

Quarta-feira, 13 de dezembro de 2006.

Profa Mariceli.

Drogas antifúngicas.

O número de drogas antifúngicas é limitado porque nossas células são muito semelhantes às células fúngicas (células eucarióticas, com núcleo e organelas muito comuns) o que dificulta a obtenção de alvos e conseqüentemente de drogas.

O arsenal contra os fungos é restrito a 5 grupos de drogas: poliênicos, azóis, 5-fluorocitosina, griseofulvina e equinocandinas.

1. Poliênicos: anfotericina B e nystatin

Atuam sobre o ergosterol e alteram funções da membrana citoplasmática. Ligam-se a este esteróide, rompem-no e formam poros (canais) por onde as células fúngicas perdem constituintes (íons/organelas). São drogas **fungicidas**.

2. Azóis (azólicos) e allilaminas

Inibem a síntese do ergosterol ao desativar uma enzima chave do processo. Ou seja, a célula passa a não ter o ergosterol na membrana e sim outros esteróides precursores dele. A presença de substâncias diferentes na membrana altera sua função (enzimas que nela se alojam, conformação celular, etc). São drogas **fungistáticas**: não matam a célula fúngica, pois o fungo continua tendo membrana ainda que com outros esteróides. Assim, a célula para de se multiplicar, mas não morre.

Acredita-se que a droga interrompa a reprodução das células fúngicas e que o sistema imune as elimine. Isso pode não ocorrer em indivíduos imunodeprimidos e desencadear resistência à droga. Nestes indivíduos, as drogas persistem até que os fungos voltam a multiplicar (ou o indivíduo para de tomar a droga), mais resistentes e menos susceptíveis ao tratamento. Porquanto, conclui-se que drogas fungicidas são muito mais eficazes em indivíduos imunodeprimidos.

3. 5-fluorocitosina

Inibe a síntese de ácidos nucléicos. Trata-se de uma base nitrogenada alterada artificialmente que quando incorporada ao DNA muda sua estrutura e interrompe sua cópia (replicação). A droga também paralisa a síntese protéica.

5-fluorocitosina é uma droga **fungicida** e não existe no Brasil.

O principal problema deste antifúngico é que ele está muito relacionado a resistência: existem candidas naturalmente resistentes.

4. Griseofulvina

Interfere na mitose ao se ligar aos microtúbulos e impedir a migração dos cromossomos. É uma droga tão pouco utilizada que não se sabe se é fungicida ou fungistática.

Por possuir um espectro de ação restrito, sendo utilizada contra dermatófitos cujos tratamentos atualmente envolvem drogas muito mais eficazes, e por possuir efeitos colaterais hepáticos severos, está em desuso.

Só atua contra dermatófitos.

5. Equinocandinas (classe que envolve 3 tipos de drogas)

Inibem a síntese da parede celular porque impedem a ação da polimerase da glicose nas beta-glucanas.

São drogas muito novas, muito recentes, pouco usadas e com potencial promissor uma vez que as células humanas não possuem parede celular.

In vitro a atividade é muito boa, mas in vivo o conhecimento é pequeno visto que são muito recentes.

São drogas muito caras e por isso pouco utilizadas.

Cinco dificuldades para uso de drogas antifúngicas nos pacientes

- Limitação do número de drogas pela dificuldade de se encontrar alvos.
- Espectro de ação reduzido.
- Toxicidade: muitas dessas drogas possuem toxicidade elevada. Ex. Anfotericina B.
- Resistência.

➤ Vias de administração: existem muitas micoses sistêmicas nas quais o fungo invade a corrente sanguínea e atinge órgãos. Assim, drogas de uso tópico e oral (ex. alilaminas e muitos azólicos) não solucionam o problema.

Drogas injetáveis

- **Anfotericina B (poliênico):** é a droga com maior espectro de ação e que exibe menores níveis de resistência.
- **Triazólicos** (fluconazol, voliconazol).
- **Equiocanocandinas** (problema de preço e disponibilidade).
- Então, o arsenal de drogas ficou restrito à anfotericina B e aos triazólicos.

A maioria das drogas antifúngicas utilizadas são dirigidas contra o ergosterol, esterol exclusivo da membrana plasmática dos fungos e análogo ao colesterol das células humanas.

