

Consórcio Setentrional de Educação a Distância  
Universidade de Brasília e Universidade Estadual de Goiás  
Curso de Licenciatura em Biologia a Distância

**Potencial Terapêutico de Peptídeos  
Antimicrobianos Isolados de Venenos de Anfíbios**

Túlio Pereira da Silva

Brasília  
2011

**TÚLIO PEREIRA DA SILVA**

**Potencial Terapêutico de Peptídeos  
Antimicrobianos Isolados de Venenos de Anfíbios**

Monografia apresentada, como exigência parcial para a obtenção do grau pelo Consórcio Setentrional de Educação a Distância, Universidade de Brasília/Universidade Estadual de Goiás no curso de Licenciatura em Biologia a distância.

**Brasília  
2011**

**TÚLIO PEREIRA DA SILVA**

**Potencial Terapêutico de Peptídeos  
Antimicrobianos Isolados de Venenos de Anfíbios**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Biologia do Consórcio Setentrional de Educação a Distância, Universidade de Brasília/Universidade Estadual de Goiás.

**Aprovado em junho de 2011.**

---

Profa. Ms. Lanuse Caixeta Zanotta  
Universidade de Brasília  
Orientadora

---

Prof. Ms. Gil Amaro  
Universidade de Brasília  
Avaliador I

---

Prof. Esp. Lívio Dantas Carneiro  
Universidade de Brasília  
Avaliador II

**Brasília  
2011**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me iluminar durante a árdua caminhada que percorri no decorrer do curso, por ter me abençoado com sabedoria e vontade de aprender, de compartilhar conhecimentos e levar o aprendizado adquirido ao longo deste curso, não só para minha vida profissional, mas também, para as escolas e a sociedade. Dedico também à minha esposa Wânia Mara de Sousa Silva, que foi quem me incentivou a prestar o vestibular e, se não fosse a sua insistência em me fazer priorizar o estudo ao invés do trabalho, não estaria aqui hoje. Sou muito grato a esta pessoa tão especial em minha vida, que esteve ao meu lado desde o início, me apoiando, incentivando e me dando força para vencer – minha inspiração.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Glândulas da pele de anfíbio anuro.....	10
Figura 2 – Mecanismo da especificidade de peptídeos antimicrobianos.....	10
Figura 3 – Sequência primária da magainina 2.....	11
Figura 4 – Sapo africano com garras.....	11
Figura 5 – Modelo molecular do dedímero da gramicidina.....	12
Figura 6 – Exemplo de conformação anfipática.....	13
Figura 7 – Ilustração do modelo carpete.....	16
Figura 8 – Representação esquemática do modelo barrel-stave.....	17

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	08
2 DESENVOLVIMENTO.....	09
2.1 Aspectos Gerais.....	09
2.2 Atividade antimicrobiana.....	11
2.3 Principais características bioquímicas dos peptídeos antimicrobianos.....	13
2.4 Mecanismos de interação peptídeo-membrana.....	14
2.5 Toxicidade dos peptídeos antimicrobianos.....	17
3 CONCLUSÃO.....	18
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente à minha orientadora Lanuse Zanotta, pela orientação, a paciência e a compreensão. Pela sua determinação, dedicação e contribuição para a educação e formação de pensadores, pesquisadores e educadores. Muito obrigado por ser mais que educadora, por ser amiga e pelo seu excelente trabalho realizado neste curso.

À minha amada família, em especial à minha mãe, ao meu pai e à minha irmã.

Ao Professor Leopoldo Braga, por sua imensa contribuição para a nossa formação, com seu carisma e profissionalismo, sua dedicação à educação e sabedoria dividida conosco.

À Professora e Mestra Paula Jaramillo, por sua dedicação, compromisso e contribuição para o curso. Amiga e mestra na arte de ensinar.

Ao Professor e Mestre Gil Silva pelo seu amor em educar, seu dinamismo que nos prende às suas aulas.

Aos colegas de curso, que foram guerreiros e lutaram em busca de seus objetivos. Pelos momentos de alegrias proporcionados ao longo do curso.

Aos meus amigos pela força, por me apoiarem e terem torcido pelo meu sucesso.

À equipe de coordenação e professores do curso, Wagner Fontes, Karina Santos, Lívio Carneiro, Helga Wiederhecker, Anne Caroline, Bruno Saback, Roger Maia, Gabriela Toledo, Melissa Monteiro, Paulo Franco, Izabela Bastos, Leandro Dias, Fernanda Gomes, Aline Gonçalves, Lélia Romeiro, Roselei Maria e Natália Massarotto.

## 1. INTRODUÇÃO

As ameaças à saúde dos seres vivos causadas por microorganismos que estão adquirindo resistência a antibióticos ao longo das gerações estão atingindo índices jamais registrados (Austin D. J., et al., 1999).

A eficácia dos agentes antibacterianos está sendo rapidamente superada pela capacidade que as bactérias têm de se oporem à sua ação. Estas podem adquirir resistência aos antibióticos quer por meio de mutação de seu genoma, quer incorporando genes provenientes de outros microorganismos por diferentes sistemas de transferência genética (Brasil, 2009). Muitos microorganismos têm desenvolvido resistência tanto contra os já bem estabelecidos antibióticos de uso convencional quanto contra os antibióticos de última geração causando graves problemas de saúde pública (Austin, 1999).

