.....</i>	36
5. CONCLUSÃO.....	38
6. BIBLIOGRAFIA.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Cronologia de introdução dos antifúngicos no mercado.....	8
Figura 2: Síntese do Ergosterol e local de acção de alguns compostos antifúngicos.....	10
Figura 3: Estrutura molecular do Cetoconazol.....	12
Figura 4: Estrutura molecular do Fluconazol.....	16
Figura 5: Estrutura molecular do Itraconazol.....	19
Figura 6: Estrutura molecular do Voriconazol.....	22
Figura 7: Formação de poros na membrana celular fúngica.....	23
Figura 8: Estrutura molecular da Anfotericina B.....	24
Figura 9: Formulações lipídicas da Anfotericina B.....	30
Figura 10: Visão geral das respostas imunes humoral e mediada por células do sistema imunológico.....	32

1. INTRODUÇÃO

Os fungos incluem organismos de forma e dimensões muito variadas, sendo conhecidos como leveduras, bolores, mofo, mofo e cogumelos. Os fungos leveduriformes são fungos unicelulares. Os restantes, que constituem a grande maioria, são fungos filamentosos, pluricelulares (Ferreira e Sousa, 2000).

São dos principais microrganismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, interferindo no ciclo do carbono, do azoto e de outros nutrientes da biosfera. Encontram-se descritas cerca de 100.000 espécies de fungos, que desempenham um papel importante na vida do Homem, quer de uma maneira benéfica, quer de um modo prejudicial. Para o Homem e animais estão descritas cerca de 150 espécies de fungos, reconhecidas como patogénicas específicas ou primárias. No entanto, os fungos são usados em numerosos processos industriais de fabricação de pão, cervejas, vinhos e determinados tipos de queijos. São ainda usados na produção comercial de muitos ácidos orgânicos, de alguns fármacos, como a ergometrina e a cortisona, na obtenção de alguns antibióticos, de que são exemplos a penicilina e a griseofulvina, e de substâncias imunossupressoras, como a ciclosporina (Ferreira e Sousa, 2000).

Nos últimos vinte anos, a frequência de infecções fúngicas sistémicas, principalmente as oportunistas invasivas, têm aumentado drasticamente. O aumento do número de infecções fúngicas deve-se a factores como a imunossupressão causada pelo Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), ou induzido para transplantes ou, ainda, resultante da quimioterapia anti-tumoral (Pinto *et al.*, 2006). O recurso a compostos antifúngicos, na profilaxia e tratamento de infecções oportunistas em pacientes imunodeprimidos, surge assim como medida imperativa, criando a necessidade de novas opções terapêuticas (Figura 1).

Os agentes antifúngicos actualmente disponíveis são divididos em cinco classes principais, de acordo com o seu mecanismo de acção: os polienos que interagem com os esteróis da membrana; os azóis e as alilaminas que inibem a biossíntese do ergosterol; as equinocandinas, que inibem a síntese da parede celular; e os inibidores da síntese de ácidos nucleicos (5-flucitosina e griseofulvina) (Ghannoum e Rice, 1999; Murray *et al.*, 2004).

compreender como é que a sua actividade sobre o sistema imunológico pode, ou não, influenciar o sistema imunológico. Foram escolhidos estes antifúngicos, dentro de cada um dos grupos, por serem de uso oral e intravenoso, tendo-se excluído o voriconazol por ter sido recentemente introduzido na prática clínica e pelo meu conhecimento não haver ainda estudos publicados relativos à sua interacção com o sistema imunológico. Foram ainda excluídas as equinocandinas pelos mesmos motivos.

Diminuem a concentração de ergosterol na membrana citoplasmática, levando à acumulação de 14- α -metilesteróis, tais como lanosterol e 4,14-dimetilzimosterol. Estes metilesteróis não possuem a mesma forma e propriedades físicas que o ergosterol, o que leva a que a membrana celular passe a ter a sua permeabilidade aumentada e perca catiões, proteínas e outros elementos vitais, que não permitem o desempenho das funções básicas necessárias ao desenvolvimento do fungo, acabando por provocar o rompimento da membrana (Bergold e Georgiadis, 2004; Brooks *et al.*, 2005).

Com excepção do cetoconazol, itraconazol e fluconazol, os derivados imidazólicos utilizam-se unicamente em aplicação tópica.

Mecanismo de Resistência aos Azóis

A maior parte dos casos de resistência estudados foi observada na classe dos azóis. São vários os mecanismos pelos quais as células fúngicas podem desenvolver resistência aos azóis: (i) diminuição de acumulação do fármaco na célula fúngica por bombas de efluxo (CDR e FDR); (ii) mutação pontual do gene Erg 11 que codifica para a lanosterol-desmetilase; (iii) expressão aumentada de Erg 11 com aumento do alvo do fármaco e (iv) mutações noutras enzimas da biossíntese do ergosterol (Erg com alteração na Cs(6) – desaturase) (Fryberg, 1974; Kontoyiannis e Lewis, 2002; Richardson e Warnock, 2003; Sanglart *et al.*, 2003; Vanden Bossche *et al.*, 1997). A alteração do local de acção do fármaco, faz com que este deixe de o reconhecer e, conseqüentemente, o antifúngico deixa de ter actividade, ou seja, existe uma menor afinidade entre o antifúngico e o local activo (Ghannoum e Rice, 1999).

Uma alternativa ao desenvolvimento da resistência aos antifúngicos foi recentemente estudada através da capacidade dos fungos patogénicos para construir biofilmes. Estes podem constituir uma barreira física para a eficiente penetração dos antifúngicos. Foi descrito em *Candida albicans* que a expressão dos genes envolvidos na resistência aos azóis pode ser alterada em biofilmes (Sanglart *et al.*, 2003).

A aquisição de resistência em fungos patogénicos é, provavelmente, favorecida pelo repetido uso destes antifúngicos (especialmente o fluconazol) no tratamento de pacientes com VIH, que possuam infecções fúngicas, em períodos de introdução da terapia activa antiretroviral. A

resistência aos azóis foi detectada principalmente em *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* e *C. tropicalis* (Kontoyiannis e Lewis, 2002).

Nas infecções fúngicas sistêmicas, em pacientes imunodeprimidos, é menos frequente o aparecimento de resistências, tendo sido apenas descritos casos de resistência aos azóis por parte de *C. albicans* (Marr *et al.*, 1997). A aquisição de resistência aos azóis em fungos filamentosos, como *Aspergillus fumigatus*, foi observada em poucos casos e apenas após tratamento com itraconazol (Warnock *et al.*, 1999).

2.1. Imidazóis

2.1.1. Cetoconazol

Introduzida na prática médica em 1980 (Figura 3), foi o primeiro antifúngico específico disponível para ser usado por via oral.

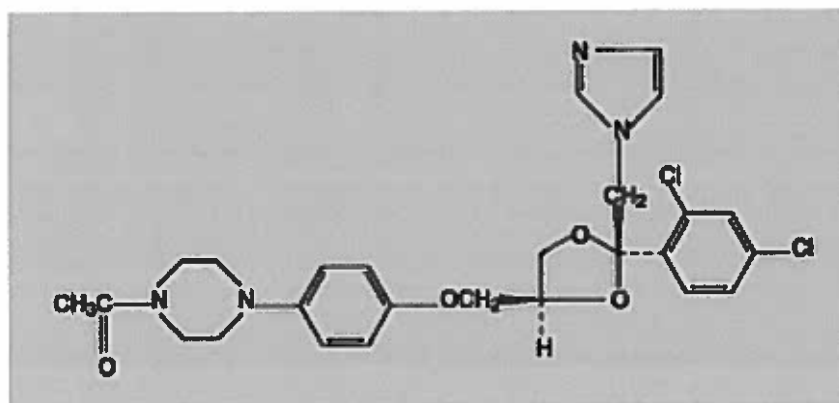


Figura 3: Estrutura molecular do Cetoconazol (Fonte: <http://www.scielo.br/img/revistas/rbcf/v43n2/16f1.gif>; Consultado em 11 de Janeiro de 2010)

Como referido anteriormente, o cetoconazol foi o primeiro composto do grupo dos azóis que permitiu, após administração por via oral, tratar com sucesso infecções fúngicas sistêmicas (Caramona *et al.*, 2004).

Rapidamente absorvido por via oral, é metabolizado no fígado, atingindo níveis séricos máximos em 2 horas. Os metabolitos inactivos são excretados na bilis. Mais de 90% liga-se às proteínas plasmáticas, especialmente à albumina, apresentando uma fraca penetração no Sistema Nervoso Central (SNC) não sendo, por isso, usado no tratamento de meningites (Murray *et al.*, 2004).

Tem um tempo de semi-vida de 1 a 4h. A sua concentração na urina é baixa – correspondendo entre 2 a 4% da concentração séria. A sua forma activa pode ser encontrada no suor, o que aumenta a sua eficácia no tratamento de micoses superficiais. Pelo contrário, a sua concentração nas glândulas salivares é baixa. Este facto explica a sua baixa acção sobre a candidose esofagiana. Apresenta elevada afinidade pela queratina ungueal, podendo ser detectado na porção distal da unha após o seu uso (www.bibliomed.com).