O ergosterol está envolvido com várias funções celulares como a fluidez e o funcionamento de enzimas importantes para o crescimento fúngico. Assim, alterações estruturais ou eliminação deste esteróide podem resultar na inibição do crescimento ou na morte da célula fúngica.

Via de biossíntese do ergosterol mostrando os passos que são alvos de drogas antifúngicas

Resumo



Allilaminas fazem com que o fungo tenha esqualeno na membrana celular.

Azóides fazem com que o fungo tenha lanosterol na membrana celular.

Mecanismo de ação de drogas azólicas

A enzima Lanosterol 14 α -dismetilase possui como centro ativo a molécula M que está rodeada por cadeias protéicas. Os azóis se ligam à molécula M, não disponibilizando este centro ativo para o substrato (lanosterol). Trata-se de uma competição: a molécula M possui mais afinidade pela droga do que pelo lanosterol.

Mecanismo de ação de drogas poliênicas (anfotericina B e nistatina B)

Anfotericina B é uma molécula longa e com caráter anfótero: a parte hidrofílica se liga ao citosol da célula e a parte lipofílica se liga aos fosfolipídeos de membrana. A seguir, constituintes celulares são perdidos através dos poros formados.

A droga também pode se ligar ao colesterol, mas a sua afinidade é muito baixa. Mesmo assim, alguns efeitos colaterais relatados são devidos a esse inconveniente.

Histórico

➤ **Década de 70:** candidíases mucocutâneas.

Imidazólicos: clotrimazol, miconazol, cetoconazol, etc.

Cetoconazol: > espectro de ação sobre micoses endêmicas, fungos demáceos, dermatófitos.

Nessa época não se ouvia falar sobre resistência e só micoses conhecidas e clássicas eram relatadas. O maior problema eram as candidíases mucocutâneas (micose superficial em número restrito de pessoas) que acometiam pacientes com um tipo de doença genética. Estes pacientes tinham repetições dessas infecções porque a doença era de base genética. O tratamento implementado envolvia imidazólicos, azólicos de primeira geração cujo espectro era menor e a via de administração era bastante restrita – praticamente disponíveis para uso tópico e oral somente. Posteriormente, o cetoconazol foi disponibilizado por via IV.

➤ **Década de 80:** AIDS (90% dos pacientes tinham candidíase oral e/ou esofágica, 8% criptococose e 30% histoplasmose).

Drogas sistêmicas: triazólicos (fluconazol e itraconazol).

Antes de 1998 os pacientes aidsóticos só usavam AZT e manifestavam infecções oportunistas frequentes porque a droga não controlava bem o número de LTCD4.

90% dos pacientes apresentavam candidíase oral e inúmeros casos de criptococose eram relatados. Assim, drogas de uso tópico já não eram suficientes. Desse modo, a partir da década de 80 surgiram os azólicos do tipo triazólicos, ou seja, a segunda geração de azóis com espectro de ação melhor e disponibilizados para uso injetável. Foi um avanço imenso para doenças sistêmicas, mesmo considerando que a droga é fungistática.

➤ **Década de 90:** grande espectro de micoses sistêmicas, invasivas (em pacientes neutropênicos).

Nessa década o número de cânceres e transplantados aumentou muito, o que elevou também a sobrevivência e fez nascer uma comunidade de pacientes imunossuprimidos. Essas populações constituem meios de cultura ambulantes, susceptíveis a todo tipo de infecção. Assim, uma grande quantidade de micoses sistêmicas e invasivas causadas por fungos simples do ar (ex. *Apergillus*) começou a matar.

Novos triazólicos (3 geração): voriconazol. Constitui uma droga interessante porque age bem principalmente contra cândidas que não respondem aos triazólicos tradicionais e também contra os criptococos. Pertence ao laboratório Pfizer. Também há o **posaconazol** que está em final de estudo clínico.

Formulações lipídicas de anfotericina B. Estas drogas existem desde a década de 50, mas são problemáticas porque possuem efeitos colaterais severos. São excelentes porque possuem espectro bom, são disponíveis na forma injetável e possuem ação fungicida. Entretanto, são extremamente nefrotóxicas e durante o tratamento o paciente deve ser internado e o gotejamento da droga deve ser rigorosamente controlado porque uma infusão rápida pode lesar o glomérulo irreversivelmente.