Dessa forma, o desenvolvimento de novas tecnologias de combate aos microorganismos faz-se cada vez mais necessário. Atualmente, é possível utilizar peptídeos antimicrobianos de origem animal na fabricação de antibióticos que dificultem o surgimento de resistência microbiana a essas drogas. Sequências anfifílicas de peptídeos (estruturas moleculares não covalentes que protegem as caudas hidrofóbicas dos peptídeos da água) vêm sendo sintetizadas e testadas *in vitro*, a fim de permitirem a obtenção de genes com potencial de resistência a fitopatógenos (Prates, MV et al, 2000).

Existem inúmeras possibilidades de aplicação dos peptídeos antimicrobianos pela agroindústria, assim como também, pela indústria farmacêutica. Um trabalho sistemático de prospecção dessas moléculas, com identificação e síntese química em larga escala, possibilitará, não somente um grande avanço na produção de novas drogas, melhor conhecimento biológico das espécies doadoras, reconhecimento do valor de cada uma delas, como novas categorias de recursos genéticos e, por fim, a necessidade de preservação desses animais.

Um dos principais argumentos a favor dos peptídeos antimicrobianos é a reduzida possibilidade de uma bactéria desenvolver resistência a este tipo de molécula, uma vez que seu principal alvo é a membrana celular. Um microorganismo teria que mudar significativamente a composição e/ou organização de seus fosfolipídios ao nível da membrana plasmática para tornar-se resistente a antibióticos peptídicos. Outra



possibilidade de desenvolver resistência seria destruir seletivamente os peptídeos por proteases microbianas específicas (Zasloff, 2002). As necessidades de se compreender os mecanismos de interação desses peptídeos com membranas (naturais e/ou sintéticas) têm atraído a atenção dos pesquisadores, surgindo um vasto campo para pesquisas sobre as estruturas secundárias e funções desses peptídeos, objetivando o desenvolvimento de “sistemas-modelos” que sirvam de inspiração para ao desenho de novas drogas antibacterianas (Ibrahim et al., 2000).

Este trabalho pretende fazer um levantamento não exaustivo de dados descritos na Literatura sobre peptídeos bioativos presentes na secreção cutânea de anfíbios com ênfase na prospecção de peptídeos antimicrobianos para aplicações terapêuticas. A pesquisa nessa área é de extrema importância, visto que a caracterização dos componentes presentes na secreção cutânea de anfíbios pode ajudar na identificação de novos peptídeos, bem como fomentar a indústria farmacêutica com modelos para o desenho de novas drogas terapêuticas.

## 2. DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Aspectos gerais

A pele dos anfíbios desempenha diversas funções fisiológicas, como respiração cutânea, osmorregulação, termorregulação e secreção de compostos de defesa, que constituem uma barreira inicial contra predação, parasitoses e infecções causadas por microorganismos patogênicos. A maioria dos compostos de defesa é de natureza protéica (Stebbins & Cohen, 1995). Sua expressão e acúmulo na secreção cutânea é uma característica conservada pelos anuros de todo o mundo (Brand et al., 2006).

Dois tipos de glândulas acinares estão presentes no epitélio desses animais: as mucosas e as granulosas (Figura 1) (Toledo & Jared, 1995). As glândulas mucosas, em geral mais numerosas, secretam mucinas, envolvidas na lubrificação e na manutenção da umidade da pele, na osmorregulação e na termorregulação. Já as glândulas granulosas, secretam a maior parte dos compostos com atividade biológica, incluindo peptídeos de defesa (Toledo & Jared, 1995).

As glândulas granulosas produzem a secreção envolvida na proteção contra predadores e patógenos, estão localizadas principalmente no tegumento da região dorsal e tais glândulas são envolvidas por miócitos e inervadas por fibras simpáticas. A

estimulação adrenérgica dos miócitos provoca a contração das células serosas e a liberação do seu conteúdo (Toledo & Jared, 1995; Conlon *et al.*, 2004).

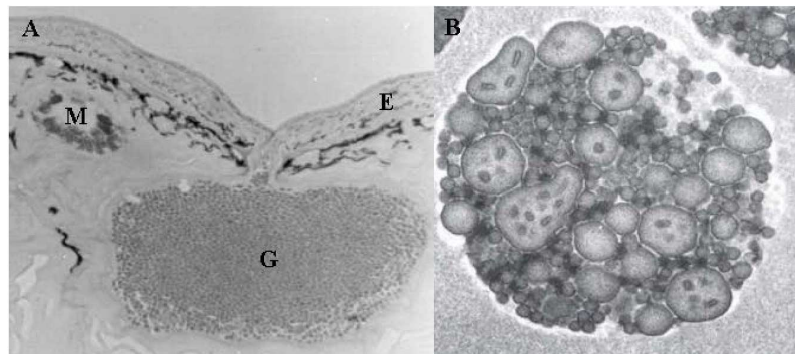


Figura 1. Glândulas da pele de anfíbio anuro. A) Secção transversal da pele dorsal de *Odontophrynus cultripes* (Cycloramphidae), revelando epiderme (E); glândula granulosa (G) e glândula mucosa (M). B) Eletromicrografia do lúmen de uma glândula granulosa. (Nascimento *et al.*, 2003).

Estudos recentes demonstram que a secreção de peptídeos aumenta após a exposição dos anfíbios a um ambiente rico em patógenos (Miele *et al.*, 1997). A produção desses compostos faz parte da resposta imune inata primitiva e está amplamente distribuído na natureza, podendo ser encontrados em humanos, plantas e insetos (Reddy *et al.*, 2004). Muitos peptídeos antimicrobianos apresentam especificidade em relação às membranas bacterianas (Figura 2) e deixam de apresentar essa especificidade em relação às membranas celulares dos vertebrados. Após o contato com as células-alvo, esses peptídeos provocam uma permeabilização da membrana acompanhado do vazamento do conteúdo intracelular que acaba resultando na morte da célula (Hancock & Chapple, 1999; Zasloff, 2002).