Espectro de acção

O cetoconazol apresenta um amplo espectro de acção, que inclui fungos dermatófitos e dimórficos. Possui menor actividade contra as espécies *C. krusei* e *C. glabrata* (Murray *et al.*, 2004).

Está indicado para o tratamento de micoses sistémicas, micoses gastrointestinais resistentes, candidoses mucocutâneas resistentes e infecções da pele devidas a dermatófitos (Caramona *et al.*, 2004).

Mecanismos de resistência

A resistência ao cetoconazol foi documentada, inicialmente, em pacientes com candidose mucocutânea que foram tratados com cetoconazol por longos períodos de tempo (Sanglart *et al.*, 2003).

Os mecanismos de resistência incluem alterações enzimáticas, diminuição da permeabilidade celular ao cetoconazol e o seu efluxo do interior da célula, diminuindo a sua concentração

intracelular. Alguns fungos desenvolvem resistência cruzada com outros compostos azólicos (Mims *et al.*, 1999).

Posologia

O cetoconazol deve ser administrado sempre às refeições, uma vez que a sua absorção ideal se dá em meio ácido. O cetoconazol está disponível para administração em comprimidos de 200mg. O tratamento da candidose orofaríngea deve ser iniciado com 200mg/dia e mantido por duas semanas. Para infecções mais extensas nas mucosas, como a candidose esofágica, a terapia deverá ser iniciada com 400mg/dia. Nas infecções sistêmicas extrameningeas em pacientes imunocompetentes, como histoplasmose e paracoccidioidomicose, a terapia deve ser iniciada com 400mg/dia e mantida por 6 a 12 meses. No entanto, na paracoccidioidomicose o tratamento deve ser mais prolongado a fim de prevenir a recaída das lesões. A dose poderá ser aumentada para 600 a 800mg/dia ou mais, nos pacientes que não respondam ao esquema inicialmente proposto, no entanto a toxicidade a nível hepático aumenta muito com essas doses, apresentando um pequeno benefício comparativamente com a sua eficácia (www.bibliomed.com).

Não deve ser utilizada em crianças, a não ser que os benefícios superem os riscos. Nesses casos recomenda-se 3,3 a 6,6 mg/kg/dia por via oral, em dose única diária. Durante a gravidez é considerado uma droga de classe C, mostrando-se teratogênicos em ratos. Não deverá ser utilizada durante a lactação, uma vez que é eliminado no leite. Não são necessários ajustes nas dosagens com pacientes com disfunção renal ou insuficiência hepática moderada (www.bibliomed.com).

Efeitos adversos

Os efeitos adversos mais frequentemente relacionados com o uso de cetoconazol referem-se ao tracto gastrointestinal, incluindo náuseas, vômitos e anorexia. Estes efeitos estão directamente relacionados com a dose, ocorrendo em 20% dos pacientes que administram 400mg/dia e em 30% dos pacientes que administram o dobro desta dose terapêutica. A erupção cutânea ocorre em menos de 5% dos pacientes. Pode causar inibição da síntese de esteróides (testosterona e cortisol), promovendo o surgimento de ginecomastia, diminuição da

libido e impotência sexual. Em tratamentos prolongados ou com doses mais elevadas, pode provocar alterações hepáticas, caracterizadas por elevações discretas e assintomáticas das transaminases, que voltam aos limites normais sem ajustes posológicos. O aparecimento dos sintomas ocorre após alguns dias, mas, estes podem desenvolver-se após semanas a meses de tratamento (Murray *et al.*, 2004; Osswald e Guimarães, 2004).

Indicações clínicas

As indicações são limitadas devido à eficácia superior e à menor toxicidade dos novos azólicos. O cetoconazol é efectivo em micoses extrameningeas leves a moderadas em pacientes imunocompetentes, sendo o fármaco de eleição para o tratamento de candidose mucocutânea crónica. No caso de ausência de resposta ao tratamento da candidose orofaríngea ou esofagiana nos pacientes com VIH, recomenda-se a realização de testes de sensibilidade do fungo ao fluconazol e ao itraconazol. A actividade terapêutica do cetoconazol na paracoccidioidomicose tem sido comparada com a da Anfotericina B, com as vantagens do uso oral e da melhor tolerância. Não tem acção contra espécies de *Aspergillus* sp e *Cryptococcus* sp (Mims *et al.*, 1999; Murray *et al.*, 2004).

2.2. Triazóis

Os triazóis são os fármacos com maior resistência a degradação metabólica, representando uma acção de maior especificidade de ligação ao citocromo P-450 da célula fúngica, bem como maior potência e espectro de acção antifúngica em relação ao cetoconazol e menor toxicidade, por terem uma baixa acção sobre o citocromo P-450 dos mamíferos (Mims *et al.*, 1999; Murray *et al.*, 2004).

Espectro de acção

Uma vez que apresentam uma maior resistência à degradação metabólica, que aumenta a sua acção antifúngica, os triazóis são considerados fármacos de acção fungistática de amplo espectro. Os triazóis são principalmente activos contra dermatófitos, como *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* e

Sporothrix schenckii. São menos activas contra *C. glabrata* e inactivos contra *C. krusei*. A actividade em *Aspergillus* é restrita ao itraconazol (Mims *et al.*, 1999; Saag e Dismukes, 1988).

Resistência aos triazóis

A *C. albicans* desenvolve resistência adquirida ao fluconazol após uma terapia supressiva prolongada com azólicos na candidíase orofaríngea em pacientes com infecção por VIH avançado. No entanto, a extensão e o grau de resistência não estão totalmente estabelecidas e podem afectar a sensibilidade do microrganismo ao itraconazol (Sanglart *et al.*, 2003;).

A resistência adquirida ao fluconazol ocorre em alguns pacientes com meningite por *C. neoformans*, durante a terapia de manutenção. A transmissão de estirpes resistentes pode ocorrer entre portadores de infecção por VIH (Brooks *et al.*, 2005).

2.2.1. Fluconazol

O fluconazol (Figura 4) está disponível em formulações para administração parenteral e oral.

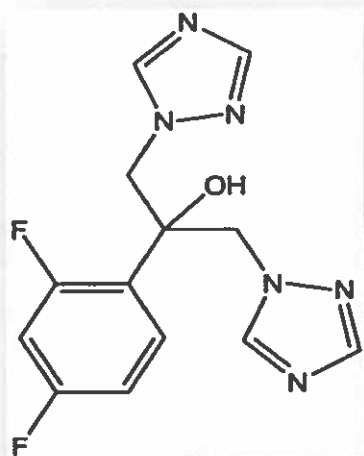


Figura 4: Estrutura molecular do Fluconazol (Fonte: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a8/Fluconazole_structure.png/220px-Fluconazole_structure.png; Consultado em 11 de Janeiro de 2010)

A sua absorção por via oral é rápida e completa, não é alterada por alimentos ou pelo pH gástrico e apresenta concentrações séricas semelhantes à administração intravenosa – biodisponibilidade acima de 90%. A sua ligação a proteínas plasmáticas é baixa (cerca de 2%), circulando principalmente sob a forma livre. Em termos de fluidos corporais, o fluconazol atinge uma elevada concentração sérica, distribuindo-se bem pelo organismo, penetrando praticamente em todos os tecidos, inclusive no cérebro e meninges, apresentando uma concentração no líquido cefalorraquidiano, cerca de 70 a 90% superior à concentração plasmática. Penetra na unha e no leito ungueal, e alcança o leito ungueal da unha distal dos pés poucas semanas após o início do tratamento, permanecendo no local vários meses após a suspensão da medicação. O seu tempo de semi-vida é, aproximadamente, de 30 horas, podendo chegar a 98 horas em pacientes com insuficiência renal grave. Pouco metabolizado, este fármaco tem mais de 80% da sua dose excretada sem metabolização por via renal (Ghannoum e Rice, 1999; Marr *et al.*, 1997).

Posologia

Nos adultos, a dose recomendada é de 100 a 400mg/dia, podendo chegar, nas infecções mais graves, a 800mg/dia. Nas crianças recomenda-se 3 a 6mg/kg/dia, em bebés prematuros a dose é igual à utilizada em crianças, aumentando-se apenas o intervalo posológico para 72 horas, nas primeiras duas semanas de vida, e para 48 horas na terceira e quarta semanas. Em casos mais graves e em doentes imunodeprimidos, podem usar-se 10 a 12mg/kg/dia. A dose de manutenção deve ser ajustada em pacientes com insuficiência renal, excepto quando o tracto urinário baixo é o alvo da acção do fármaco (www.bibliomed.com).

Embora não necessite de redução da dose, o uso de fluconazol em pacientes com insuficiência hepática deve ser acompanhado de monitorização cuidadosa da função hepática. Já foram descritos efeitos teratogénicos no Homem, por isso o fármaco está contra-indicado durante a gravidez, devendo também ser evitado durante o período de amamentação, por ser eliminado no leite (www.bibliomed.com).