A droga é 90% excretada pela urina e dado o seu potencial nefrotóxico é desinteressante passar pelo rim. Assim, essas formulações lipídicas diminuíram a afinidade da anfotericina B pela água/urina, fazendo com que seja metabolizada pelo fígado e baço e excretada nas fezes. Ou seja, a formulação lipídica da anfotericina B diminui sua atividade nefrotóxica porque diminui sua afinidade pelos rins e aumenta pelos tecidos. São acessíveis, mas também são formulações extremamente caras.

Nova classe de antifúngicos: equinocandinas (drogas que prometem).

Novas classes de drogas para infecções sistêmicas (equinocandinas)

Lipopeptídeos (pneumocandinas, papulocandinas e equinocandinas).

Mecanismo de ação das equinocandinas (caspofungina – disponível comercialmente, anidulafungina, micafungina).

Agem sobre a enzima da membrana e impedem a polimerização das glucanas.

Espectro de ação:

Caspofungina (cândidas, Merck): seu espectro inclui espécies de *Candida* e *Aspergillus*. Atua contra cândidas que não respondem a outras drogas. Ou seja, age sobre microrganismos nos quais os azóis não são muito eficazes. Ex. *C. glabrata* e *C. krusei*. Não atua sobre *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Mucorales*, *Trichophyton*.

Novas formulações de anfotericina B

Anfotericina B-desoxicolato (Fungizon) é o mais potente antifúngico disponível. Porém, apresenta nefrotoxicidade dependente da dose e infusão.

Anfotericina B em formulações lipídicas

Vantagens: anfotericina B é incorporada a veículos lipídicos → distribui-se diferentemente nos tecidos, concentrando-se no baço e fígado → menos excretada pelo rim.

Como essas moléculas são montadas: anfotericina é incorporada a moléculas lipídicas que no organismo do hospedeiro vão ser rompidas e liberarão a droga.

Gera-se maior afinidade pelos tecidos do que pela urina.

Anfotericina B existe desde 1958 e as formulações lipídicas começaram na década de 90. As mais usadas são a **Abelcet** e a **AmBisome**.

Novos triazólicos: voriconazol (Pfizer) e Posaconazol (ainda não licenciada).

Espectro de ação estendido: abrange a maioria das infecções fúngicas sistêmicas. Têm boa ação sobre *C. krusei*, *C. glabrata*, *Aspergillus* e *Cryptococcus*. As duas primeiras não são sensíveis aos azóis tradicionais, mas também são sensíveis a equinocandinas e anfotericina B. Também *cryptococos*.

Agentes de mucormicose e entomoftromicose não são sensíveis.

Principais drogas antifúngicas em uso no Brasil

Grupo	Principais drogas	Principais vias de administração	Principal indicação terapêutica
Poliênicos	Nistatina	Tópica	Candidíase mucocutânea
	Anfotericina B	Injetável	Micoses sistêmicas
Azóis	Imidazólicos: clotrimazol, miconazol, cetoconazol, etc	Tópica, oral	Micoses superficiais e cutâneas. Subcutâneas?
	Triazólicos: fluconazol, itraconazol, etc	Oral, injetável	Micoses superficiais, cutâneas, sistêmicas Subcutâneas?
Allilamina	Terbinafina	Tópica, oral	Dermatofitoses
Griseofulvina	Griseofulvina	Tópica, oral	Dermatofitoses

Obs₁: Fluconazol não é imidazólico e sim triazólico, ao contrário do que mostra o livro do Trabulsi.

Obs₂: Limitação dos imidazólicos no tratamento de micoses sistêmica → uso oral.

Obs₃: Tratamento de micoses subcutâneas é difícil e o iodeto de potássio constitui a melhor terapêutica para *criptococose*.

Resistência a drogas antifúngicas

Conceito de resistência, resistência primária (algumas cepas não tiveram contato prévio com a droga e já manifestam resistência), intrínseca (todas as cepas são naturalmente resistentes) e secundária (a cepa precisa entrar em contato com a droga para desenvolver resistência).

Azólicos:

Eficazes nas infecções causadas por leveduras. Resistências intrínseca e primária têm sido observadas em algumas espécies de *Cândida* não-*albicans*, como *C. krusei*, *C. norvegensis* e *C. inconspicua*, enquanto a resistência secundária é facilmente adquirida por *C. glabrata*.

A resistência secundária é encontrada com maior frequência em cepas de *C. albicans* isoladas de pacientes HIV-positivos, após tratamento de candidíase oral com fluconazol.