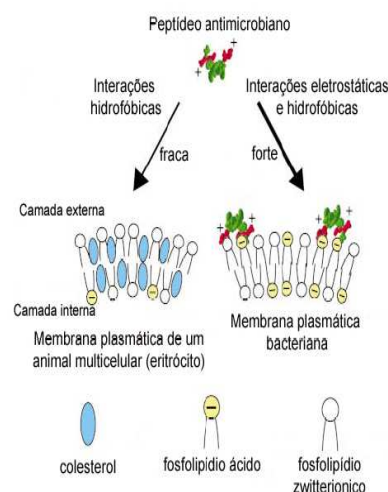


Figura 2. Mecanismo da especificidade de peptídeos antimicrobianos pela membrana citoplasmática das bactérias (Zasloff, 2002).

## 2.2 Atividade Antimicrobiana

O interesse científico na atividade antimicrobiana apresentada por peptídeos de secreção cutânea de anfíbio surgiu após a purificação do peptídeo *bombinin*, da rã *Bombina variegata* (Bombinatoridae), (Csordas & Michl, 1969), e foi impulsionado pela caracterização dos peptídeos *magainins* (Figura 3), de *Xenopus laevis* (Figura 4) (Zasloff, 1987).

Figura 3. Sequência primária da *Magainina 2* isolada da secreção cutânea do anfíbio *xenopus laevis* (University of Michigan, 2011).



**Figura 4.** Sapo Africano com Garras ou Sapo de Unhas Africano (Daudin, 1803).

Em 1970, a bombinina foi descrita como um peptídeo antibacteriano e hemolítico isolado da secreção da pele do anfíbio *B. variegata* (Csordas, A. e Michl, H., 1970). Pouco tempo depois, outras bombininas foram descritas na secreção do mesmo anfíbio, as quais diferiram entre si por poucos resíduos de aminoácidos (Simmaco, M., et al., 1991). Peptídeos do tipo bombinina também foram isolados da espécie *B. orientalis* e mostraram pouquíssima variação em relação aos encontrados em *B. variegata*. As bombininas possuem amplo espectro de ação contra microrganismos em geral, porém apresentam toxicidade seletiva contra células sanguíneas, provocando a lise das mesmas (Gibson, B. W., et al., 1991).

A secreção da pele de *Xenopus laevis* também tem sido objeto de intensa investigação. Moléculas como o TRH (hormônio liberador de tirotropina), a xenopsina e a ceruleína, com potente atividade hipotensora, foram descritos nessa secreção (Prates, MV et al, 2000).

Segundo Straus e Hancock (2006), mais de 700 peptídeos antimicrobianos produzidos por plantas e animais já foram identificados. O peptídeo nisin é o de maior sucesso comercial sendo amplamente usado como conservante alimentar mundial sem substancial desenvolvimento de bactéria resistente (Delves-Broughton, 2005). Estudos laboratoriais e clínicos mostram que o aparecimento de resistência contra peptídeos antimicrobianos é menos provável do que o observado para os antibióticos convencionais, isso está relacionado ao seu principal alvo celular, a membrana plasmática, o que incentiva o seu uso terapêutico (Zasllof, 2002). No entanto, ainda existem muitos obstáculos para as aplicações terapêuticas desses peptídeos, especialmente devido à toxicidade e ao elevado custo para a produção e desenvolvimento de drogas (Parisien et al., 2008).

O antibiótico gramicidina A é um dos polipeptídeos mais estudados atualmente. Esse polipeptídeo é um pentadecapeptídeo (produzido pelo *Bacillus brevis* e ativo contra bactérias Gram positivas) que forma um espiral aglomerado em meio hidrofóbico. Este se insere facilmente em membrana lipídica podendo formar um canal de dímeros ligados por hidrogênios localizados na região N-terminal (Figura 5).

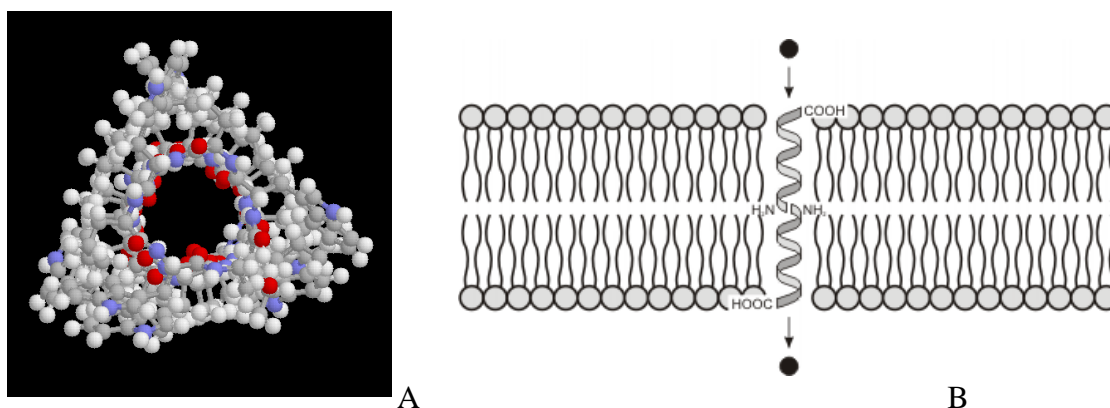


Figura 5. A. Modelo Molecular do dímero da Gramicidina (Rojas, M. 1997). B. Esquema da estrutura de um canal formado por Gramicidina (Romer, I., et al., 2008)

Como o dímero é mais curto que a espessura da membrana, acaba resultando em uma deformação dos lipídios perto do canal, diminuindo a espessura da membrana (Andersen; Koeppe, 2007). Porém, ainda são necessários mais trabalhos para avaliar em detalhes os efeitos da gramicidina A em lipídios próximos e distantes do canal (khandelia et al., 2008).