Efeitos Adversos

O fluconazol é, em geral, bem tolerado. Doses superiores a 1600mg/dia podem resultar em hepatotoxicidade. O uso de 100 a 400mg/dia por um período de sete dias, pode causar efeitos adversos em 16% dos pacientes, no entanto, apenas em 2,8% desses casos a gravidade é suficiente para requerer a descontinuação do fármaco (Marr *et al.*, 1997; Richardson e Warnock, 2003).

Náuseas e vômitos ocorrem em menos de 5% dos pacientes. Erupções e cefaleias, geralmente reversíveis, são observadas em menos de 2% dos casos. Em mais de 7% dos pacientes ocorrem elevações assintomáticas das transaminases (Murray *et al.*, 2004).

Em 12% das crianças, em que estejam a ser administradas doses que podem variar entre 1 a 12mg/kg/dia, ocorrem efeitos colaterais ou toxicidade, com predomínio de alterações gastrointestinais. Em 5% dessas crianças pode haver o aumento de transaminases, e em apenas 1% pode haver reacções cutâneas. No entanto, em cerca de 2,4% das crianças é necessário suspender o tratamento (Murray *et al.*, 2004).

Lesão hepática grave ou hepatite medicamentosa é muito rara. Contrariamente ao cetoconazol, nas doses normalmente prescritas o fluconazol não altera a síntese das hormonas esteróides (Richardson e Warnock, 2003).

Interacções Medicamentosas

O fluconazol está contra-indicado em associação com cisaprida, terfenadina e astemizol, pelo risco de provocar arritmias cardíacas graves (www.bibliomed.com).

O fluconazol pode precipitar a toxicidade da fenitoína, além de potenciar os efeitos da varfarina (aumento da concentração sérica), sulfonilureia e benzodiazepinas. O aumento da hepatotoxicidade deve ser avaliado cuidadosamente, quando se associa o fluconazol com fármacos que sejam metabolizados ao nível do citocromo P-450 (www.bibliomed.com).

Disponível em soluções orais ou em cápsulas, uma vez que é solúvel apenas em pH baixo, a biodisponibilidade ideal do fármaco pode ser melhorada quando administrada juntamente com alimentos. A absorção das formulações encapsuladas é comprometida no período pós-pandrial e em pacientes com terapêutica que inclua bloqueadores H₂, omeprazol ou anti-ácidos. Em pacientes oncológicos com granulocitopenia e em portadores de VIH com hipocloridria gástrica, a absorção do itraconazol é errática (Ghannoum e Rice, 1999).

A formulação endovenosa do fármaco está em estudo, estando a revelar ser bem tolerada. Cerca de 95% do itraconazol liga-se às proteínas plasmáticas, sendo amplamente distribuído pelo organismo e a sua concentração em diversos órgãos, inclusive o cérebro, excede os níveis plasmáticos cerca de duas vezes. Penetra bem na unha e atinge o leito ungueal nos dedos dos pés duas semanas após o início do tratamento, persistindo por nove a doze meses, mesmo que a sua concentração plasmática seja baixa (www.bibliomed.com).

O itraconazol é metabolizado no fígado – extensa metabolização ao nível do citocromo P-450 – e excretado como metabolito inactivo quase exclusivamente pela bÍlis e pela urina (Ghannoum e Rice, 1999).

Dos mais de trinta metabolitos conhecidos, apenas o hidróxido de itraconazol possui actividade antifúngica (Murray *et al.*, 2004).

Em voluntários saudáveis, após dose única, o itraconazol apresenta um tempo de semi-vida de 15 a 25 horas e de 34 a 41 horas após doses acumuladas que podem variar entre 100 a 400 mg/dia (Ghannoum e Rice, 1999).

Posologia

Em adultos a dose recomendada é de 100 a 400 mg/dia. Nas infecções graves, como ocorre na aspergilose invasiva e nos pacientes imunodeprimidos, deve-se começar com uma dose que varia entre 600 e 800 mg/dia. Nesse caso, a concentração sérica do fármaco deve ser monitorizada (www.bibliomed.com).

Em crianças a dose de fármaco ainda não está estabelecida, sendo que em crianças entre os três e os dezasseis anos têm sido usadas doses de 100mg/dia (www.bibliomed.com).

Em pacientes com disfunção renal, a fazer hemodiálise ou em diálise peritoneal, não são necessários ajustes posológicos. A farmacocinética e a segurança do fármaco em pacientes com insuficiência hepática ainda não foram sistematicamente estudadas (www.bibliomed.com).

É teratogénico em ratos estando por isso contra-indicado na gravidez, excepto nas infecções fúngicas graves, onde não existem alternativas terapêuticas. Excretado no leite materno, a relação risco benefício deve ser convenientemente avaliada (www.bibliomed.com).

Efeitos Adversos

Bem tolerado, apresenta poucos efeitos colaterais em pacientes utilizando doses superiores a 400 mg/dia por períodos prolongados (Murray *et al.*, 2004).

A maioria das reacções é transitória e incluem náuseas, vômitos, desconforto abdominal, diarreia, hipocalcemia, aumento das transaminases, erupções ou prurido, cefaleia ou zumbidos. Apenas em 4% dos pacientes a toxicidade pode levar à suspensão da terapêutica (Richardson e Warnock, 2003).

Interações Medicamentosas

O itraconazol apresenta interações com fármacos metabolizados pelo citocromo P-450, fármacos antibacterianos, antivíricos, anti-ácidos ou indutores da citocromo P-450. O nível sérico desses fármacos e do itraconazol devem ser monitorizados nas situações em que seja imprescindível o seu uso em associação (www.bibliomed.com).

Indicações Clínicas

Bastante activo no tratamento da aspergilose invasiva, é o fármaco de eleição para o tratamento de esporotricose linfocutânea e na histoplasmose não invasiva extrameníngea. É eficiente no tratamento da paracoccidioidomicose (Mims *et al.*, 2004).

Possui uma acção efectiva na profilaxia primária de infecções fúngicas sistémicas em pacientes com VIH, em estado avançado, que residem em áreas em que a prevalência da histoplasmose é elevada (Murray *et al.*, 2004).

2.2.3. Voriconazol

Desenvolvido pela Pfizer, o voriconazol (Figura 6) é um antifúngico triazólico de segunda geração. A sua estrutura molecular é semelhante à do fluconazol, mas apresenta um heterociclo pirimidina fluorado e mais um grupo metil (www.pfizer.com/download/uspi_vfend.pdf).



Figura 6: Estrutura molecular do voriconazol. (Fonte: <http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/Figura1.JPG>. Consultado em 12 de Janeiro de 2010)

O seu mecanismo de acção é semelhante aos dos restantes azóis, sendo indicado para o tratamento de aspergilose invasiva e infecções fúngicas graves causadas por *Scedosporium apiospermum* e *Fusarium* spp. em pacientes que não respondam ou tolerem outras terapias (www.pfizer.com/download/uspi_vfend.pdf). O voriconazol é activo contra as espécies *C.*

krusei e *C. glabrata* resistentes ao fluconazol. O voriconazol mostra ainda boa actividade contra *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporom beigelli* e *Saccharomyces cerevisiae*. A combinação do voriconazol com outros fármacos antifúngicos é uma opção que está a adquirir alguma importância como terapêutica alternativa nos casos de infecção por fungos menos sensíveis à monoterapia antifúngica habitual (www.paulomargotto.com.br, consultado em 12 de Janeiro de 2010).

Encontra-se disponível em formulações oral e endovenosa. A dose recomendada para adultos é de 6mg/kg a cada 12 horas, seguida de uma dose de manutenção de 4mg/kg a cada 12 horas (www.paulomargotto.com.br).

Os principais efeitos adversos do fármaco são distúrbios visuais transitórios, rash cutâneo e aumento da actividade das transaminases hepáticas (Georgopapadaku, 2002).

3. POLIENOS

Os polienos ligam-se ao ergosterol presente na membrana celular de fungos sensíveis, formando poros ou canais. O resultado é uma alteração na permeabilidade da membrana, que permite o extravasamento de diversas pequenas moléculas, levando à morte celular (Figura 7) (Bergold e Georgiadis, 2004).