Anfotericina B

Embora em uso clínico há quase 50 anos, a resistência de fungos a esta classe de drogas foi pouco relatada. No entanto, já foi observada resistências intrínseca e primária à anfotericina B, em espécies isoladas com menor frequência, como *Candida lusitanae*, *Candida guilliermondii*, *Candida lipolytica*, *Trichosporon* spp, *Fusarium* spp, *Aspergillus terreus*, *Pseudallescheria boydii* e *Scopulariopsis* spp. Resistência secundária tem sido ocasionalmente descrita para *Candida* spp e *Cryptococcus neoformans*.

Mecanismo de resistência a drogas azólicas

Principalmente no contexto azólico e *cândidas*.

➤ **Expressão aumentada do Gene ERG11:** a resistência gira em torno do gene ERG11 que codifica a 14-alfa-dimetilase.

A cepa do fungo resistente apresenta uma expressão aumentada de ERG11. Assim, o gene vai ser transcrito inúmeras vezes e vai gerar grande quantidade da proteína (14-alfa-dimetilase). Desse modo, sempre haverá grande quantidade de enzimas que não poderão ser totalmente neutralizadas pelos azóis. De outro modo, a quantidade de enzimas sempre será maior do que de azólicos e o ergosterol vai continuar a ser sintetizado.

➤ **Mutação pontual no Gene ERG11:** mutações pontuais podem provocar alterações nas regiões próximas do centro ativo da enzima (molécula M), onde os azólicos agem. O aminoácido altera a conformação da molécula M e a droga não consegue atuar mais. Ou seja, a enzima alterada perde a afinidade pela droga, mas continua agindo na via de biossíntese do ergosterol.

➤ **Expressão aumentada dos genes CDR e MDR1:** estes codificam proteínas que ficam ancoradas nas proteínas citoplasmáticas do fungo e que atuam como bombas de fluxo (do meio MI para o ME). Existem fisiologicamente nas células fúngicas e jogam metabólicos para o meio extracelular.

O fungo quando está quase na fase de morte possui muitos metabólicos tóxicos. Entretanto, na célula resistente, os genes codificadores do CDR e do MDR1 podem ser transcritos sem controle e gerar inúmeras proteínas. Assim, toda droga que penetra na célula fúngica é imediatamente bombeada para fora. Ou seja, a expressão aumentada dos genes reduz o conteúdo intracelular do azólico.

Mecanismos de resistência	Efeito	Consequência
Expressão aumentada do gene <i>ERG11</i>	Aumento do número de moléculas da enzima lanosterol 14 α -desmetilase	Aumento da síntese de ergosterol
Mutação por ponto no gene <i>ERG11</i>	Menor afinidade da 14 α -dimetilase pelos azóis	Conteúdo normal de ergosterol na membrana
Expressão aumentada do gene <i>CDR</i>	Aumento do número de proteínas Cdr que bombeiam a droga para fora da célula	Reduzida concentração intracelular da droga
Expressão aumentada do gene <i>MDR1</i>	Aumento do número de proteínas Mdr que bombeiam a droga para fora da célula	Reduzida concentração intracelular da droga

Mecanismos moleculares de resistência (doutorado da professora)

Como todas as células fúngicas possuem os genes (ERG11, CDR, MDR1, etc), deve-se procurar a quantidade de RNA para poder afirmar se o gene está sendo transcrito sem controle ou não.

Considerando os vários mecanismos de resistência a azólicos, quais deverão ser os novos passos? Criar novas drogas é difícil e também muito caro. A solução é a alteração molecular das drogas. Como já se conhece os aminoácidos mutados que dificultam a ligação do azólico à enzima da célula fúngica, desenha-se a droga de forma que ela consiga efetuar a ligação ao centro M da 14-alfa-DM mesmo com as alterações advindas das mutações. É o caso do Posaconazol e do Voriconazol que por esse motivo atuam sobre *C. glabrata* e *C. krusei*. Outra estratégia seria a associação dos azólicos com moléculas que dificultam o seu bombeamento para fora da célula: ciclosporina, KN20, L-685.

Quimiosensibilidade da *C. albicans* com Kn20: os transportadores ABC (CDR1) diminuem sua atividade a medida que cai a concentração do peptídeo KN20 associado ao azólico. Também diminui a concentração inibitória mínima.