

SUSCEPTIBILIDADE "IN VITRO" DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*, *PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS*, *SPOROTHRIX SCHENCKII* E *FONSECAEA PEDROSOI* A ESTERÓIDES *

Maria do Rosário R. Silva, Orionalda de Fátima Lisboa Fernandes.

RESUMO

O efeito inibitório de dietilestilbestrol, estradiol, progesterona e testosterona, diluídas em água, resultando concentrações de 7,5; 10,0; 12,5; e 15,0; Ug/ml de meio foram determinadas sobre amostras de *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Fonsecaea pedrosoi* e *Sporothrix schenckii*.

Testosterona não mostrou influência no crescimento de nenhuma das amostras.

Progesterona e estradiol a 7,5 Ug/ml mostraram pequena inibição de crescimento de *Paracoccidioides brasiliensis* e a 15,0 Ug/ml o estradiol mostrou inibição quase total no desenvolvimento deste fungo.

A substância mais ativa, na inibição de todos os fungos, no entanto, foi o estilbestrol que a 10,0 Ug/ml suprimiu completamente o crescimento de *Paracoccidioides brasiliensis*, e a 15,0 Ug/ml inibiu razoavelmente o desenvolvimento de todos os outros fungos testados.

UNITERMOS: *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* e *Fonsecaea pedrosoi*.

INTRODUÇÃO

Inquéritos intradérmicos com paracoccidioidina demonstram que a infecção

por *Paracoccidioides brasiliensis* é verificada com igual frequência em ambos os sexos (7). No entanto as formas progressivas de paracoccidioidomicose incidem

* Trabalho do Centro de Pesquisa em Paracoccidioidomicose da UFGO. Patrocinado pela FINEP

mais frequentemente em homens do que em mulheres (1). O mesmo ocorre com a infecção por *Sporothrix schenckii* e com a esporotricose (2). Restrepo e cols. observaram na Colômbia uma incidência de 75% de esporotricose no sexo masculino (10). Romeia e Trejos relataram 34 casos de cromoblastomicose, nos quais só uma era mulher (11). Muchmore e cols. recompilaram 45 casos de criptococose nos quais 33 pertenciam ao sexo masculino (6). Entretanto, a inexistência de bons antígenos de *Cryptococcus neoformans* e de *Fonsecaea pedrosoi* não permitem verificar a prevalência de infecção desses fungos em relação ao sexo do hospedeiro.

A maior incidência dessas micoses no sexo masculino, não pode ser explicada apenas pelo maior contato que ele mantém com a natureza e por conseguinte ao agente etiológico.

Investigações sobre o papel de outros fatores, além da exposição, e o provável relacionamento hormonal para o desenvolvimento de algumas micoses, fez com que tentássemos dietilestilbestrol, estradiol, progesterona e testosterona in vitro sobre *Paracoccidioides brasiliensis*, *Cryptococcus neoformans*, *Sporothrix schenckii* e *Fonsecaea pedrosoi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os fungos foram isolados no laboratório de Micologia do Instituto de Patologia Tropical, procedentes de pacientes enviados pelo Hospital das Clínicas da UFGO. e Hospital de Doenças Tropicais de Goiânia.

Foram utilizadas duas amostras de cada fungo: *Cryptococcus neoformans*

(4188, 5287); *Paracoccidioides brasiliensis* (662, 2052); *Fonsecaea pedrosoi* (4705, 4918); *Sporothrix schenckii* (4309, 5182), as quais foram cultivadas em ágar Sabouraud, mantidos a temperatura ambiente.

As substâncias empregadas são produtos comercializados que têm como droga ativa, os hormônios: dietilestilbestrol (Honvan) (Difosfato tetrassódico de dietilbestrol), estradiol como valerianato de estradiol — (Primogyna Depot; Berlimed), progesterona como acetato de medroxiprogesterona (Provera — Upjohn), testosterona como enantato de testosterona (Primotest — Berlimed). Estas substâncias foram dissolvidas em água destilada e as soluções estoques resultantes foram adicionadas ao meio de ágar Sabouraud e distribuídas em tubos; concentração final de esteróides foi de 7,5%; 10,0; 12,5 e 15,0 Ug/ml de meio. A concentração final do hormônio foi constante: 0,25mg/ml.

Fragmentos homogêneos das culturas foram semeados no meio contendo os hormônios. Para todas as concentrações e controles (sem adição de hormônio) usava-se 4 tubos para cada uma das amostras.

Os tubos foram observados diariamente até 1 mês e o crescimento foi registrado como: Intenso (I); Bom (B); Regular (R); Pouco (P) e sem crescimento (Sc).