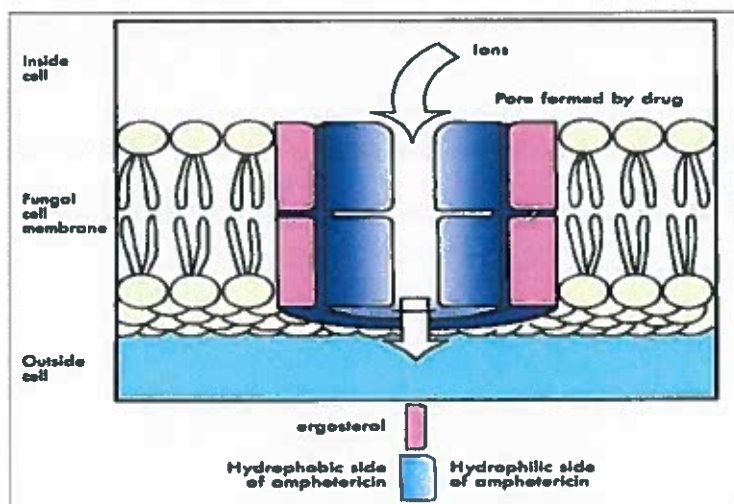


Figura 7: Formação de poros na membrana celular fúngica (Fonte: <http://www.google.pt/#hl=ptPT&q=mecanismos+de+ac%C3%A7%C3%A3o+antifungicos+azolicos&meta=&aq=&oq=mecanismos+de+ac%C3%A7%C3%A3o+antifungicos+azolicos&fp=c1a343fde3e30350>. Consultado em 12 de Janeiro de 2010)

A resistência aos polienos, anfotericina B e nistatina, é rara, sendo que as espécies que possuem resistência primária são por exemplo, *C. lusitanae*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *Fusarium* spp.. No entanto, o número de infecções provocadas por estas espécies de fungos é baixo, quando comparado com *C. albicans* (Carrillo e Guarro, 2001). Esta resistência pode ser devida a uma alteração qualitativa ou quantitativa na composição dos esteróis na membrana. De acordo com a hipótese referida, as células resistentes com os esteróis alterados teriam menos afinidade para os polienos do que as células susceptíveis (Ghannoum e Rice, 1999). Esta diminuição de ligação dos polienos mutantes de *C. albicans* pode ser atribuída a uma diminuição do ergosterol existente na célula, sem mudanças na composição do esterol; substituição dos esteróis por outros que possuam menor afinidade para os polienos e/ou reorientação ou ocultação do ergosterol existente, fazendo com que a ligação à anfotericina B seja menos favorável do ponto de vista estereoquímico e termodinâmico (Ghannoum e Rice, 1999).

3.1. Anfotericina B

Produzida por *Streptomyces nodosus*, a anfotericina B (Figura 8) apresenta-se como um antifúngico eficaz no tratamento de micoses humanas.

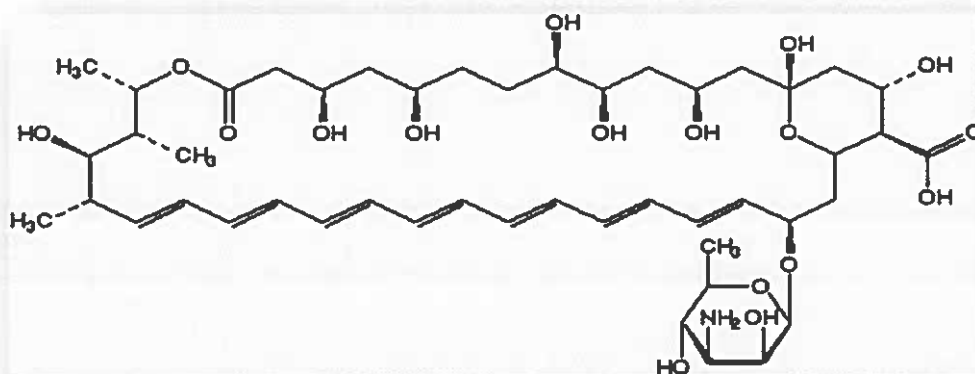


Figura 8: Estrutura molecular da Anfotericina B (Fonte: <http://www.google.pt/#hl=ptPT&q=mecanismos+de+ac%C3%A7%C3%A3o+antifungicos+azolicos&meta=&q=&oq=mecanismos+de+ac%C3%A7%C3%A3o+antifungicos+azolicos&fp=c1a343fde3e30350>. Consultado em 12 de Janeiro de 2010)

A principal acção da anfotericina B caracteriza-se pela destruição da membrana celular do fungo, através da sua ligação ao ergosterol. Esta apresenta também uma baixa afinidade de ligação com o colesterol. Este último mecanismo justifica a toxicidade do fármaco, uma vez que devido à afinidade da anfotericina B para com o colesterol, esta permanece ligada aos tecidos por longos períodos de tempo, entrando depois lentamente na circulação sanguínea (www.bibliomed.com).

A administração de doses baixas de anfotericina B resulta na perda de cationes e de pequenas moléculas pela célula fúngica – acção fungistática do fármaco. Por outro lado, doses mais elevadas e doses acumuladas resultam na perda de constituintes celulares, alterações metabólicas e morte celular – acção fungicida. Devido à sua acção fungistática e fungicida, a anfotericina B é um fármaco de largo espectro de acção (www.bibliomed.com).

Espectro de Actividade Antifúngica

A anfotericina B apresenta maior espectro de acção entre os antifúngicos, sendo particularmente indicada nas infecções fúngicas invasivas. Apresenta actividade antifúngica contra *Sporothrix schenckii*, *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatidis*, *Aspergillus* spp., *Penicillium marneffeii* e *Candida* sp.. O seu espectro de acção alarga-se ainda a protozoários, como *Leishmania donovani* e *Leishmania brasiliensis* (Richardson e Warnock, 2003).

A sua concentração inibitória mínima para as diversas espécies de *Candida* sp varia entre 0,02 e 2,0 mg/mL, mas a importância clínica dos testes de sensibilidade antifúngica permanece indefinida. Alguns autores consideram que a falência terapêutica da anfotericina B no tratamento de *Candida* sp. sensível *in vitro* se deve mais frequentemente a factores do hospedeiro do que à resistência intrínseca ou adquirida (Murray *et al.*, 2004).

Mecanismos de resistência

Tendo em conta que o ergosterol é um componente universal da membrana dos fungos, a ocorrência de resistência à anfotericina B não é frequente. No entanto, o fenómeno de

resistência pode ocorrer associado a alterações na composição lipídica da membrana, com redução do conteúdo de ergosterol, além de alterações funcionais da célula, resultando em fungos mais débeis e menos patogênicos (Brooks *et al.*, 2005; Mim *et al.*, 1999; Murray *et al.*, 2004; Osswald *et al.*, 2004; Richardson e Warnock, 2003). Este último mecanismo ocorre principalmente na espécie de *C. albicans*. As espécies não albicans de *Candida* são mais frequentemente identificadas como resistentes à anfotericina B, como é o caso de *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* e *C. tropicalis* (www.bibliomed.com).

A associação da flucitosina (antifúngico que interfere com a síntese dos ácidos nucleicos) com a anfotericina B tem um efeito sinérgico em algumas espécies de *Candida* sp., seja *C. albicans* ou *C. tropicalis*, e no *Cryptococcus neoformans*, ajudando no controlo da resistência e reduzindo os efeitos colaterais de ambos os fármacos, devido à diminuição das doses individuais de cada um dos fármacos, quando associados (www.bibliomed.com).

Farmacocinética

A anfotericina B apresenta uma baixa absorção oral, podendo ser usada a nível tópico ou em administração sistêmica, apresentando-se sob a forma de desoxicolato sódico e administrada essencialmente por via endovenosa, podendo no entanto, predispor a flebite devido ao efeito irritante da droga. O seu uso oral resulta numa concentração baixa e variável, uma vez que sofre inactivação em meio ácido. Após administração endovenosa, 90 a 95% do fármaco liga-se às proteínas plasmáticas, permanecendo em circulação, com níveis terapêuticos por 48 horas, aproximadamente. Além da absorção pelo músculo ser muito pequena, a via intramuscular não deve ser utilizada por ser tóxica (www.bibliomed.com).

A anfotericina B atravessa a barreira placentária, não devendo por isso ser usada durante a gravidez. Permanece acumulada no fígado, baço e rins, onde sofre uma degradação lenta. As formulações lipídicas da anfotericina B podem ser administradas em doses mais elevadas, podendo atingir concentrações mais elevadas nos tecidos. Em pacientes com função renal normal, o tempo de semi-vida da anfotericina B é de 24 horas, aproximadamente. Até quatro semanas após o fim da terapêutica, a anfotericina B pode ser detectada no sangue, e até quatro a oito semanas na urina. A principal via de excreção é a via renal, sendo 25% da dose

eliminada por via biliar, e apenas 3% da dose administrada é excretada na forma inalterada (www.bibliomed.com).

Posologia

A resposta à anfotericina B é influenciada pela dose, pela velocidade de administração, local de infecção micótica, estado imunológico do paciente e susceptibilidade inerente (Kautzung, 2001).

Nos adultos, é recomendada uma dose teste de anfotericina B – 1 mg em 50 a 250 mL de solução glicosada – de forma a prevenir anafilaxia ou outras reacções. Nas duas a quatro horas seguintes podem observar-se reacções como febre, calafrios e hipotensão, devendo a cada trinta minutos monitorizar-se os dados vitais (www.bibliomed.com).

Pode iniciar-se com uma dose correspondente a 0,6 mg/kg/dia em duas a três horas, caso não haja qualquer reacção, devendo esta dose ser aumentada nos dias seguintes em 0,25 a 0,6 mg/kg/dia (www.bibliomed.com).

Nenhuma solução contendo electrólitos deve ser adicionada ao fármaco pelo risco de agregação de partículas coloidais e floculação, impossibilitando o seu uso clínico. A dose máxima pode atingir 1 a 1,5 mg/kg/dia, em dias alternados (www.bibliomed.com).

