

**XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica**

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação**

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Estudo da Interação dos Peptídeos Desenhados RR e D-RR e o papel dos íons na regulação da morte celular em *Candida tropicalis*

Douglas Ribeiro Lucas, Filipe Zaniratti Damica, Estefany Bras Toledo, Sergio Henrique Seabra, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho

Doenças disseminadas e invasivas causadas por fungos oportunistas tem sido reconhecida como uma grave ameaça à saúde pública, principalmente pelo aumento da resistência aos fármacos atuais. Portanto, é crucial encontrar novas substâncias terapêuticas capazes tratar estas doenças. As defensinas, uma família de peptídeos antimicrobianos encontrados em plantas, são uma promissora fonte de novas substâncias terapêuticas. Anteriormente, examinamos os  $\gamma$ -cores, que são a região responsável pela atividade biológica das defensinas, e desenhamos os peptídeos A<sub>36,42,44</sub>R<sub>37,38</sub>Y<sub>32-46</sub>VuDef (RR) e D-A<sub>36,42,44</sub>R<sub>37,38</sub>Y<sub>32-46</sub>VuDef (D-RR) baseados no  $\gamma$ -core da defensina de *Vigna unguiculata* (feijão-de-corda) com modificações específicas para aumentar sua atividade antimicrobiana. RR e D-RR induziram a morte de *Candida tropicalis*, com dose letal (DL<sub>100</sub>) de 27,5 e 23  $\mu$ M, respectivamente, e tempo de morte de 6 h para RR e 3 h para D-RR. Ambos peptídeos não apresentaram toxicidade para células de mamíferos e atividade hemolítica em eritrócitos. Sobre o mecanismo de ação, usamos diversos marcadores que indicaram que a morte celular induzida por RR era acidental regulada e para D-RR era uma morte celular regulada independente de metacaspase. O objetivo deste trabalho foi continuar o estudo do mecanismo de ação a partir da interação dos peptídeos e o envolvimento de K<sup>+</sup> na morte de *C. tropicalis* induzida por RR e D-RR. Na DL<sub>100</sub> e tempo de morte, foram avaliados o papel do K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup>, na morte de *C. tropicalis* induzida pelos peptídeos. O K<sup>+</sup> foi adicionado em variados tempos após a adição dos peptídeos. Fizemos ensaios de microscopia confocal com os peptídeos marcados com 5-FAM (5-Carboxyfluorescein) para observar a dinâmica de interação dos peptídeos com a levedura, através da reconstrução 3D e *time lapse*, e a interação dos peptídeos na presença do antioxidante ácido ascórbico (AA) e K<sup>+</sup>. Nossos resultados mostraram que os íons K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup> protegem *C. tropicalis* da morte induzida por RR e D-RR e estes são internalizados pela levedura. A adição do K<sup>+</sup> em diferentes tempos após a adição dos peptídeos é observado uma queda na proteção, indicando a existência de outro sinal para a morte. Na presença do antioxidante e do K<sup>+</sup> os peptídeos continuaram internalizados na célula. Estes resultados são importantes porque indicam que RR e D-RR tem um alvo intracelular e que a eliminação de ROS pelo AA e a reposição do K<sup>+</sup> é a causa da proteção e não o bloqueio da interação por cargas opostas entre os peptídeos e a superfície celular. Nossos resultados podem ajudar no desenvolvimento de novas terapias usando esses peptídeos sintéticos como alternativa aos antifúngicos convencionais.

Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia – UENF

Eixo temático: Biociências e Biotecnologia

Apoio: CAPES, CNPq, FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica**

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação**

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## **Study of the Interaction of Designed Peptides RR and D-RR and the Role of Ions in the Regulation of Cell Death in *Candida tropicalis***

*Douglas Ribeiro Lucas, Filipe Zaniratti Damica, Estefany Bras Toledo, Sergio Henrique Seabra, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho*

Disseminated and invasive diseases caused by opportunistic fungi have been recognized as a serious public health threat, mainly due to the increasing resistance to current drugs. Therefore, it is crucial to find new therapeutic substances capable of treating these diseases. Defensins, a family of antimicrobial peptides found in plants, are a promising source of new therapeutic substances. Previously, we examined the  $\gamma$ -cores, which are the region responsible for the biological activity of defensins, and designed the peptides  $A_{36,42,44}R_{37,38}Y_{32-46}VuDef$  (RR) and  $D-A_{36,42,44}R_{37,38}Y_{32-46}VuDef$  (D-RR) based on the  $\gamma$ -core of *Vigna unguiculata* defensin (cowpea) with specific modifications to increase their antimicrobial activity. RR and D-RR induced the death of *Candida tropicalis*, with lethal dose (DL<sub>100</sub>) of 27.5 and 23  $\mu$ M, respectively, and a death time of 6 h for RR and 3 h for D-RR. Both peptides showed no toxicity to mammalian cells and no hemolytic activity on erythrocytes. Regarding the mechanism of action, we used various markers that indicated that the cell death induced by RR was regulated accidental cell death, while for D-RR it was regulated cell death independent of metacaspase. The aim of this work was to continue studying the mechanism of action based on the interaction of the peptides and the involvement of  $K^+$  in the death of *C. tropicalis* induced by RR and D-RR. In DL<sub>100</sub> and death time, the role of  $K^+$  and  $Na^+$  in the death of *C. tropicalis* induced by the peptides was evaluated.  $K^+$  was added at various times after the addition of the peptides. We performed confocal microscopy assays with the peptides labeled with 5-FAM (5-Carboxyfluorescein) to observe the dynamics of peptide interaction with the yeast, through 3D reconstruction and time-lapse, and the interaction of the peptides in the presence of the antioxidant ascorbic acid (AA) and  $K^+$ . Our results showed that the  $K^+$  and  $Na^+$  protect *C. tropicalis* from death induced by RR and D-RR, and they are internalized by the yeast. The addition of  $K^+$  at different times after the addition of the peptides showed a decrease in protection, indicating the existence of another signal for death. In the presence of the antioxidant and  $K^+$ , the peptides continued to be internalized in the cell. These results are important because they indicate that RR and D-RR have an intracellular target and that the elimination of ROS by AA and the replenishment of  $K^+$  is the cause of protection, rather than the blocking of interaction by opposite charges between the peptides and the cell surface. Our results can help in the development of new therapies using these synthetic peptides as an alternative to conventional antifungals.

Graduate Program in Biosciences and Biotechnology – UENF

Thematic axis: Biosciences and Biotechnology

Support: CAPES, CNPq, FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