### 2.3 Principais Características Bioquímicas dos Peptídeos Antimicrobianos

Em geral, os peptídeos antimicrobianos de anuros apresentam sequências de 10 a 46 resíduos de aminoácidos, contendo vários resíduos positivamente carregados, que os tornam catiônicos, e vários resíduos hidrofóbicos (Barra & Simmaco, 1995). A conformação mais comum é a  $\alpha$ -hélice anfipática (Oren & Shai, 1998) (Figura 6), que dispõe as cadeias laterais dos aminoácidos polares em um mesmo lado e as cadeias apolares do lado oposto, propiciando a interação entre peptídeos e membranas biológicas (Dathe & Wieprecht, 1999).

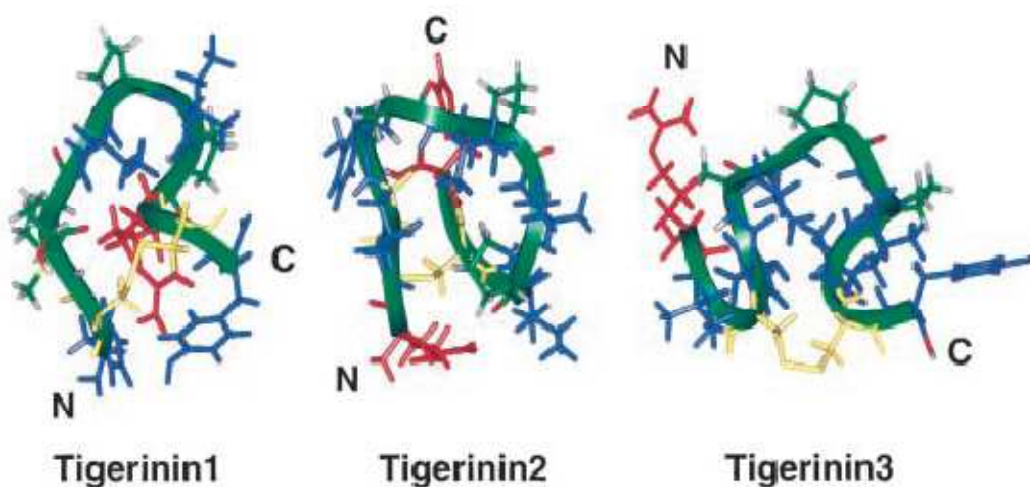


Figura 6. Exemplo de conformação anfipática. Estruturas de *tigerinis* após simulações de dinâmica molecular (Korrapati, P.S., et al 2001).

A estrutura primária e a tridimensional são utilizadas como parâmetros na divisão dos peptídeos antimicrobianos em três grandes grupos: (1) peptídeos em hélice-lineares como cecropinas, magaininas, melitinas, dermaceptina, apidaecinas e drosocinas, que adotam a estrutura randômica em solução aquosa, porém, em solventes orgânicos e em contato com membranas celulares adotam uma conformação em hélice- $\alpha$ ; (2) peptídeos em folha- $\beta$ ' como as defensinas, que contêm resíduos de cisteína formando pontes de dissulfeto; (3) peptídeos ricos em aminoácidos específicos como prolina, glicina, triptofano, arginina ou histidina, com a maioria deles adotando extensas estruturas de hélice- $\alpha$ . Apesar dessas diferenças estruturais, muitos desses peptídeos antimicrobianos acabam agindo na membrana celular (Oren; Shai, 1998).

A maioria dos peptídeos antimicrobianos de anuros estudados até o momento foi isolado de rãs das famílias Hylidae e Ranidae – do gênero *Rana* (Nascimento, A. 2007). Os peptídeos de hílídeos costumam pertencer a um dos seguintes grupos: (1)

antimicrobianos de amplo espectro semelhantes à *citropin* 1 (peptídeo de rã do gênero Litoria); (2) antimicrobianos de amplo espectro semelhantes a *caerin* 1 e *maculatin* 1 (ambos, também, do gênero Litoria) e (3) antimicrobianos de espectro restrito (Nascimento, A. 2007).

Os peptídeos do primeiro grupo apresentam estrutura em hélice com faces hidrofóbica e hidrofílica bem definidas e são ativos contra bactérias, especialmente Gram-positivas. Os peptídeos do segundo grupo são ativos contra bactérias, fungos e vírus e possuem regiões helicoidais nas extremidades, sendo essas regiões unidas por um fragmento flexível essencial à atividade. Muitos peptídeos antimicrobianos de amplo espectro apresentam, em adição, atividades contra células cancerosas (Pukala et al., 2006b). Os peptídeos do terceiro grupo, de espectro de ação restrito, são ativos apenas contra determinadas bactérias Gram-negativas e não apresentam amidação C-terminal.

Assim como os peptídeos com espectro de ação restrito dos hilídeos, os peptídeos de ranídeos, em geral, não são aminados no C-terminal, porém, costumam apresentar pontes dissulfeto na região C-terminal e amplo espectro de ação (Pukala et al., 2006b).