Em crianças, a dose inicial deve ser de 0,25/kg/dia, em infusão lenta (2 a 6 horas), de vinte e quatro em vinte e quatro horas. A dose deve ser progressivamente aumentada, de acordo com a tolerância, até 0,5 a 1,0 mg/kg/dia. A duração da terapia depende do tipo e da extensão da infecção (www.bibliomed.com).

Nas situações em que o paciente apresente alguma reacção adversa, trinta minutos antes do início da infusão, devem ser administrados 750 mg de paracetamol por via oral e 25 a 50 mg de meperidina ou 25 a 50 mg de hidrocortisona por via endovenosa. Regra geral, a menos que o paciente apresente uma reacção grave à infusão, a descontinuação do fármaco não é necessária. A insuficiência hepática, bem como a renal, não causa retenção significativa, não

sendo necessários ajustes posológicos nesse grupo de pacientes. A hemodiálise também não afecta de forma significativa os níveis de fármaco em circulação (www.bibliomed.com).

Efeitos Adversos

Alguns pacientes podem apresentar reacções adversas directamente relacionadas com a dose, tais como: cefaleias, febre, hipotensão, dor articular, anorexia, perda de peso, dispepsia, cólicas, dor epigástrica, náuseas e vômitos (Katzung, 2001).

O uso prolongado do fármaco pode lesar a membrana citoplasmática da célula miocárdica e provocar morte por paragem cardíaca, se injectado rapidamente por via endovenosa. O seu uso prolongado pode causar arritmias e alterações electrocardiográficas, sugestivas de miocardite tóxica (www.bibliomed.com).

De entre os mais variados efeitos tóxicos que podem surgir, a nefrotoxicidade tem lugar de relevo, quer pela gravidade, quer pela frequência com que aparece. A nefrotoxicidade é frequente e ocorre por diversos mecanismos, como redução da filtração glomerular e do fluxo renal por constrição renal directa e diminuição da reabsorção de electrólitos pelos túbulos distal e proximal (Brooks *et al.*, 2005; Osswald *et al.*, 2004). Estas alterações podem levar a oligúria, acidose tubular renal e depleção de magnésio e potássio. Deste modo, a concentração de potássio e magnésio deverá ser monitorizada em intervalos regulares (Richardson e Warnock, 2003). A disfunção renal é geralmente reversível durante as duas primeiras semanas, com a suspensão da terapêutica ou da diminuição da dose. A nefrotoxicidade pode ser reduzida com hidratação adequada durante o tratamento. A toxicidade renal ou a inibição da produção de eritropoetina pode provocar o aparecimento de anemia normocrômica/normocítica, por volta da décima semana de tratamento. As formulações lipídicas reduzem a toxicidade renal e atenuam as reacções à infusão. O fármaco pode acumular-se em vários tecidos tais como o fígado, baço e pulmão (Richardson e Warnock, 2003).

Interações Medicamentosas

A nefrotoxicidade pode ser potenciada por fármacos com o potencial tóxico similar como os aminoglicosídeos, as ciclosporinas e fármacos antineoplásicos. A creatinina sérica deve ser monitorizada cuidadosamente nesses pacientes. A associação com corticóides ou com compostos digitálicos pode agravar a depleção de potássio provocada pela anfotericina, necessitando de monitorização cardíaca. A toxicidade da associação anfotericina B – flucitosina pode ser superior ao seu efeito benéfico, uma vez que origina um efeito aditivo ou sinérgico quando usado em combinação contra espécies de *Candida* spp. (Richardson e Warnock, 2003).

Indicações Clínicas

O uso da anfotericina B está indicado em quadros clínicos de aspergilose, criptococose, blastomicose, candidose disseminada, endocardite e endoftalmite fúngicas, histoplasmose e infecções micóticas intra-abdominais. A anfotericina B é ainda usada em pacientes neutropênicos febris que não respondem ao tratamento antibacteriano de largo espectro (Murray *et al.*, 2004).

Formulações Lipídicas de Anfotericina B

Com o intuito de reduzir a toxicidade da anfotericina B, foram introduzidas na terapêutica novas formulações deste fármaco, são elas: o complexo lipídico de anfotericina B, dispersão coloidal da anfotericina B e anfotericina B incorporada em lipossomas (Katzung, 2001).

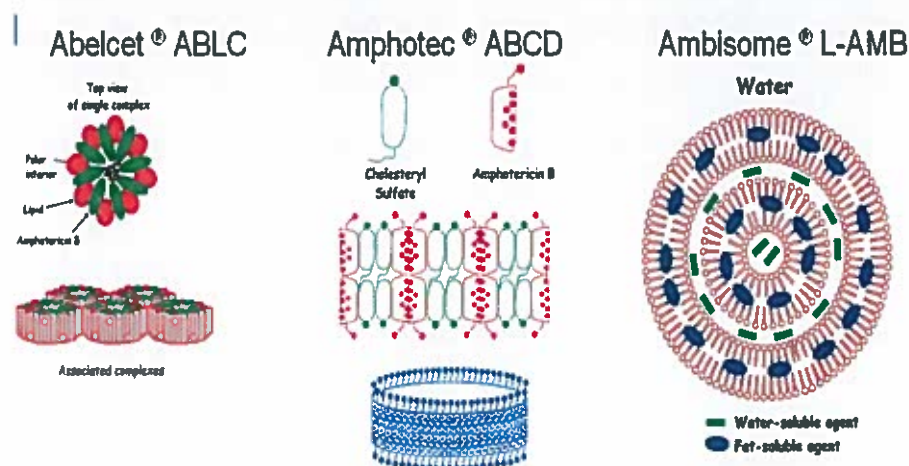


Figura 9: Formulações lipídicas da anfotericina B (Fonte: <http://www.google.pt/#hl=ptPT&q=mecanismos+de+ac%C3%A7ao+antifungicos+azolicos&meta=&aq=&oq=mecanismos+de+ac%C3%A7ao+antifungicos+azolicos&fp=c1a343fde3e30350>. Consultado em 12 de Janeiro de 2010)

Na anfotericina B lipossômica (AmBisome®) (Figura 9), o fármaco é incorporado no interior dos lipossomas contendo fosfolípidos, sendo apenas libertado no local da infecção (Richardson e Warnock, 2003). É uma formulação lipídica que tem sido utilizada em candidoses e aspergiloses, nomeadamente em doentes imunodeprimidos (Brooks *et al.*, 2005). A sua eficácia terapêutica é semelhante à da formulação convencional, mas a sua toxicidade renal e sistémica é significativamente menor. Este facto deve-se à possibilidade de os lipossomas poderem permitir uma passagem selectiva do fármaco para as células fúngicas e um eventual menor acesso às células renais. (Katzung, 2001). A semi-vida plasmática da anfotericina B administrada sob a forma lipossômica varia de 7 a 10 horas, após a administração inicial, para 100 a 153 horas, após uma terapêutica prolongada (Brooks *et al.*, 2005).

O complexo lipídico de anfotericina B (Abelcet®) (Figura 9), pretende diminuir a toxicidade do composto, mantendo o mesmo tipo de utilizações terapêuticas. Neste caso, o fármaco é complexado com fosfolípidos (Richardson e Warnock, 2003).

Na formulação da dispersão coloidal de anfotericina B (Amphotec®) (Figura 9), a anfotericina B, o sulfato de sódio e o colesterol formam um complexo com pequenos discos lipídicos (Brooks *et al.*, 2005).

As suas indicações são reduzidas e limitam-se a casos de intolerância definida à anfotericina B convencional, insuficiência renal progressiva ou em casos em que haja contra-indicação ao uso de azólicos como terapia alternativa.

Embora apresentem nefrotoxicidade reduzida, devido ao seu elevado custo, não devem ser considerados como agentes de primeira escolha no tratamento de infecções fúngicas.

4. SISTEMA IMUNOLÓGICO HUMANO

O sistema imunológico é um conjunto de células e moléculas com papel especializado na defesa do organismo contra infecções e neoplasias, mantendo a homeostasia (Figura 10) (Leo *et al.*, 2002). Uma eficiente resposta imunológica ocorre com a participação de órgãos e de células especializadas, tais como, os leucócitos, que podem ser divididos em linfócitos e fagócitos. Os leucócitos granulócitos, derivados exclusivamente da medula, podem ser divididos em neutrófilos (Polimorfos Nucleares; PMN), eosinófilos e basófilos. Já os linfócitos são agranulócitos e diferenciados entre si por marcadores de superfície denominados de *Cluster of Differentiation/Designation* (CD), com diferenciação das células em T, B e *Natural Killer* (NK). O terceiro grupo de células forma o Sistema Monocítico Fagocitário (SMF), especializado em fagocitose e apresentação de antígenos, com destaque para os macrófagos (Abbas *et al.*, 2003).

