

Plantas antifúngicas: uma alternativa para tratamento de micoses durante a gestação?

Análise do problema e metodologia para avaliação de teratogenicidade

GUILHERMINO PEREIRA NUNES JUNIOR¹
SIMONE DE CÁCIA DOS SANTOS²

¹ Doutor em Ciências – Psicobiologia pela Escola Paulista de Medicina (EPM)/ Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) / *Clarke Institute of Psychiatry*/ Universidade de Toronto-Canadá. Professor Adjunto de Farmacologia da Universidade Federal de Goiás (UFG), Coordenador do Curso de Especialização em Farmacologia para Farmacêuticos/UFG e Coordenador do Laboratório de Teratogênese Experimental/UFG.

² Mestranda do Laboratório de Teratogênese Experimental da UFG.

Uso e interesse por plantas medicinais

Diversas drogas atualmente usadas na medicina são extraídas de plantas. Após a sua identificação, o princípio ativo pode ser purificado e preparado na forma de medicamento para o consumo. Nesse sentido, o uso de plantas medicinais, na forma bruta ou purificada, tem sido rotineiro na medicina moderna. Na realidade, as plantas, de uma forma geral, sempre funcionaram como uma alternativa para a medicina, para corrigir distúrbios ou minimizar sintomas de doenças.

Plantas do mundo inteiro têm sido estudadas, a fim de se descobrir o seu potencial terapêutico. Laboratórios farmacêuticos, inclusive alguns internacionais, têm-se interessado na comercialização dessas plantas, pois elas representam um mercado em ascensão. Pelo divulgado em jornais televisivos, parece que o uso de plantas medicinais tem aumentado, nos Estados Unidos da América.

Apesar do grade potencial terapêutico das plantas medicinais, seus efeitos são pouco estudados e entendidos. Seu uso é justificado pela prática de uso pela população adepta à medicina alternativa. A etnofarmacologia confirma a eficácia de várias plantas do cerrado. Porém, a sociedade moderna exige segurança nos tratamentos a que se submetem. Portanto, o uso dessas plantas não pode ser baseado apenas em experiências individuais não controladas sobre seus efeitos, as quais são relatadas pelos usuários, mas sim em resultados de estudos científicos controlados que garantiriam a eficácia terapêutica do uso das plantas medicinais.

Teratogênese provocada por plantas medicinais

A avaliação do efeito teratogênico é de extrema

importância, pois fornece dados sobre a segurança do uso de drogas, durante o período gestacional e da amamentação. Sabe-se, desde a tragédia da talidomida, a qual foi administrada em inúmeras mulheres gestantes, que o uso de drogas, nesse período crítico do desenvolvimento humano, pode trazer conseqüências irreversíveis para o ser em desenvolvimento (AMA, 1995).

Desde então, tornou-se obrigatório para a comercialização de medicamentos a determinação dos efeitos teratogênicos das drogas candidatas a tornarem-se medicamentos para o uso em humanos. No Brasil, portarias e resoluções estabelecem obrigatoriedade de estudos de teratogênese animal em, pelo menos, duas espécies de mamíferos, até mesmo para plantas medicinais, para que o medicamento adquira registro (SVS-MS, 1995; SVS-MS, 1994; CNS-MS, 1988;).

Nesse sentido, torna-se obrigatório a determinação de possíveis efeitos teratogênicos das plantas medicinais, seja no seu estado bruto ou purificado, para que o seu uso durante a gestação e/ou lactação torne-se seguro.

Estudos de teratogênese são feitos em animais de laboratório como ratos e camundongos. Obviamente, questões éticas proíbem os estudos em humanos. Os dados obtidos em humanos, até hoje, são provenientes de uso acidental ou inadvertido de drogas, durante a gestação e lactação. Os estudos em animais de laboratório fornece um perfil dos efeitos da droga no embrião e no feto.