## 2.4 Mecanismos de Interação Peptídeo-Membrana

Os peptídeos associam-se a membranas através de diferentes mecanismos, que podem levar a formação de agregados ou até mesmo poros nas membranas, provocando sua desestabilização e rompimento, perda da integridade física, culminando na lise celular (Sato; Feix, 2006). Devido à sua estrutura anfipática, um único peptídeo pode colocar-se entre as cabeças dos fosfolipídios da região da bicamada lipídica (interface) (Matsuzaki et al., 1998; Yang et al., 2001), como também, com o aumento da concentração do peptídeo para acima de um valor limite, as moléculas peptídicas podem permanecer na interface ou posteriormente mudar para dentro da região transmembrânica onde suas agregações formam poros transmembrânicos com nanômetros de diâmetro que levam a morte celular (Matsuzaki et al., 1998; Yang et al., 2001). A presença de colesterol na membrana alvo em geral reduz a atividade antimicrobiana por conferir uma maior estabilização dos lipídios (Zasllof, 2002). Entretanto, o mecanismo envolvido na formação de poros ou ruptura da bicamada lipídica ainda não está totalmente elucidado.

Conforme estudos realizados por Papo e Shai (2003), antes de exercerem sua atividade, os peptídeos interagem primeiramente com a superfície externa da membrana, principalmente com lipopolissacarídeos (LPS), peptídeoglicanas (em células bacterianas), na camada de glicocálice e/ou proteínas da superfície das células de mamíferos. Somente então, os peptídeos ligam-se e interagem com a membrana citoplasmática. Existem vários mecanismos propostos para descrever a interação de peptídeos com membranas lipídicas, dentre eles, destaca-se o modelo “carpete” e “barril”.

O modelo “carpete” foi primeiramente proposto para descrever o modo de ação da dermaseptina S, peptídeo antimicrobiano isolado da secreção cutânea do anfíbio *Phyllomedusa* em 1998, sendo mais tarde utilizado para descrever o modo de ação de outros peptídeos antimicrobianos, alguns como os análogos naturais da dermaseptina e cecropinas (peptídeos antimicrobianos isolados inicialmente da secreção cutânea do anfíbio *Rana arbolea* (*Phyllomedusa sauvageii*) e na hemolinfa do bicho-da-seda, *Hyalophora cecropia*, respectivamente) (Shai, 1999) (Figura 7).

Neste mecanismo, uma grande quantidade de peptídeo abrange paralelamente a superfície da membrana, desorganizando a bicamada de modo semelhante a um detergente. A interação eletrostática dos peptídeos com as cabeças dos lipídios são cruciais e impõe uma deformação na bicamada que induz a permeação da camada lipídica (Wu et al., 1999) (Fig. 8-A). Mesmo peptídeos que apresentam outros modelos de ação como a Melitina, em concentrações acima da crítica, podem levar a um acúmulo total de peptídeos na superfície da membrana, agindo como detergentes e provocando a desintegração da estrutura lipídica via o mecanismo de carpete, resultando na formação de agregações micelar (Sengupta et al., 2008).



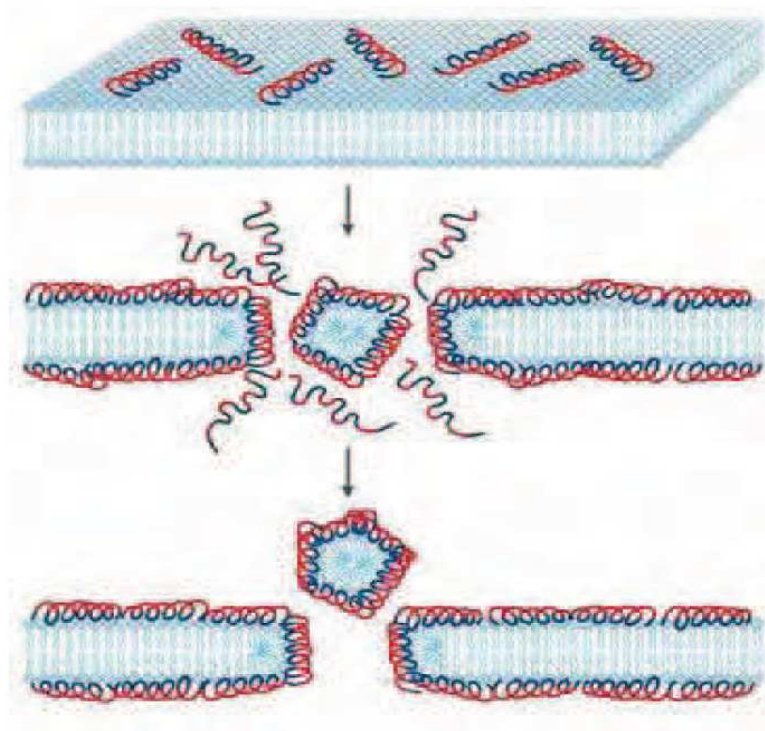


Figura 7. Ilustração do modelo carpete, sugerido por Oren e Shai (1998). Neste modelo, os peptídeos inicialmente ligam-se a superfície da membrana, e quando certa concentração de monômero é atingida, a membrana é rompida.

Um segundo tipo de interação entre peptídeos e superfície membrana é mostrado na Figura 8, que ilustra a formação de poros ou canais através da membrana denominado de modelo “barril”. Esse mecanismo envolve três passos principais: (1) ligação dos monômeros na membrana, (2) inserção na membrana para a formação do poro e (3) recrutamento progressivo de monômeros adicionais para aumentar o poro (Bechinger, 1999; Shai, 1999).

