



Introdução e Objetivos

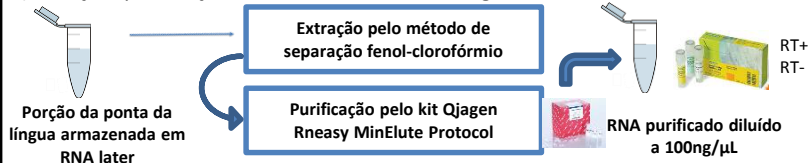
Candida albicans é a espécie mais prevalente e comumente relacionada com manifestações clínicas que variam desde lesões mucocutâneas superficiais, como a Candidose Orofaringea (OPC) até formas disseminadas de infecção. Os genes ERGs regulam a síntese de ergosterol pela modulação de enzimas fundamentais na via de biossíntese. Essa via é essencial para manutenção da integridade da membrana celular fúngica, que é composta principalmente pelo ergosterol, e este por sua vez é alvo de terapias antifúngicas (polienos, azóis). O objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão de genes envolvidos na biossíntese de ergosterol (ERG1; ERG11; ERG3 e ERG25) em *C. albicans* resistente a fluconazol (ATCC 96901) presentes na língua de camundongos submetidos à terapia fotodinâmica (aPDT), Nistatina ou associação de tratamentos.

Metodologia

A) Recuperação das línguas dos animais tratados (CEUA 33/2016):

Grupos experimentais: P-L-: animais foram inoculados com a cepa ATCC96901; P+L-: animais foram inoculados e tratados apenas com fotossensibilizador Photodithazine® (PDZ) por 20 minutos; P-L+: tratamento com a luz LED 50J/cm² por 19 minutos; aPDT: PDZ e LED; NIS: Nistatina tópica 39 minutos; NIS+aPDT e aPDT+NIS. Após 24 horas do término de 5 dias de tratamento consecutivo, os animais tiveram suas línguas cirurgicamente removidas.

B) Extração, purificação e síntese de cDNA das línguas coletadas

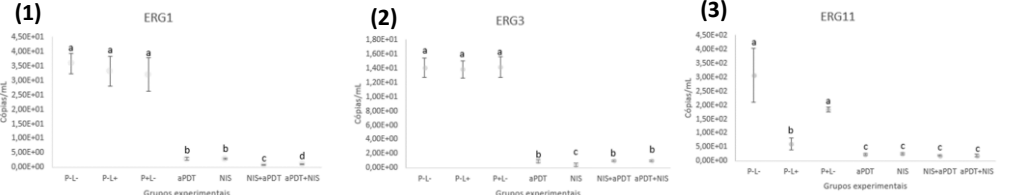


Gene	Sequência <i>primer</i>	Tm (°C)	Tamanho do produto (bp)	[] ótima (nM)
ERG1	F: TGCACGAGACCATTACTATCC	58	139	300
	R: AATCCAGCTCATCAACATTC	56		
ERG3	F: CCACTACTGCCATCCAGTT	60	133	350
	R: GGAATTTGCCACAAGATAGC	58		
ERG11	F: GGTGGTGTAGACATAGA	58,7	159	300
	R: TGCTGGTTCAGTAGGTA	58,9		
ERG25	F: AGATGTTTACCATGGGCTAT	56	93	400
	R: CCATTGTTCTTACTACTAG	54		

Quadro 1: Características dos primers utilizados para análise da expressão gênica

Foi realizada corrida no equipamento CFX96 Bio-Rad da curva de cada primer, a qual apresentou características adequadas¹ e pode seguramente ser utilizada para análise da expressão gênica das amostras (RT+ e RT-). As corridas respeitaram a temperatura de anelamento de cada primer (Quadro 1).

Resultados e conclusão



*Letras iguais denotam igualdade estatística (p>0,05). Letras diferentes denotam diferença estatística (p<0,05).

➤ Os diferentes tratamentos avaliados promoveram redução na expressão dos genes relacionados com a biossíntese do ergosterol (ERG1, ERG3, ERG11 e ERG25) de *C. albicans* indicando que essas modalidades terapêuticas estariam afetando essa via essencial para manutenção e sobrevivência fúngica.

Figura 1 a 4: Expressão gênica avaliada em cada grupo experimental das amostras recuperadas para os genes ERG1, ERG3, ERG11 e ERG25, respectivamente

Referências e agradecimentos.

1) Nolan T, Hands RE, Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. Nat Protoc.2006; 1(3): 1559–82.

