

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

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Círculo de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



**UIII Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação**

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Combinação sinérgica de peptídeos sintéticos e anfotericina B causa dano à membrana plasmática de *Candida albicans*

Thaynã Amanda Melo Souza, Érica de Oliveira Mello, Gabriel Bonan Taveira, Felipe Figueirôa Moreira, Sergio Henrique Seabra, André de Oliveira Carvalho, Maria Clara Menezes dos Santos e Valdirene Moreira Gomes

Infecções fúngicas invasivas ou não invasivas causadas por *Candida albicans* são um problema de saúde mundial. Os antifúngicos disponíveis no mercado são bastante limitados, por isso mais esforços têm sido feitos na busca por novos antifúngicos com baixa citotoxicidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a combinação de peptídeos sintéticos (baseados no domínio γ -core da defensina PvD₁) com anfotericina B em diferentes concentrações contra a levedura *C. albicans*. Aplicamos a técnica checkerboard utilizando diferentes concentrações da anfotericina B e dos peptídeos sintéticos γ_{31-45} PvD₁⁺⁺ e γ_{33-41} PvD₁⁺⁺, contra *C. albicans*, visando encontrar combinações com interações sinérgicas. Estudos de mecanismos de ação foram realizados com auxílio de microscopia de fluorescência e fluoróforos específicos para cada mecanismo, e microscopia eletrônica de transmissão. Quatro combinações com atividade foram obtidas, sendo duas combinações com efeito aditivo: quando usamos 0,009 μ M do peptídeo γ_{33-41} PvD₁⁺⁺ e 13,23 μ M da anfotericina B e quando usamos 0,019 μ M do peptídeo γ_{33-41} PvD₁⁺⁺ e 6,61 μ M de anfotericina B. As outras duas combinações da interação apresentaram efeito sinérgico na combinação do peptídeo sintético γ_{31-45} PvD₁⁺⁺ e anfotericina B, onde as concentrações foram 1,40 μ M de peptídeo γ_{31-45} PvD₁⁺⁺ e 0,004 μ M de anfotericina B, e, 0,70 μ M de peptídeo γ_{31-45} PvD₁⁺⁺ e 0,002 μ M de anfotericina B. O mecanismo de ação com as combinações de efeito sinérgico, foi analisado, e não foi possível observar permeabilização de membranas e aumento da produção endógena de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas condições testadas. Através da microscopia eletrônica de transmissão, observamos que ambas as combinações sinérgicas foram capazes de causar danos à membrana plasmática e à parede celular, causando vazamento de componentes intracelulares da parede. Em conclusão, esta descoberta demonstra pela primeira vez que as combinações sinérgicas encontradas entre o peptídeo sintético γ_{31-45} PvD₁⁺⁺ e a anfotericina B tem efeito antifúngico contra a levedura *C. albicans*, atuando na integridade da membrana plasmática e da parede celular, o que pode oferecer uma nova alternativa terapêutica para o tratamento de doenças fúngicas relacionadas a este microorganismo.

Palavra-chave: Levedura, Mecanismo de Ação, Peptídeo Sintético e Sinergismo.

Instituição do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Vegetal: UENF

Eixo temático: Biotecnologia Vegetal

Fomento da bolsa: CAPES, CNPq, FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Synergistic combination of synthetic peptides and amphotericin B causes damage to the plasma membrane of *Candida albicans*

Thaynã Amanda Melo Souza, Érica de Oliveira Mello, Gabriel Bonan Taveira, Felipe Figueirôa Moreira, Sergio Henrique Seabra, André Oliveira de Carvalho, Maria Clara Menezes dos Santos e Valdirene Moreira Gomes

Invasive or non-invasive fungal infections caused by *Candida albicans* are a worldwide health problem. The antifungals available on the market are quite limited, so more efforts have been made in the search for new antifungals with low cytotoxicity. The objective of this work was to evaluate the combination of synthetic peptides (based on the γ -core domain of *PvD*₁ defensin) with amphotericin B at different concentrations against the yeast *C. albicans*. We applied the checkerboard technique using different concentrations of amphotericin B and the synthetic peptides $\gamma_{31-45}PvD_{1}^{++}$ and $\gamma_{33-41}PvD_{1}^{++}$, against *C. albicans*, aiming to find combinations with synergistic interactions. Studies of mechanisms of action were performed with the aid of fluorescence microscopy and specific fluorophores for each mechanism, and transmission electron microscopy. Four combinations with activity were obtained, two combinations with additive effect: when we used 0.009 μM of $\gamma_{33-41}PvD_{1}^{++}$ peptide and 13.23 μM of amphotericin B and when we used 0.019 μM of $\gamma_{33-41}PvD_{1}^{++}$ peptide and 6.61 μM of amphotericin B. The other two interaction combinations showed a synergistic effect in the combination of the synthetic peptide $\gamma_{31-45}PvD_{1}^{++}$ and amphotericin B, where the concentrations were 1.40 μM of $\gamma_{31-45}PvD_{1}^{++}$ peptide and 0.004 μM of amphotericin B, and 0.70 μM of peptide $\gamma_{31-45}PvD_{1}^{++}$ and 0.002 μM of amphotericin B. The mechanism of action with the synergistic combinations was analyzed, and it was not possible to observe permeabilization of membranes and increased endogenous production of reactive oxygen species (ROS) under the conditions tested. Through transmission electron microscopy, we observed that both synergistic combinations were able to cause damage to the plasma membrane and cell wall, causing leakage of intracellular wall components. In conclusion, this discovery demonstrates for the first time that the synergistic combinations found between the synthetic peptide $\gamma_{31-45}PvD_{1}^{++}$ and amphotericin B have an antifungal effect against the yeast *C. albicans*, acting on the integrity of the plasma membrane and the cell wall, which can offer a new therapeutic alternative for the treatment of fungal diseases related to this microorganism.

Keyword: Action Mechanism, Synthetic Peptide, Synergism, Yeast.

Institution of the Graduate Program in Plant Biotechnology: UENF

Thematic axis: Plant Biotechnology

Scholarship support: CAPES, CNPq, FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