Nesse modelo, os peptídeos, através da associação de hélices-anfipáticas, formam canais transmembranares, revestindo completamente a superfície interna do poro, com a face hidrofóbica do peptídeo interagindo com a face interna apolar da camada lipídica, enquanto a sua face hidrofílica fica voltada para o canal aquoso do poro (Yang et al., 2001).



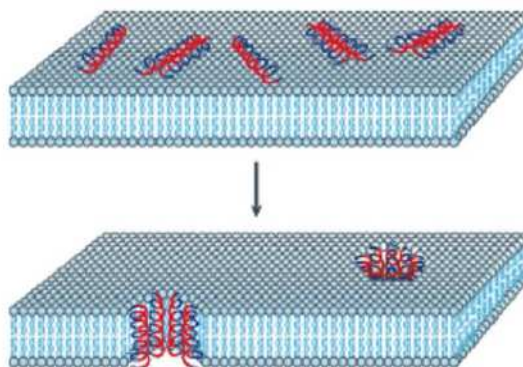


Figura 8. Representação esquemática do modelo barrel-stave. Os peptídeos se acumulam e se inserem na bicamada lipídica de forma que as regiões hidrofóbicas dos peptídeos fiquem alinhadas com a região lipídica, e as regiões hidrofílicas dos peptídeos acabam localizadas no interior do poro. Regiões hidrofílicas dos peptídeos estão representadas em vermelho, e regiões hidrofóbicas estão representadas em azul (Brogden, 2005).

## 2.5 Toxicidade dos peptídeos antimicrobianos

Segundo Matsuzaki (1999), são necessárias quatro características para os peptídeos antimicrobianos serem eficazes contra os patógenos. A primeira é a seletividade da toxicidade, ou seja, maior especificidade com as membranas das células dos patógenos. A segunda, ser eficaz na eliminação dos microorganismos, pois o ciclo de vida de bactérias é, normalmente, curto, sendo de 20 minutos no caso da *Escherichia coli*. A terceira é possuir um amplo espectro de atividade antimicrobiana, ou seja, um mesmo peptídeo sendo eficiente contra diversas espécies e tipos de microorganismos. E por último, deve apresentar um mecanismo de ação que dificulte o patógeno a desenvolver um mecanismo de resistência.

A ligação eletrostática preferencial dos peptídeos antimicrobianos na interface aniônica explica parcialmente a seletividade desses peptídeos para membranas aniônicas. No entanto, nem todos os peptídeos aniônicos são seletivos em interfaces aniônicas, dependendo também da sua composição de aminoácidos e do alvo membranar de diferente composição lipídica. Por exemplo, a atividade de magaininas e tachyplesinas são altamente sensíveis à composição da membrana alvo (Matsuzaki, 1999).

### 3. CONCLUSÃO

A pele de anfíbios é um notável órgão que fornece os múltiplos papéis do equilíbrio de fluidos, respiração e transporte de íons essenciais. A proteção da pele é essencial para a sobrevivência dos indivíduos e populações, e proteção contra a resistência microbiana.

Os estudos revistos nos parágrafos anteriores visam argumentar de forma convincente que os peptídeos antimicrobianos da pele de anfíbios podem desempenhar um papel importante na proteção contra patógenos microbianos. A maioria dos estudos descritos examinaram a atividade antimicrobiana de alguns dos peptídeos purificados da secreção cutânea desses animais. Compreender se peptídeos antimicrobianos podem proteger a população da invasão de patógenos é um objetivo importante do ponto de vista da biologia, a fim de prever a sobrevivência não só da população humana, mas como também, individual das espécies de anfíbios em um momento em que esta classe de vertebrados sofre declínio populacional global. A fim de examinar o potencial terapêutico e descrever novas atividades dos peptídeos antimicrobianos de espécies anfíbias mais rapidamente (Rollins-Smith et al., 2002c).

Estudos continuados do potencial terapêutico dos peptídeos naturais a partir de um conjunto muito maior de espécies de anfíbios correlacionados irá fornecer uma resposta mais completa à pergunta “peptídios antimicrobianos presentes na pele são proteção contra patógenos?” (Carey et al. 1999; Daszak et al, 1999, 2003)

Futuros estudos deverão examinar a potência do repertório de peptídeos antimicrobianos de outras espécies, especialmente na inibição da resistência a antibióticos adquirida pelos patógenos microbianos. Há também a necessidade de abordar a questão da produção e como a liberação de peptídeos da pele é integrado com outras funções essenciais da pele e como os fatores ambientais, tais como mudanças sazonais de temperatura, stress, hidratação, tóxicos, produtos químicos, e outros estressores ambientais podem alterar o padrão normal.

#### **4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ANDERSEN, O. S., KOEPPE, R. E. **II Bilayer thickness and membrane protein function: an energetic perspective.** Annu Rev Biophys Biomol Struct. 36:107-30, 2007.

AUSTIN, D. J., KRISTINSSON, K.G., ANDERSON, R. M. Proc. Natl., Acad. Sci. USA, 96:1152-1156, 1999.

BARRA, D., SIMMACO, M. **Amphibian skin:** a promising resource for antimicrobial peptides. Trends Biotechnol. 13, 205-209, 1995.

BECHINGER, B., **The structure, dynamics and orientation of antimicrobial peptides in membranes by multidimensional solid-state NMR spectroscopy.** Biochim. Biophys. Acta 1462, 157-183, 1999.