Caso seja detectado algum efeito comprometedor, o uso da droga fica restrito ou totalmente proibido, dependendo do efeito observado. Uma advertência quanto ao uso na gestação e lactação fica sendo obrigatória, caso seja detectado qualquer tipo de alteração no ser em desenvolvimento.

Tabela 1 - Relação entre a administração de drogas/fármacos nas diferentes fases gestacionais e tipos de efeitos observados no embrião/feto

Fase Gestacional	Implantação e Blastogênese	Organogênese	Desenvolvimento Fetal
Período Gestacional	1-13º dia	13º ao 56º dia	2º ao 9º mês
Tipo de efeito	Embriotoxicidade (incluindo morte do embrião)	Malformações fetais	Toxicidade fetal Prejuízo no desenvolvimento fetal

Micoses em gestantes

Mulheres gestantes apresentam uma maior incidência de micoses do que mulheres não grávidas (Abu-Elten e cols., 1997 e Kubota, 1998), principalmente de candidíase vaginal. O uso de antimicóticos ou fungistáticos nessas gestantes deve ser muito cauteloso, porque os antimicóticos imidazólicos, os preferidos para o tratamento de candidíase, são todos teratogênicos (King e cols., 1998).

Por isso, antimicóticos imidazólicos, como o cetoconazol, itraconazol, terconazol, miconazol, fluconazol entre outros, somente podem ser usados em gestantes pela via tópica, na forma de cremes vaginais. *O Food and Drug Administration (FDA)* recomenda o uso de Clotrimazol ou Miconazol tópico para tratamento de candidíase vaginal, durante a gestação (Nauser e McGahan, 1999).

No entanto, existem diversos casos descritos na literatura de micoses sistêmicas por cândida, criptococ-

cus e coccidioidomocose, como, por exemplo, candidíase maternofetal disseminada (Baud e cols., 1997), sepsis por *Candida albicans* (Wiesinger e cols., 1996), pneumonia criptocócica (Ely e cols., 1998), meningite criptocócica (Chen & Wang, 1996) e coccidioidomocose pulmonar (Peterson e cols., 1993).

Nesses casos, o tratamento, obviamente, deve ser feito pela via sistêmica. Porém, como afirmado anteriormente, os imidazólicos não são recomendados para gestantes pela via sistêmica por causa de seu potencial teratogênico (tabela 2). O uso de anfotericina B para o tratamento de micoses sistêmicas em gestantes é comum (Dean e cols., 1994) e é aprovado pelo FDA. Porém esse antifúngico causa toxicidade para a gestante e para o feto (Dean e cols., 1994).

Assim, o uso de plantas medicinais com atividade antifúngica, mas que não provoquem teratogênese ou que sejam menos tóxicas para a mãe gestante, seria uma alternativa terapêutica para tratamento de micoses sistêmicas, durante a gestação.

Tabela 2 - Recomendações quanto ao uso de antifúngicos/antibacterianos durante a gestação

Relativamente Seguro	Risco Mínimo	Evidências de Risco Fetal	Risco Fetal Significativo
Amoxicilina	Aciclovir	Amicacina	Ciprofloxacina
Ác. Clavulânico	Aztreonam	Gentamicina	Norfloxacina
Ampicilina	Azitromicina	Cetoconazol	Ofloxacina
Penicilina	Claritromicina	Fluconazol	Tetraciclina
Oxacilina	Cloranfenicol	Itraconazol	Doxicilina
Cefalosporinas	Imipenem	Miconazol	
Eritromicina	Metronidazol	Etambutol	
Nitrofurantoína	Vancomicina	Isoniazida	
Anfotericina B		Pirazinamida	
Clotrimazol (tópico)		Rifampicina	
Miconazol (tópico)		SMX+TMP	

Extraído do *Washington Manual de Terapêutica Clínica*. 29ª Edição. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999

Metodologia para estudo de teratogênese

Os estudos de teratogênese, segundo o FDA, exige que testes de teratogênese com drogas sejam feitos para determinar, pelo menos, três tipos de efeitos importantes (tabela 1), como descrito abaixo.