RESULTADOS:

20 dias de incubação mostraram o seguinte com relação ao crescimento dos fungos: Tabelas I, II, III e IV.

TABELA I — Crescimento dos fungos à concentração hormonal de 7,5Ug/ml.

Substâncias	<i>Cryptococcus neoformans</i>		<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>		<i>Sporothrix schenckii</i>		<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	
	4188	5287	662	2052	4309	5182	4705	4918
Testosterona	I	I	I	I	I	I	I	I
Progesterona	I	I	B	B	I	I	I	I
Estradiol	I	I	B	B	I	I	I	I
Dietilestilbestrol	B	B	P	P	B	I	B	B

TABELA II — Crescimento dos fungos à concentração hormonal de 10,0Ug/ml.

Substâncias	<i>Cryptococcus neoformans</i>		<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>		<i>Sporothrix schenckii</i>		<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	
	4188	5287	662	2052	4309	5182	4705	4918
Testosterona	I	I	I	I	I	I	I	I
Progesterona	I	I	B	B	I	I	I	I
Estradiol	I	I	B	B	I	I	I	I
Dietilestilbestrol	B	B	Sc	Sc	R	B	R	B

TABELA III — Crescimento dos fungos à concentração de 12,5Ug/ml de hormônios.

Substâncias	<i>Cryptococcus neoformans</i>		<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>		<i>Sporothrix schenckii</i>		<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	
	4188	5287	662	2052	4309	5182	4705	4918
Testosterona	I	I	I	I	I	I	I	I
Progesterona	I	I	R	B	I	I	I	I
Estradiol	I	I	B	B	I	I	I	I
Dietilestilbestrol	B	B	Sc	Sc	R	B	R	B

SILVA, M. do R. R. & FERNANDES, O. de F. L. - Susceptibilidade "in vitro" de *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* e *Fonsecaea pedrosoi* a esteróides. Rev. Pat. Trop. 15(1): 1-6, jan./abr. 1986.

SILVA, M. do R. R. & FERNANDES, O. de F. L. - Susceptibilidade "in vitro" de *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* e *Fonsecaea pedrosoi* a esteróides. Rev. Pat. Trop. 15(1): 1-6, jan./abr. 1986.

TABELA IV - Crescimento dos fungos à concentração hormonal de 15,0Ug/ml.

Substâncias	Cryptococcus		Paracoccidioides		Sporothrix		Fonsecaea	
	neoformans	4188 5287	brasiliensis	662 2052	schenckii	4309 5182	pedrosoi	4705 4918
Testosterona	I	I	I	I	I	I	I	I
Progesterona	I	I	R	R	I	I	I	I
Estradiol	I	I	B	B	I	I	I	I
Dietilestilbestrol	B	R	Sc	Sc	R	R	R	R

Todos os controles mostraram um bom crescimento.

Testosterona não influenciou no desenvolvimento normal de nenhuma das amostras estudadas.

Progesterona e Estradiol só modificaram o crescimento do *Paracoccidioides brasiliensis*. A 7,5 Ug/ml, os dois hormônios mostraram uma pequena inibição de crescimento, mas só a progesterona foi capaz de aumentar a inibição de crescimento, sendo que a 15,0 Ug/ml o crescimento foi mínimo.

Dietilestilbestrol mostrou-se a substância mais eficaz na inibição do crescimento dos fungos. Seu poder de inibição começou a 7,5 Ug/ml e a 10,0 Ug inibiu totalmente o crescimento de *Paracoccidioides brasiliensis* e a 15,0 Ug foi capaz de inibir razoavelmente o crescimento de *Cryptococcus neoformans*, *Sporothrix schenckii* e *Fonsecaea pedrosoi*.

DISCUSSÃO

Os resultados encontrados mostraram que estradiol e progesterona têm um

certo efeito inibitório no crescimento de *Paracoccidioides brasiliensis* e sua atividade inibitória é muito maior do que testosterona nas mesmas condições. No entanto, estes três hormônios não afetaram o crescimento de nenhum dos outros fungos testados.

Estilbestrol, composto sintético que tem atividade estrogênica, demonstrou maior efeito inibitório do que todas as outras substâncias testadas. Segundo Muchmore e cols. (4, 7) as concentrações requeridas para produzir efeito inibitório *in vitro* são muito maiores do que as concentrações destas substâncias observadas no organismo. Não se sugere que os efeitos do estrógeno natural não seja responsável pela baixa incidência de paracoccidioidomicose relatada no sexo feminino.

Entretanto, o grande número de casos relatados no sexo masculino, quando comparados com os ocorridos no sexo feminino e os testes de hipersensibilidade retardada a paracoccidioidina, equivalente nos dois sexos, leva-nos a acreditar que o sexo feminino possui

maior resistência ao fungo do que o sexo masculino.