BECHINGER, B., LOHNER, K. **Detergent-like actions of linear amphipathic cationic antimicrobial peptides.** Biochim. Biophys. Acta. v. 1758, p. 1529-39, 2006.

BRAND, G. D., LEITE, J. R. S. A., MANDEL, S. M. S., MESQUITA, D. A., SILVA, L. P., PRATES, M. V., BARBOSA, E. A., VINECKY, F., MARTINS, G. R., GALASSO, J. H., KUCKELHAUS, S. A. S., SAMPAIO, R. N. R., FURTADO JR, J. R., ANDRADE, A. C., BLOCH JR, C. **Novel dermaseptins from Phyllomedusa hypochondrialis (Amphibia) Biochemical and Biophysical Research Communications.** 347:739-746, 2006.

BROGDEN, K. A. **Antimicrobial peptides:** pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nature Reviews Microbiology. 3:238–250, 2005.

CAREY, C., Cohen, N., ROLLINS-SMITH, L. **Amphibian declines: An immunological perspective.** Dev. Comp. Immunol. 23:459–472, 1999.

CONLON, J. M., KOLODZIEJEK, J., NOWOTNY, N. **Antimicrobial peptides from ranid frogs:** taxonomic and phylogenetic markers and a potential source of new therapeutic agents. Biochimica et Biophysica Acta. 1696:1–14, 2004.

CSORDAS, A., MICHL, H. **Primary structure of two oligopeptides of the toxin of *Bombina variegata* L.** Toxicon. 7, 103-108, 1969.

CSORDAS, A., MICHL, H. **Isolation and structure of a haemolytic polypeptide from the defensive secretion of European *Bombina* species.** Monatsh. Chem. 101:182–189, 1970.

DASZAK, P., BERGER, L., CUNNINGHAM, A.A., HYATT, A. D., GREEN, D. E., SPEAR, R. **Emerging infectious diseases and amphibian population declines.** Emerg. Infect. Dis. 5:735–748, 1999.

DASZAK, P., CUNNINGHAM, A.A., HYATT, A. D. **Infectious disease and amphibian population declines.** Divers. Distrib. 9:141–150, 2003.

DATHE. M., WIEPRECHT, T. **Structural features of helical antimicrobial peptides: their potential to modulate activity on model membranes and biological cells.** Biochim. Biophys. Acta 1462, 71-87, 1999.

DELVES-BROUGHTON, J. **Nisin as a food preservative.** Food Australia, North Sydney, v. 57, p. 525–527, 2005.

EUROPEAN FIELD HERPING COMMUNITY. **African Clawed Toad, *Xenopus laevis* (Daudin, 1803),** [2008?]. Disponível em: <[http://www.euroherp.com/species/Xenopus laevis/](http://www.euroherp.com/species/Xenopus_laevis/)>. Acessado em: 01 de Mai. de 2011.

GIBSON, B. W., TANG, D., MANDRELL, R., KELLY, M., SPINDEL. E. R., J. Biol. Chem., 266:23103-23111, 1991.

HANCOCK, R. E. W., CHAPPLE. D. **Peptides antibiotics, Antimicrob. Agents Chemoter.** 43, 1317-1323, 1999.

HUANG, H. W. **Molecular mechanism of antimicrobial peptides: the origin of cooperativity.** Biochimica Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, New York, v. 1758, p. 1292–1302, 2006.

IBRAHIM, H. R., SUGIMOTO, Y., AOKI, T. **Ovotransferrin antimicrobial peptide (OTAP-92) kills bacteria through a membrane damage mechanism.** Biochimica Et Biophysica Acta, Amsterdam, v.1523, p.196-205, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DOUTOR RICARDO JORGE. **Resistência aos antimicrobianos, [2009].** Disponível em: <<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/AreasTrabalho/ResistencAnti/Paginas/inicial.aspx>>. Acessado em: 01 de Mar. 2011.

KHANDELIA, H., IPSEN, J. H., MOURITSEN, O. G. **The impact of peptides on lipid membranes.** Biochimica et Biophysica. Acta, Amsterdam, v. 1778, p. 1528–1536, 2008.

KORRAPATI, P.S., MEDICHARLA, V.J., MARIAPPANADAR V., AMBURI P. R., AMBURE S.D., RAMAKRISHNAN N. AND NARASIMHAIAH S. **Tigerinins: Novel Antimicrobial Peptides from the Indian Frog *Rana tigerina*.** , v.276, p. 2701-2707, 2001.

MATSUZAKI, K., MITANI, Y., AKADA, K.Y., MURASE, O., YONEYAMA, S., ZASLOFF, M., MIYAJIMA, K. **Mechanism of synergism between antimicrobial peptides magainin 2 and PGLa.** Biochemistry 37:15144–15153, 1998.

MATSUZAKI, K. **Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes.** Biochim. et Biophys. Acta. 1462:1–10, 1999.

MIELE, R., PONTI, D., BOMAN, H. G., BARRA, D., SIMMACO, M. **Molecular cloning of a bombinina gene from *Bombina orientalis*: detection of NF- $\kappa$ B and NF-IL6 binding sites in its promoter.** FEBS Letters 431:23-28, 1997.

NASCIMENTO, A. C., FONTES W., SEBBEN, A., CASTRO, M. S. **Antimicrobial peptides from anurans skin secretions.** Protein Pept. Lett. 10, 227-238, 2003.