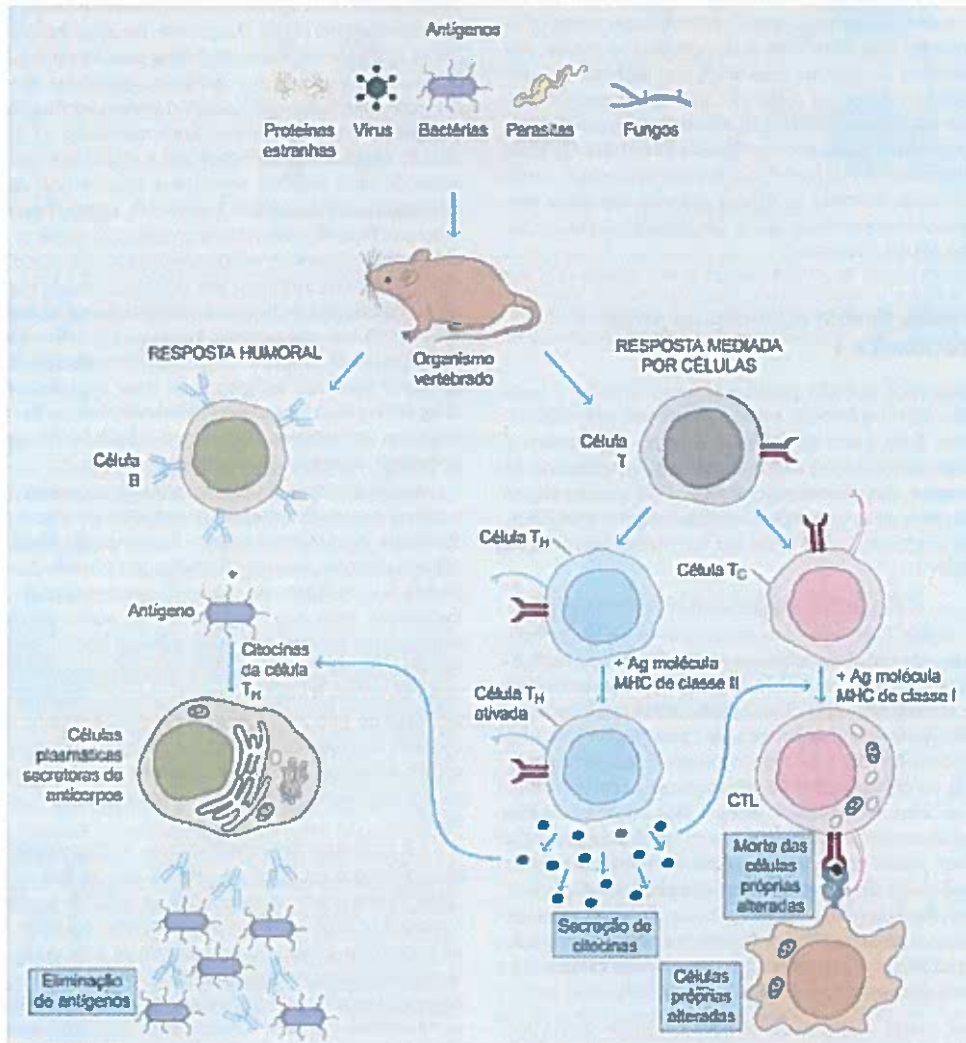


Figura 10: Visão geral das respostas imunes humoral e mediada por células do sistema imunológico. (Fonte: Goldsby *et al.*, 2002)

O sistema imunológico é dividido em inato (natural ou inespecífico) e adquirido (adaptativo ou específico). O sistema imunológico inato é a primeira linha de defesa e caracteriza-se pela libertação de citocinas por parte dos macrófagos e de outras células. Por outro lado, o sistema imunológico específico é induzido ou estimulado pela exposição a substâncias consideradas estranhas pelo organismo, denominadas de antígenos. Esta é uma resposta específica, diversificada, auto-limitada, com memória e reconhecimento do próprio e não próprio, sendo controlada por linfócitos T diferenciados e por clones de células B. As células T e B possuem receptores de superfície para antígenos, sendo o *T cell receptor* (TCR) próprio para as células T e as imunoglobulinas de superfície (IG) próprias das células B (Tian *et al.*, 2001).

Os linfócitos T possuem o receptor TCR específico para estas células, que reconhece somente antígenos peptídicos ligados ao *Major Histocompatibility Complex* (MHC) expresso na superfície celular de outras células, e não os antígenos solúveis. Funcionalmente, os linfócitos T são subdivididos em populações distintas, sendo as mais definidas as células T auxiliares (Thelper; Th), os linfócitos T citotóxicos (Tc), e existem ainda as células T supressoras (Ts). Todas estas células possuem, além do receptor TCR, o CD3 (Abbas *et al.*, 2003). Os linfócitos T supressores possuem os receptores CD3 e CD8, e tem por função modular a resposta imune inibindo-a, pois inactiva as células Tc e Th. Os linfócitos Th possuem também o receptor CD4, cuja função é o reconhecimento de macrófagos activados, especialmente através do MHC-II. Assim, os Th tem função de auxiliar ou induzir as respostas imunes, ou seja, função reguladora, pois estimulam o crescimento e proliferação de Tc e Ts contra antígenos, estimulam o crescimento e diferenciação de linfócitos B em plasmócitos para produção de anticorpos, activam macrófagos e promovem a auto-estimulação.

Dada a complexidade e multiplicidade de vias e factores envolvidos na activação e proliferação dos linfócitos, os mecanismos responsáveis pela actividade antiproliferativa dos compostos podem ser muito diversificados. Enquanto uns inibem a proliferação de linfócitos B e T, outros afectam preferencialmente a proliferação de apenas uma destas populações de linfócitos.

O efeito inibidor exibido pelos compostos na proliferação dos linfócitos pode ser devido, não a uma verdadeira actividade antiproliferativa, mas a um efeito tóxico directo dos compostos sobre os linfócitos, com consequente perda da viabilidade e capacidade proliferativa.

4.1. Interferência dos Antifúngicos com o Sistema Imunológico Humano

Efeito dos Azóis (fluconazol, cetoconazol e itraconazol) na proliferação linfócitos T

Desde a sua introdução na prática clínica em 1980, o cetoconazol tem vindo a ocupar o lugar de outros antifúngicos, inclusivamente de alguns compostos da mesma família (Saag and Dismukes, 1988). Mais tarde, foi relatado que o cetoconazol inibe a estimulação mitogénica da proliferação de linfócitos em ratinhos (Buttke and Chapman, 1983).

Em 1990 dois fármacos potencialmente melhorados – fluconazol e itraconazol – foram introduzidos na prática da investigação, uma vez que o seu efeito ao nível do sistema imunológico era pouco conhecido.

Simples metabolitos das lipoxigenases podem ter funções importantes ao nível da regulação imunitária (Rola-Pleszczynski, 1985), por isso é importante avaliar e comparar em termos imunomoduladores estes três agentes antifúngicos.

A actividade do fluconazol, cetoconazol e itraconazol foi já estudada *in vitro* de forma a avaliar o seu efeito imunossupressivo em termos de resposta proliferativa, numa cultura mista de linfócitos (MLC) (Pawelec *et al.*, 1990). Os resultados obtidos a partir do estudo da actividade dos antifúngicos sobre os linfócitos T, demonstraram que alguns azóis estão envolvidos na mediação de actividades imunossupressivas da função das células T. O itraconazol é o fármaco com efeito supressor mais forte. Este apresentou um efeito de inibição de proliferação máximo na concentração de 1 µg/mL, que corresponde ao nível máximo de sangue testado com esta substância. O fármaco com menor efeito imunossupressivo – fluconazol – foi testado numa concentração maior do que a concentração máxima usada na prática clínica. Mesmo numa concentração dez vezes superior, o fluconazol não causa inibição do MLC (Pawwlec *et al.*, 1990).

Da inibição da expansão clonal seria de esperar que esta tivesse uma grande influência no desencadeamento de uma resposta imune, contudo a capacidade de reconhecimento do antígeno não é comprometida pelos azóis em estudo. Desta forma, seria de esperar que o itraconazol não bloqueasse os eventos iniciais de uma reacção imunológica, mas que evita-se a amplificação de qualquer resposta em desenvolvimento. Um aumento da TNF- α , possivelmente devido à inibição das células reguladoras da produção desta citocina, pode ter também um efeito imunomodulador sobre a resposta do sistema imunitário, uma vez que algumas das células Th são, possivelmente, inibidas pela TNF- α (Pawelec *et al.*, 1990), e noutras situações a TNF- α pode exponenciar o efeito da resposta das células T (Scheurich *et al.*, 1987). Por outro lado, seria esperado que para o cetoconazol inibir a proliferação clonal em menor grau, uma resposta inicial deveria ser dificultada em maior proporção, com um resultado geral dos seus efeitos inibitórios sobre a secreção de citocinas (Pawwlec *et al.*, 1990).

A falta de bloqueio da produção do factor de crescimento pelo itraconazol é consistente com a constatação de que além das IL-2 exógenas no *Multi-Level Cell* (MLC), este não impediu a sua formação. O mecanismo de inibição da proliferação não está ainda suficientemente claro, mas não parece envolver o bloqueio total dos receptores da IL-2 (Pawelec *et al.*, 1990).

