



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2015
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Estratégias biotecnológicas para o reposicionamento de fármacos como alternativa terapêutica para a criptococose
<b>Autor</b>	NATÁLIA KRONBAUER DE OLIVEIRA
<b>Orientador</b>	LIVIA KMETZSCH ROSA E SILVA

Estratégias biotecnológicas para o reposicionamento de fármacos como alternativa terapêutica para a criptococose

**Autor:** Natália Kronbauer de Oliveira **Orientador:** Livia Kmetzsch Rosa e Silva

Centro de Biotecnologia, UFRGS

*Cryptococcus neoformans* é uma levedura responsável pelo desenvolvimento da meningite criptocócica. O tratamento padrão para a meningite criptocócica é a utilização de anfotericina B, seguida de uma terapia de manutenção longa com fluconazol. Com o problema emergente da resistência a esses antifúngicos, o reposicionamento de fármacos já utilizados na clínica, que podem exercer também atividade fungicida, são uma alternativa promissora para o controle das infecções fúngicas emergentes. Fungos patogênicos utilizam sistemas de sinalização para adaptação ao hospedeiro. A via de sinalização mediada por calcineurina em *C. neoformans* controla o desenvolvimento a 37°C, *mating*, frutificação monocariótica, resposta a estresse, e virulência. A presença de cálcio é fundamental para a ativação desta via de sinalização. Mutantes nulos para dois transportadores vacuolares de cálcio (*Vcx1* e *Pmc1*) demonstraram ter virulência atenuada. Neste contexto, a avaliação e utilização de fármacos com mecanismo de ação baseado no bloqueio de canais de cálcio pode representar uma alternativa terapêutica para o tratamento da criptococose. As células das linhagens H99 (selvagem), mutante nulo *pmc1*, mutante nulo *vcx1*, mutante nulo *pmc1vcx1* e linhagem complementada *pmc1:PMC1* foram cultivadas em ágar YPD, colônias foram inoculadas em YPD líquido e incubadas a 37°C por 18 horas a 150 rotações por minuto (rpm) para ensaios *in vitro*. Os fármacos utilizados foram selecionados baseados no seu mecanismo de ação de bloqueio de canais de cálcio. A avaliação da sensibilidade das linhagens selvagem e mutantes de *C. neoformans* aos fármacos de interesse foram realizadas em meio RPMI nas concentrações de 10µM, 20µM, 30µM e 40µM para H99 e na concentração de 20µM para os mutantes. As células foram adicionadas em uma quantidade de  $2,5 \times 10^5$  e incubadas por 48 horas a 37°C. Após esse período, as absorbâncias foram determinadas a 600nm. A determinação da concentração inibitória mínima (MIC) foi realizada com os mesmos parâmetros da avaliação da sensibilidade. Seis fármacos foram selecionados baseado em seu mecanismo de ação e nas interações medicamentosas que apresentavam com fluconazol, sendo eles amiodarone, nifedipine, sotalol, amlodipine, verapamil e diltiazem. Estes seis fármacos pré-selecionados foram utilizados para realizar o teste da sensibilidade. Para a linhagem selvagem, apenas amiodarone e nifedipine demonstraram uma redução de crescimento significativa em relação ao controle. Para as linhagens mutantes, o fármaco amiodarone demonstrou uma inibição acentuada do crescimento da levedura na linhagem *pmc1* e na linhagem duplo mutante *pmc1vcx1*. Já para o fármaco nifedipine, não foi possível observar uma diferença significativa no crescimento das leveduras em relação ao controle sem fármaco. Para a linhagem selvagem H99, a concentração inibitória mínima de amiodarone foi de 20µM. Já para a linhagem mutante *pmc1*, a concentração inibitória mínima foi de 15µM. As perspectivas são determinar a concentração de cálcio intracelular em células de *C. neoformans* expostas aos fármacos de interesse, assim como avaliar a utilização dos fármacos selecionados como alternativa terapêutica para a criptococose.