1. Efeito embriotóxico, que pode acontecer, quando a droga é administrada, durante o período de implantação e que pode resultar na morte do embrião, às vezes, antes mesmo de ele ser implantado;

2. Malformações fetais, que podem acontecer, quando a droga é administrada, durante a organogênese e que pode resultar no aparecimento de anomalias no feto;

3. Retardo de desenvolvimento fetal ou toxicidade fetal, que pode acontecer, quando a droga é administrada, a partir do 2º mês da gestação.

Adicionalmente, deve-se determinar se a droga é secretada de forma significativa pelo leite materno, quando a mesma é administrada, no período lactacional, o que pode causar toxicidade no recém-nascido.

São analisadas, nesses estudos, além do efeito embriotóxico, anomalias viscerais e esqueléticas, utilizando-se técnicas, como fixação pelo Líquido de Bouin (Barrow and Taylor, 1969) e coloração do esqueleto pelo vermelho de Alizarina (Kelly e Bryden, 1983 e Boardman, 1984), respectivamente.

Para tais estudos, podemos utilizar ratas Wistar, desde que virgens, sexualmente maduras, com peso aproximadamente entre 180 e 220 g, e machos da mesma espécie, adultos, pesando em torno de 250g, para o acasalamento. Os animais devem ser mantidos, durante os períodos de adaptação (aproximadamente dez dias) e de experimentação, em sala climatizada, com temperatura ambiente controlada (23 – 25° C) e ciclo claro/escuro de doze horas. Água e ração devem ser oferecidas *ad libitum*, durante todo o período de experimentação.

Para o acasalamento, as ratas são avaliadas, quanto à fase do ciclo estral. Ao se diagnosticar o proestro, o animal diagnosticado deverá ser colocado em uma gaiola de polietileno com um macho. Na manhã, deverá ser feita a coleta do material vaginal das fêmeas, tendo-se o cuidado para não estimular o cérvix uterino e induzir pseudo-gravidez.

A presença de espermatozoides, observados no exame microscópico dos esfregaços vaginal, indicará o dia zero gestacional. Este procedimento deve ser repetido, até que o número desejado de réplicas seja alcançado. Durante a gestação, as fêmeas deverão ser mantidas em gaiolas individuais.

Para a determinação de possível teratogênese, deve-se utilizar extratos de plantas medicinais em três doses crescentes, que devem ser administradas, nos períodos de implantação (1º ao 6º dia gestacional) e de organogênese (6º ao 16º dia gestacional) por gavage (via oral).

O solvente utilizado para a preparação dos extratos deverá ser administrado no grupo controle. Devem ser formados então oito grupos experimentais, quatro

para administração de solução, controle ou extrato, durante o período de implantação e outros quatro para repetir as administrações, durante o período da organogênese.

No transcorrer dos experimentos, a ingestão diária de água e ração deverá ser observada, bem como o ganho periódico de peso das ratas prenhes, pois estes parâmetros, junto com a observação física e comportamental, são úteis para se verificar possível toxicidade do produto para as fêmeas gestantes nas doses administradas.

As ratas prenhes devem ser eutanasiadas, no 20º dia de gestação. A inalação de éter é uma alternativa para eutanásia, pois é menos agressiva e indolor para a mãe e os fetos. Deve ser feita uma laparotomia com exposição dos cornos uterinos, verificando os pontos de implantação, as reabsorções precoce e tardia e o número de fetos mortos e vivos. Estes últimos, após retirados, devem ser pesados e examinados, quanto à presença de anomalias externas. Após retiradas, as placentas devem ser examinadas e pesadas.

Os ovários devem ser retirados e observados sob estereomicroscópio. Os corpos lúteos são contados para avaliação de quantidade de óvulos eliminados.