Dados preliminares obtidos usando o anticorpo monoclonal TU69, que detecta o mesmo epítopo sobre os receptores de alta e baixa afinidade, sugerem que o cetoconazol é capaz de bloquear a expressão dos receptores da IL-2. Para ser esclarecedor sobre a informação fisiológica dos receptores, estes resultados têm de ser confirmados através da análise das duas cadeias separadas de mRNA dos receptores da IL-2 (Pawwlec *et al.*, 1990).

Substâncias com efeito fortemente imunossupressor que não impeçam a secreção de IL-2 ou a *upregulation* dos seus receptores são raras. Imunossupressores farmacológicos, como a ciclosporina A, são idealizados para funcionar, principalmente, através do bloqueio da expressão de citocinas (Granelli-Piperno *et al.*, 1984). No entanto, há um precedente para uma repressão forte sem o bloqueio de IL-2 ou dos seus receptores, ou seja, a transformação do factor de crescimento β (Wahl *et al.*, 1988).

Tal como anteriormente mencionado, embora o fluconazol não tenha bloqueado a formação de LTB₄ ou 5HETE e seus derivados, o itraconazol bloqueou-a fortemente (Jaschonek *et al.*, 1989). Quando administrado, o cetoconazol, que apresentava uma menor imunossupressão que o itraconazol, também bloqueou a 5-lipoxigenase (Jaschonek *et al.*, 1989). Nesta base, tiveram como hipótese de que a LTB₄ exógena poderia ter sido capaz de inverter o efeito dos azóis, mas este não foi “detectado” como sendo a causa. No entanto, um produto diferente da 5-lipoxigenase, para o qual não foi feito o teste no MLC, poderia ser considerado como um produto envolvido no mecanismo de supressão.

Portanto, os resultados confirmam que no sistema imunitário humano o fluconazol não suprime a proliferação de linfócitos, e mostram que este também não consegue inibir a secreção de várias citocinas. Por outro lado, o itraconazol é altamente supressivo para respostas proliferativas, por um mecanismo que não envolve-se o bloqueio da secreção de citocinas e que provavelmente não envolve a expressão dos receptores da IL-2 (Pawwlec *et al.*, 1990). A sua actividade imunossupressora, que é comparável à da ciclosporina A, poderia

ser usada como uma forma benéfica no contexto de transplante de órgãos, particularmente no transplante de medula óssea (Kruger *et al.*, 1989), onde as infecções fúngicas são um sério problema clínico, mas quando a imunossupressão é simultaneamente necessária.

Efeito de imunopotenciação da Anfotericina B

Estudos realizados demonstraram que a (Anfotericina B) aumenta não só a imunidade humoral, como também a sensibilidade de contacto (SC) (Sandra *et al.*, 1979). Respostas de sensibilidade de contacto com dinitroflúorbenzeno (DNFB) foram reforçadas pela administração de anfotericina B. A estimulação secundária com 2,4-dinitrobenzeno-1-sulfonato de sódio (DNBSO₃) de populações de células de animais previamente imunizados epicutâneamente com DNFB, resultou num aumento da sua proliferação *in vitro*. A proliferação *in vitro* de todas as populações de células linfáticas (LNC) mostrou estar relacionada com o estado de sensibilização (Moorhead, 1978; Phanuphak *et al.*, 1974).

O efeito da anfotericina B ao nível da resposta proliferativa *in vitro* foi estudado de forma a identificar os tipos de células nas quais os efeitos adjuvantes foram expressos (Sandra *et al.*, 1979). Estudos anteriores demonstraram que a anfotericina B pode interferir substancialmente na tolerância imunológica, induzida pela administração intravenosa de DNBSO₃, sugerindo que a função supressora das células T foi comprometida.

A imunopotenciação selectiva pela anfotericina B ao nível da resposta humoral, depende dos antígenos das células T e, além disso, evidências de efeitos preferenciais dos linfócitos T em suspensão, também indicam que uma subpopulação de células T é importante para a expressão dos efeitos adjuvantes (Sandra *et al.*, 1979). Uma hipótese para testar o mecanismo adjuvante da anfotericina B pode ser enquadrada nos conceitos sugeridos por Gershon, Cantor e seus colaboradores. Segundo estes conceitos, a anfotericina B pode inibir selectivamente a diferenciação de antígenos Lyt-2⁺,3⁺ de células T, supressoras dos seus antígenos precursores (Lyt-1⁺,2⁺,3⁺), deixando relativamente pouco afectado o antígeno Lyt-1⁺ e as células Th, da resposta humoral (Sandra *et al.*, 1979).

Desde que se verificou que as células T de ratinhos continham mais colesterol do que as células B (Anderson *et al.*, 1977) e que as células T menos diferenciadas têm maior

quantidade de colesterol, conclui-se que estas células (Lyt-1⁺,2⁺,3⁺) podem ligar a anfotericina B, preferencialmente, a uma membrana modificada que interfere nas funções celulares.

Uma vez que a anfotericina B se liga selectivamente à membrana de colesterol das células animais, a identificação dos mecanismos celulares dos seus efeitos, têm implicações importantes para as diferenças funcionais na membrana de colesterol, entre as diferentes classes de linfócitos (Sandra *et al.*, 1979).

Os efeitos sobre a resposta proliferativa ao nível do antigénio *in vitro*, sugerem que os linfócitos T são responsáveis pela resposta reforçada por sensibilidade de contacto, induzida pela anfotericina B (Sandra *et al.*, 1979).

Tendo por base considerações de estudos anteriores, de que a anfotericina B pode actuar por redução ou eliminação de indução de células supressoras durante o contacto com DNFB, não seria inesperado descobrir múltiplas funções, além da produção de anticorpos, que são reforçadas em circunstâncias que reduzem o feedback de supressão (Sandra *et al.*, 1979).

Estudos de transferência de células purificadas estão em curso, de forma a determinar se a adesão da anfotericina B ao colesterol é relevante ao nível da proliferação de células efectoras (Sandra *et al.*, 1979).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir do estudo da actividade dos antifúngicos azólicos (fluconazol, cetoconazol e itraconazol) sobre os linfócitos T, demonstraram que alguns azóis estão envolvidos na mediação de actividades imunossupressivas da função das células T *in vitro*.

O itraconazol é o fármaco com efeito supressor mais forte, enquanto que o fluconazol não causa inibição do MLC.

Da inibição da expansão clonal seria de esperar que esta tivesse uma grande influência no desencadeamento de uma resposta imune, contudo a capacidade de reconhecimento do antígeno não é comprometida pelos azóis em estudo.

O mecanismo de inibição da proliferação não está ainda suficientemente claro, mas não parece envolver o bloqueio total dos receptores da IL-2.

Embora o fluconazol não tenha bloqueado a formação de LTB₄ ou 5HETE e seus derivados, o itraconazol bloqueou-a fortemente. Quando administrado, o cetoconazol, que apresentava uma menor imunossupressão que o itraconazol, também bloqueou a 5-lipoxigenase.

A actividade imunossupressora do itraconazol, que é tão potente como a da ciclosporina A, poderia ser usada como uma forma benéfica no contexto de transplante de órgãos, onde as infecções fúngicas são um sério problema clínico, mas quando a imunossupressão é simultaneamente necessária.

O efeito da anfotericina B ao nível da resposta proliferativa *in vitro* foi estudado de forma a identificar os tipos de células nas quais os efeitos adjuvantes foram expressos.

A imunopotenciação selectiva pela anfotericina B ao nível da resposta humoral, depende dos antígenos das células T e, além disso, evidências de efeitos preferenciais dos linfócitos T em suspensão, também indicam que uma subpopulação de células T é importante para a expressão dos efeitos adjuvantes. Os efeitos sobre a resposta proliferativa ao nível do antígeno *in vitro*, sugerem que os linfócitos T são responsáveis pela resposta reforçada por sensibilidade de contacto, induzida pela anfotericina B. Concluiu-se ainda que a anfotericina

B pode actuar por redução ou eliminação de indução de células supressoras durante o contacto com DNFB, não tendo ficado esclarecido se a adesão da anfotericina B ao colesterol é relevante ao nível da proliferação de células efectoras.

A compilação da informação contida nos artigos pesquisados permite-me deduzir que no caso de indivíduos imunodeprimidos sujeitos a terapêuticas de tratamento ou profilaxia com os fármacos – itraconazol, fluconazol cetoconazol e anfotericina B – em estudo, deve haver um rigoroso critério de escolha do fármaco a administrar, uma vez que o risco de diminuição de proliferação de linfócitos é um dos efeitos adversos que se poderá manifestar e que em nada irá ser favorável ao aumento das defesas no indivíduo a tratar.

O efeito imunomodulador dos compostos antifúngicos, usados na prática clínica quer no tratamento quer na profilaxia de doenças fúngicas é ainda um tema pouco estudado e sobre o qual existem relativamente poucos artigos publicados sobre estes estudos.

Abbas, A. (2003). *The Control of T Cell Activation vs. Tolerance*. *Autoimmun. Rev.*, 2, 115-8.

Anderson, R. E.; Standefer, J. V.; Scarlett, J. V. (1977). *The phospholipid and glycoprotein composition of T and B cells*.