NASCIMENTO, Anna Christina. **Avaliação biológica da secreção cutânea da rã *Leptodactylus ocellatus*: peptídeos citolíticos e proteases.** 2007. 73 f. Tese de Doutorado – Universidade de Brasília, Brasília 2007.

OREN, Z., SHAY, Y. **Mode of action of linear amphipathic  $\alpha$ -helical antimicrobial peptides.** Biopolymers 47, 451-463, 1998.

PAPO, N., SHAI, Y. **New lytic peptides based on the D,L-amphipathic helix motif preferentially kill tumor cells compared to normal cells.** Biochemistry. 42:9346–9354, 2003.

PARISIEN, A., ALLAIN, B., ZHANG, J., MANDEVILLE, R., LAN, C. Q. **Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides.** Journal of Applied Microbiology 104:1-13, 2008.

PRATES, M.V.; BOLCH, J.C. **Peptídeos antimicrobianos: uma alternativa no combate a microrganismos resistentes.** Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento, v.17, p.30-6, 2000.

PUKALA, T. L., BOWIE, J. H., MASELLI, V. M., MUSGRAVE, I. F., TYLER, M. J. **Host-defense peptides from the glandular secretions of the amphibians: structure and activity.** Nat. Prod. Rep. 23, 368-393, 2006b.

REDDY, K. V. R.; YEDERY, R. D., ARANHA, C. **Antimicrobial peptides: premises and promises.** International Journal of Antimicrobial Agents. 24:536–547, 2004.

ROJAS, M. A. M. **Fenomenos de transporte de iones a traves de membranas biológicas.** Una aproximación termodinámica estadística. AlephZERO 7, Enero-Febrero, 1997.

ROLLINS-SMITH, L. A., REINERT, L. K., MIERA, V., CONLON, J. M. **Antimicrobial peptide defenses of the Tarahumara frog, *Rana tarahumarae*.** Biochem. Biophys. Res. Comm. 297:361–367, 2002c.

ROMER, I. **Membrana Plasmática,** 2008. Disponível em: <<http://genomasur.com/lectu.htm>>. Acessado em: 18 de Mai. 2011.

SATO, H., FEIX, J. B. **Peptide-membrane interactions and mechanisms of membrane destruction by amphipathic  $\alpha$ -helical antimicrobial peptides.** Biochimica et Biophysica Acta. 1758:1245–1256, 2006.

SENGUPTA, D., LEONTIADOU, H., MARK, A. E., MARRINK, S. **Toroidal pores formed by antimicrobial peptides show significant disorder.** Biochimica et Biophysica Acta, Amsterdam, v. 1778, p. 2308–2317, 2008.

SHAI, Y. **Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by  $\alpha$ -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides.** Biochimica et Biophysica Acta. 1462:55–70, 1999.

SIMMACO, M., BARRA, D., CHIARINI, F., NOVIELLO, L., MELCHIORRI, P., KREIL, G., RICHTER, K. Eur. J. Biochem., 199:217-222, 1991.

STEBBINS, R. C., COHEN, N. W. **A natural History of amphibians.** Princeton University Press, New Jersey, 1995.

STRAUS, S. K., HANCOCK, R.E.W. **Mode of action of the new antibiotic for gram-positive pathogens daptomycin: comparison with cationic antimicrobial peptides and lipopeptides.** Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes, New York, v. 1758, p. 1215–1223, 2006.

TECNOVET. **Encefalopatías espongiformes transmisibles: el caso de una proteína mortal, 1996.** Revista de Extensión. Año 2, N° 2, Agosto de 1996. Universidad de Chile. Disponível em:

<[http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D9389%2526ISID%253D445,00.html](http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9389%2526ISID%253D445,00.html)>. Acessado em: 01 de Mai. 2011.

TOLEDO, R. C., JARED, C. **Cutaneous granular glands and amphibians venoms.** Comp. Biochem. Physiol. 111<sup>a</sup>, 1-29, 1995.

THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, By the American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Vol. 276, No. 4, Issue of January 26, pp. 2701-2707, 2001.

UNIVERSITY OF MICHIGAN. **Orientations of proteins in membranes,** [entre 2001 e 2010]. Disponível em:

< <http://opm.phar.umich.edu/protein.php?pdbid=2mag>>. Acessado em: 01 de Mai. de 2011.

WANNMACHER, LENITA. **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida?** Uso racional de medicamentos: temas selecionados. ISSN 1810-0791, vol. 1, N° 4. Brasília, Março de 2004.

WOODHAMS, D. C. **The ecology of chytridiomycosis, an emerging infectious disease of Australian rainforest frogs.** Ph.D. Thesis, School of Tropical Biology, James Cook University, Townsville, Queensland, Australia, 2003.

WU, M., HANCOCK, R. E. W. **Interaction of the cyclic antimicrobial cationic peptide battenecin with the outer and cytoplasmic membrane.** J. Biol. Chem. **274**:29–35. 47a, 1999.

WU, M., MAIER, E., BENZ, R., HANCOCK, R. E. W. **Mechanism of interaction of different classes of cationic antimicrobial peptides with planar bilayers and with the cytoplasmic membrane of Escherichia coli.** Biochemistry, in press.

YANG, L., HARROUN, T. A., WEISS, T. M., DING, L., HUANG, H. W. **Barrel-stave model or toroidal model? A case study on melittin pores.** *Biophys J* **81**:1475–1485. 2001.

ZASLOFF, M. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 5449-5453, 1987.

ZASLOFF, M. **Antimicrobial peptides of multicellular organisms.** Nature 415, 389-395, 2002.