Realizada a observação externa dos fetos, metade de cada ninhada deverá ser eviscerada e, após diafanização e coloração com Vermelho de Alizarina (Kelly e Bryden, 1983 e Boardman, 1984), deverá ser avaliada, quanto à presença ou não de alterações esqueléticas. Os pontos de ossificação devem ser contados para determinação do grau de desenvolvimento fetal. Após fixação completa em Líquido Bouin, a outra metade dos fetos deverá ser analisada, utilizando-se o método de secções seriadas (Barrow & Taylor, 1969), para detectar-se possíveis malformações e/ou anomalias fetais.

Conclusões

Micoses, principalmente candidíase vaginal, são comuns, durante a gestação. O tratamento deve ser feito preferencialmente pela via tópica, através de óvulos ou cremes vaginais, porque os principais antifúngicos, os imidazólicos, não são seguros se administrados por via oral ou parenteral, durante a gestação.

Existem evidências de risco fetal relatados na literatura médica e, adicionalmente, os imidazólicos não são recomendados pelo FDA, durante a gestação, a não ser se administrados topicamente na vagina.

Porém, há casos de micoses sistêmicas descritos na literatura científica. Nestes casos, o antifúngico preferido é a anfotericina B que, apesar da possível toxicidade materna e fetal, esse fármaco não apresenta teratogenicidade. Em outras palavras, o risco para o feto, quanto ao uso de Anfotericina B pela gestante, fica restrito apenas à intoxicação, que pode ser reversível, através intervenções médicas, e não para o desenvolvimento de malformações, que são irreversíveis.

O esclarecimento sobre o problema abordado, nesse artigo, contribui para que o profissional farma-

cêutico oriente melhor as pacientes gestantes com diagnóstico de candidíase ou outros tipos de micoses. A orientação deve ser em vários sentidos, a saber (tabela 3):

- orientação para tratamento adequado e inadiável de candidíase vaginal, para evitar complicações gestacionais, como invasão do fungo para o útero, líquido amniótico e vasos sanguíneos adjacentes, com conseqüente desenvolvimento micose sistêmica e/ou rotura precoce da bolsa;
- orientação das pacientes gestantes em tratamento antifúngico para que não abusem da medicação, pois existe o risco de absorção sistêmica e possibilidade de desenvolvimento de malformações fetais;
- orientação sobre como são feitos os testes de teratogenicidade, para poder explicar melhor às pacientes o significado desse tipo de teste.

É importante ressaltar que quando se encontra algum efeito teratogênico em animais de laboratório, esse efeito não necessariamente será o mesmo em humanos. Apesar da semelhança entre animais de laboratório e humanos, quanto ao desenvolvimento e à fisiologia, existem, obviamente, diferenças fisiológicas e de desenvolvimento que são marcantes.

Assim, alguns efeitos teratogênicos que foram detectados em roedores nunca foram encontrados em humanos, e a recíproca é verdadeira. A talidomida é muito mais teratogênica para humanos do que para roedores. Porém, quando se encontra algum efeito teratogênico em animais de laboratório, o risco desse efeito aparecer em humanos é bem maior, por causa da semelhança entre essas duas espécies.

Como não se pode fazer testes de teratogênese em humanos, os dados encontrados nos animais de laboratório são os que norteiam a prática médica quanto à segurança do uso de medicamentos durante a gestação. Infelizmente, muitos casos acidentais de teratogênese por uso de medicamentos durante a gestação já foram obtidos e eles são usados no sentido de se evitar a repetição dos resultados.

O estudo da teratogênese induzida por drogas ou fármacos é muito exaustivo. Muito ainda deve ser feito, principalmente no que diz respeito às plantas medicinais, pois poucos estudos foram feitos, apesar de que a legislação exija a execução desses estudos. Esperamos e sugerimos que instituições governamentais e Universidades consigam suprir essa carência de estudos e que os órgãos fiscalizadores consigam fazer cumprir as exigências legais.