Antifúngicos Sistémicos [Em linha]. Disponível em <http://www.google.pt/#hl=ptPT&q=mecanismos+de+ac%C3%A7ao+antifungicos+azolicos&meta=&aq=&oq=mecanismos+de+ac%C3%A7ao+antifungicos+azolicos&fp=c1a343fde3e30350>. Consultado em [12/01/2010].

Antifúngicos Sistémicos [Em linha]. Disponível em <http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2042/imgs/fig-01-mat-30.4.jpg>. Consultado em [14/01/2010].

Bergolg, A. M.; Georgiadis, S. (2004). *New Antifungic Drugs*. Visão Académica. Curitiba. ISSN: 1518-5192.

Bibliomed [Em linha]. www.bibliomed.com. Consultado em [12/04/2009]

Brooks, G. F.; Butel, J. S.; Morse, S. A. (2005). *Microbiologia Médica*. (22ª Edição) McGraw-Hill.

Caramona, M.; Esteves, A. P.; Filipe, H.; Gonçalves, J.; Macedo, T.; Mendonça, J.; Osswald, W.; Pinheiro, R. L.; Rodrigues, A.; Sampaio, C.; Teixeira, A. A. (2004). *Prontuário Terapêutico*. Infarmed.

Carrillo, A. J.; Guarro, J. (2001). *In vitro activities of four novel triazoles against Scedosporium pp*. *Antimicrob. Agents Chemotherapy*.

Cetoconazol [Em linha]. Disponível em <http://www.scielo.br/img/revistas/rbcf/v43n2/16f1.gif>. Consultado em [11/01/2010].

Fainstein V.; Bodey G. P.; Elting L.; Maksymiuk A.; Keating M.; McCredie K.B. (1987). *Amphotericin B or ketoconazole therapy of fungal infections in neutropenic cancer patients*. Antimicrob Agents Chemother

Ferreira, W. F. C.; Sousa, J. C. F. (2000). *Microbiologia – Volume II*. Lidel – edições técnicas, lda.

Fluconazol [Em linha]. Disponível em http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a8/Fluconazole_structure.png/220px-Fluconazole_structure.png. Consultado em [11/01/2010].

Frayberg, M. (1974). *Sterol Biosynthesis in Antibiotic-Resistance Yeast: Nistatin*. Arch. Biochem. Biophys.

Georgopapadakou, N. H.; *Infectious disease 2001: drug resistance, new drugs*. Drug Resist Updat.

Ghannoum, M.; Rice, L. B. (1999). *Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms With Bacterial Resistance*. Clin. Microbiol.

Goldsby, R. A.; Kindt, T. J.; Osborne, B. A. (2002). *Kuby Imunologia*. Rio de Janeiro. (4ª Edição). Livraria e Editora Revinter Ltda.

Granelli-Piperno, A.; Inaba, K. & Steinman, R. M. (1984). *Stimulation of lymphokine release from T lymphoblasts. Requirement for mRNA synthesis and inhibition by Cyclosporin A*.

Itraconazol [Em linha]. Disponível em <http://www.medical-look.com/molecular/itraconazole.gif>. Consultado em [11/01/2010].

Jaschonek, K.; Steinhilber, D.; Einsele, H.; Ehninger, G. & Roth, H. J. (1989). *5-Lipoxygenase inhibition by antifungal azole derivatives: new tools for immunosuppression?*

Katzung, B. G., MD. (2001). *Basic&Clinical Pharmacology International Edition*. (8ª Edição). São Francisco. McGraw-Hill

Kontoyiannis, D. P.; Lewis, R. E. (2002). *Antifungal Drug Resistance of Pathogenic Fungi*.

Kruger, H. U.; Schuler, U.; Zimmermann, R.; Ehninger, G. (1989). *Absence of significant interaction of fluconazole with cyclosporin*.

Leo, A., et al (2002). *Adapters in Lymphocyte Signaling*. J. Clin. Invest., 109, 301-9

Malik I.A.; Moid I.; Aziz Z.; Khan S.; Suleman M.(1998) *A randomized comparison of fluconazole with amphotericin B as empiric anti-fungal agents in cancer patients with prolonged fever and neutropenia*. Am J Med

Marr, K. A.; White, T. C.; Van Buril, J. A.; Bowden, R. A. (1997). *Development of Fluconazole Resistance in Candida albicans Causing Disseminated Infection in a Patient Undergoing Marrow Transplantation*.

Mims, C.; Playfair, J.; Wakelin, D.; Williams, R.; Roitt, I. (1999). *Microbiologia Médica*. São Paulo. Editora Manole, Ltda. (2ª Edição).

Moorhead, J. W. (1978). *Tolerance and contact sensitivity to DNFB in mice. VIII. Identification of distinct T cell subpopulations that mediate in vivo and in vitro manifestations of delayed hypersensitivity*.

Murray, P.; Rosenthal, K.; Kobayashi, G.; Pfaller, M. (2004). *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro. (4ª Edição). Editora Guanabara Koogan S.A..

Novos Antifúngicos [Em linha]. Disponível em: www.paulomargotto.com.br. Consultado em [12/01/2010].

Osswald, W.; Guimarães, S. (2004). *Terapêutica Medicamentosa e Suas Bases Farmacológicas*. (4ª Edição). Porto Editora.

Pawwlec G.; Ehnonger G.; Rehbein A.; Schaudt A. & Jaschonek K. (1990). *Comparison of the immunosuppressive activities of the antimycotic agents itraconazole, fluconazole, ketoconazole and miconazole on human T-cells*.

Pfizer [Em linha]. Disponível em: www.pfizer.com/download/uspi_vfend.pdf. Consultado em [12/01/2010].

Phanuphak, P.; Moorhead, J. W.; Claman, H. N. (1974). *Tolerance and contact sensitivity to DNFB in mice. II. Specific in vitro stimulation with a hapten, 2,4-dinitrobenzene sulfonic acid (DNBSO₃Na)*.

Pinto, E.; Pina-Vaz, C.; Salgueiro, L.; Gonçalves, M. J.; Costa-de-Oliveira, S.; Cavaleiro, C.; Palmeira, A.; Rodrigues, A. And Martins-de-Oliveira, J.; (2006). *Antifungal activity of the essential oil of Thymus pulegioides on Candida, Aspergillus and dermatophyte species. Journal of Medical Microbiology*. 55, pp. 1367-1373.

Richardson, M. D.; Warnock, D. W. (2003). *Fungal Infection Diagnosis and Management*. BlackWellPublishing.

Rola-Pleszczynski, M. (1985). *Immunoregulation by leukotrienes and other lipooxygenase metabolites*.

Saag, M. S. & Dismukes, W. E. (1988). Azole antifungal agents: emphasis on new triazoles. *Antimicrob. Ag. Chemother*.

Sandra F.; Shirley & Russell L. J. (1979). *Immunopotentiating Effects*

Sanglart, D.; Ischer, F.; Koymans, L.; Bille, J. (2003). *Resistance and Tolerance Mechanisms to Antifungal Drugs in Fungal Pathogens*. Institute of Microbiology, University Hospital Lausanne.

Schneider, E. M.; Pawelec, G.; Shi, L. R.; Biuhring, H. J. & Wernet, P. (1987). *Generation of CD4-positive suppressor T cells from mixed lymphocyte cultures in the presence of interleukin 2 receptor antibody TU 69. Na in vitro model for transplantation tolerance*.

Síntese do Ergosterol [Em linha]. Disponível em <http://www.fiocruz.br/chagas/media/figura%2003%20sol2.jpg>. Consultado em [11/01/2010].

Tian, J., et al (2001). *Lipopolysaccharide-Activated B Cells Down-Regulate Th1 Immunity*. J. Immunol.

Vanden Bossche, H.; Marichal, P.; Odds, F. C.; Jeune, L. Le; Coene, M.C. (1992). *Characterization of an Azole-Resistant Candida glabrata isolate*. Antimicrob. Agents Chemotherapy.

Voriconazol [Em linha]. Disponível em: <http://www.visaoacademica.ufpr.br/v5n2/Figura1.JPG>. Consultado em [12/01/2010].

Wahl, S. M.; Hunt, D. A.; Wong, H. L.; Dougherty, S.; McCartney-Francis, N.; Wahl, L. M.; Ellingsworth, L.; Schmidt, J. A.; Hall, G.; Roberts, A. B. & Sporn, M. B. (1988). *Transforming growth factor- β is a potent immunosuppressive agent that inhibits IL 1-dependent lymphocyte proliferation*.

Warnock, D. W.; Arthington-Skaggs, B. A.; LI, R. K. (1999). *Antifungal Drug Susceptibility Testing and Resistance in Aspergillus Drug Resistance*.

Winston, D. J.; Hathorn, J. W.; Schuster, M. G.; Schiller, G.J.; Territo, M.C. (2000). *A multicenter randomized trial of fluconazole versus amphotericin B for empirical antifungal therapy of febrile neutropenic patients with cancer*. Am J Med

Yssel H.; De Vries, J. E.; Koken, M.; Van Blitterswijk, W. & Spits, H. (1984). *A serum-free medium for the generation and propagation of functional human cytotoxic and helper T-cell clones.*