Para o *Cryptococcus neoformans*, a moderada inibição do *estilbestrol* e do *estradiol* não foram coincidentes aos encontrados por Mohr e cols. (4), o qual conseguiu uma inibição total de crescimento em concentrações tão baixas como 5 Ug/ml para o *estilbestrol* e 1,0 Ug/ml para o *estradiol*. Também para espécies de *Aspergillus* Mohr e cols. (5) conseguiram sua inibição total com 0,05 Ug de *estradiol*.

Kerr e cols. observaram que animais do sexo feminino foram mais susceptíveis à paracoccidioidomicose do que os do sexo masculino. Esta observação contrasta com a opinião de vários pesquisadores (3, 8, 9) que freqüentemente, evidenciam uma maior susceptibilidade das infecções ao sexo masculino.

Sugere-se novos estudos neste campo. Não se conhece o efeito isolado dos hormônios com relação à susceptibilidade de infecções, mas acredita-se que haja envolvimento de outros fatores, tornando o assunto de maior complexidade.

SUMMARY

Susceptibility for steroids "in vitro" of the *Cryptococcus neoformans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* and *Fonsecaea pedrosoi*

The inhibitory effect of the drugs *stilbestrol*, *estradiol*, *progesterone* and *testosterone* dissolved in water resulting concentrations of 7,5; 10,0; 12,5 e 15,0 Ug/ml of medium were determined abo-

ve patterns of *Cryptococcus neoformans*; *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii* and *Fonsecaea pedrosoi*.

Testosterone didn't show any influence on the development of any from the patterns that were studied.

Progesterone and *estradiol* at 7,5 Ug/ml showed a small inhibition of development of *Paracoccidioides brasiliensis* and at 15,0 Ug/ml the *estradiol* showed almost total inhibition on the development of this fungus.

The more active drug on the inhibition of all the fungus, however, was the *stilbestrol* that in the concentration of 10,0 Ug/ml suppressed completely the development of the *Paracoccidioides brasiliensis* and on 15,0 Ug/ml inhibited sensibility the development of all the others fungus that were tested.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01 - BARBOSA, W. - Blastomicose Sul-americana. Contribuição ao seu estudo no estado de Goiás. Tese de livre docência. Goiânia-Goiás. 1968.

02 - BELLIBONI, N. - Esporotricose. Contribuição para o estudo epidemiológico, histopatológico e terapêutico. Tese, Universidade de São Paulo, pg 1-160, 1960.

03 - LONDERO, A. T. - Paracoccidioidomicose (Blastomicose Sul-americana) Epidemiologia da paracoccidioidomicose. Ars. Curandi, 7: 14-22. 1975.

04 - MOHR, J. A.; LONG, H.; MCKOWN, B. A. and MUCHMORE, H. G. - In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to steroids Sabouraud, 10: 171-172, 1972.

- 05 - MOHR, J. A.; MCKOWN, B.A.; MUCHMORE, H. G. - Susceptibility of *Aspergillus* to steroids, amphotericin B and nystatin. *American review of respiratory disease.* 103: 283-284. 1971.
- 06 - MUCHMORE, H. G.; FELTON, F.G.; SAHIN, S. B.; RHOADES, E. R. - Ecology and epidemiology of *Cryptococcus*. In *International Symposium on mycoses.* PAHO, Sc. Publ. 205: 202-206, 1970.
- 07 - MUCHMORE, H. G.; MCKOWN, B.A. and MOHR, J. A. - Effect of steroid hormones on the growth of *Paracoccidioides brasiliensis*. In *Pan American Symposium on paracoccidioidomycosis*, I. Medellin. *Proceedings Washington, PAHO, Sc. Publ.* 254: 300-304, 1972.
- 08 - NEGRONI, P. & NEGRONI, R. - Nuestra experiencia de la Blastomicosis Sudamericana en la Argentina. *Mycopathologia Mycologia Applicata.* 26: 264-272. 1965.
- 09 - RESTREPO, A.; D.L. GREER; VASCONCELOS, M. - *Paracoccidioidomycosis: A review.* *Rev. Med. Veter. Mycology.* 8: 97-123, 1973.
- 10 - RESTREPO, A.; CALLE, G. V.; SANCHEZ, A. J.; CORREA, G.A. - A review of medical mycology in Colombia, South American. *Mycopathologia,* 17: 93-110, 1962.
- 11 - ROMERO, A. & TREJOS, A. - La Cromoblastomicosis en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.,* 1: 95-115, 1953.