Tabela 3 - Orientações importantes que o farmacêutico deve fornecer ao dispensar medicamentos para gestantes

Orientação para tratamento adequado e inadiável para evitar complicações gestacionais, como invasão do fungo para o útero, líquido amniótico e vasos sanguíneos adjacentes, com conseqüente desenvolvimento micose sistêmica e/ou rotura precoce da bolsa;

Orientação das pacientes gestantes em tratamento antifúngico para que não abusem da medicação, pois existe o risco de absorção sistêmica e possibilidade de desenvolvimento de malformações fetais;

Orientação sobre como são feitos os testes de teratogenicidade, para poder explicar melhor às pacientes o significado desse tipo de teste.

Extraído do *Washington Manual de Terapêutica Clínica*. 29ª Edição. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999

Referências Bibliográficas

1. ABU-ELTEEN, K.H.; ABDUL MALEK, A.M.; ABDUL WAHID, N.A. Prevalence and susceptibility of vaginal yeast isolates in Jordan. *Mycoses*; 40(5-6): 179-185, 1997.
2. AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION. *Drug Evaluations: Annual 1995*. USA. cap. 3 Adverse Drug Events, p.39-58.
3. BARROW, M.V.; TAYLOR, W.J. A rapid method for detecting malformations in rat fetusus. *J. Morpho*, 127(3): 291-306, 1969.
4. BAUD, O.; BOITHIAS, C.; LACAZE-MASMOTEIL, T. et al. Infection maternofetale desseminee a Candida albicans et grand prematurite. *Arch. Pediatr*, 4(4): 331-334, 1997.
5. BOARDMAN, J.P., Cartilage staining technique for the examination of unskinned fetal rat specimens previously processed with alizarin red S. *Teratology*, 30: 383-384, 1984.
6. CHEN, C.P.; WANG, K.G. Cryptococcal meningitis in pregnancy. *Am J Perinatol*, 13 (1): 35-36, 1996.
7. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. *Resolução No 1*, 13 Jun. 1988. Diário Oficial, Brasília, 5 Jan. 1989. Seção 1, p.300-315.

8. DEAN, J.L.; WOLF, J.E.; RANZINI, A.C. et al. Use of amphotericin B during pregnancy; case report and review. *Clin Infect Dis*; 18(3): 364-368, 1994.
 9. ELY, E.W.; PEACOCK JUNIOR, J.E.; HAPONIK, E.F. et al. Cryptococcal pneumonia complicating pregnancy. *Medicina*, 77(3): 153-167, 1998.
 10. KELLY, W.L.; BRYDEN, M.M. A modified differential stain for cartilage and bone in whole mount preparations of mammalian fetuses and small vertebrates. *Stain Technol*, 58(3): 131-134, 1983.
 11. KING, C.T.; ROGERS, P.D.; CLEARY, J.D. et al. Antifungal therapy during pregnancy. *Clin Infect Dis*, 27(5): 1151-1160, 1998.
 12. KUBOTA, T. Chronic and recurrent vulvovaginal candidiasis. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 39(4): 213-218, 1998.
 13. NAUSER, T.D.; MCGAHAN, M.M. *Gravidez e Terapêutica Clínica*. In: CAREY, C.F.; LEE, H. H.; WOELTJE, K.F. Washington Manual de Terapêutica Clínica. 29ª Edição. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999. p. 619-622.
 14. PETERSON, C.M.; SCHUPERT, K.; KELLY, P.C.; et al. Coccidioidomycosis and pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*, 48(3): 149-156, 1993.
 15. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Portaria No 123*, 19 Out. de 1994. Diário Oficial, Brasília, 20 de Out. 1994. Seção 1, p. 15903-15905.
 16. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Portaria No 6*, 31 Jan. 1995. Diário Oficial, Brasília, 06 Fev. 1995.
- WIESINGER, E.C.; MAYERHOFER, S.; WENISCH, C.; et al. Fluconazole in Candida albicans sepsis during pregnancy: case report and review of the literature. *Infection*, 24(3): 263-266, 1996.