

Renata Mendes de Freitas
(Organizadora)

Ciências Biológicas
Campo Promissor
em Pesquisa

 **Atena**
Editora

Ano 2019

Renata Mendes de Freitas
(Organizadora)

Ciências Biológicas
Campo Promissor
em Pesquisa

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Lorena Prestes
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	<p>Ciências biológicas [recurso eletrônico] : campo promissor em pesquisa / Organizadora Renata Mendes de Freitas. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Ciências Biológicas. Campo Promissor em Pesquisa; v. 1)</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-781-9 DOI 10.22533/at.ed.819191311</p> <p>1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Freitas, Renata Mendes de. II. Série.</p> <p style="text-align: right;">CDD 570</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A coleção “Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa” é uma obra composta de dois volumes que tem como foco principal a discussão científica atual através de trabalhos categorizados e interdisciplinares abordando pesquisas, relatos de casos, resumos ou revisões que transitam nas diversas áreas das Ciências Biológicas.

A grande diversidade de seres vivos e a grande especialização das áreas de estudo da biologia, a tornam uma ciência muito envolvente, que consegue abranger todas as relações interpessoais e uma grande interdisciplinaridade com outras áreas.

O primeiro volume foi organizado com trabalhos e pesquisas que envolvem a área da Saúde em diferentes Instituições de Ensino e Pesquisa do País. Logo, neste volume poderá ser encontrado pesquisas relacionadas a anatomia humana, plantas medicinais, arboviroses, atividades antimicrobianas e antifúngicas, biotecnologia e tópicos relacionados à segurança alimentar e cuidados em saúde. O destaque desse volume é para compostos naturais que podem ser utilizados no combate e controle de diversos microorganismos.

Já o volume dois, é composto por trabalhos que envolvem o Ensino de Ciências e pesquisas científicas em Biologia, tendo destaque os trabalhos relacionados à Ecologia e Conservação ambiental, e também a divulgação da Educação Especial.

A crescente preocupação com o meio ambiente e o consumo sustentável trazem reflexões que atingem nossa fauna e flora; os atuais processos de ensino e aprendizagem oferecem um plano de fundo às discussões referentes ao melhoramento das abordagens educacionais nas diferentes esperas de ensino.

Conteúdos relevantes são, deste modo, apresentados e discutidos com a proposta de fundamentar e apoiar o conhecimento de acadêmicos, mestres e doutores das amplas áreas das Ciências Biológicas.

Renata Mendes de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
A FISIOTERAPIA NA REABILITAÇÃO FUNCIONAL DO PORTADOR DE MALFORMAÇÃO ARTERIOVENOSA CEREBRAL	
Camila Ferreira Alves Natália Ramalho Figueredo Diana Marrocos de Oliveira Lara Beluzzo e Souza Priscila Andrade da Costa Sting Ray Gouveia Moura Patrícia Cordeiro Oliveira Rodrigo Canto Moreira	
DOI 10.22533/at.ed.8191913111	
CAPÍTULO 2	8
ANÁLISE DAS TÉCNICAS DE CONSERVAÇÃO DE CADÁVERES PARA O ESTUDO EM ANATOMIA HUMANA	
Rodrigo Montenegro Barreira Natália Stefani de Assunção Ferreira Alan Hílame Diniz Gomes Afrânio Almeida Barroso Filho João Rocha de Lucena Neto	
DOI 10.22533/at.ed.8191913112	
CAPÍTULO 3	13
ACUPUNTURA COMO TERAPIA PARA O ESTRESSE	
Ricardo Morad Bassetto Isabel Cristina Céspedes Regina Celia Spadari	
DOI 10.22533/at.ed.8191913113	
CAPÍTULO 4	26
ATENÇÃO FARMACÊUTICA AOS PACIENTES COM GLAUCOMA: UMA REVISÃO DE LITERATURA	
Jeane Cristina Viotti Hidalgo Simone Aparecida Biazzini de Lapena Fernanda Malagutti Tomé	
DOI 10.22533/at.ed.8191913114	
CAPÍTULO 5	34
ATUAÇÃO DA VITAMINA D E SEU RECEPTOR SOBRE PROCESSOS IMUNOLÓGICOS E PERFIS IMUNOGENÉTICOS RELACIONADOS À HANSENÍASE	
Jasna Leticia Pinto Paz Letícia Siqueira Moura Karla Valéria Batista Lima Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima	
DOI 10.22533/at.ed.8191913115	

CAPÍTULO 6 44

AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E PESO CORPORAL EM CAMUNDONGOS SWISS MACHOS TRATADOS COM EXTRATO METANÓLICO DE PLANTA MEDICINAL

Dayane de Melo Barros
Priscilla Gregorio de Oliveira Sousa
Danielle Feijó de Moura
Marton Kaique de Andrade Cavalcante
Merielly Saeli de Santana
Marllyn Marques da Silva
Silvio Assis de Oliveira Ferreira
Laryssa Rebeca de Souza Melo
Gisele Priscilla de Barros Alves Silva
José André Carneiro da Silva
Ana Cláudia Barbosa da Silva Padilha
Isla Ariadny Amaral de Souza Gonzaga
Roberta de Albuquerque Bento da Fonte
Tamiris Alves Rocha

DOI 10.22533/at.ed.8191913116

CAPÍTULO 7 52

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Moringa oleifera*: APLICAÇÕES NA SAÚDE E POTENCIAL TECNOLÓGICO

João Xavier da Silva Neto
Ana Paula Apolinário da Silva
João Paulo Apolinário da Silva
Luciana Freitas Oliveira
Thiago Fernandes Martins
Luiz Francisco Wemmenson Gonçalves Moura
Guilherme Angelo Lobo
Lucas Pinheiro Dias
Bruno Bezerra da Silva
José Ytalo Gomes da Silva
Ana Cláudia Marinho da Silva
Arnaldo Solheiro Bezerra

DOI 10.22533/at.ed.8191913117

CAPÍTULO 8 59

AVALIAÇÃO *IN VITRO* e *IN VIVO* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS SOBRE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

Amanda Pohlmann Bonfim
Andressa Gimenes Braga
Karina Mayumi Sakita
Daniella Renata Faria
Glaucia Sayuri Arita
Franciele Abigail Vilugron Rodrigues Vendramini
Isis Regina Grenier Capoci
Marcos Luciano Bruschi
Érika Seki Kioshima
Patrícia de Souza Bonfim-Mendonça
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski

DOI 10.22533/at.ed.8191913118

CAPÍTULO 9	72
BIOENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE EM MOSQUITOS ADULTOS	
Fabíola da Cruz Nunes	
Maria de Fátima Vanderlei de Souza	
Diégina Araújo Fernandes	
Maria Denise Leite Ferreira	
Louise Helena Guimarães de Oliveira	
Gustavo De Figueiredo	
Hyago Luiz Rique	
DOI 10.22533/at.ed.8191913119	
CAPÍTULO 10	86
DIAGNÓSTICO, IMPLANTAÇÃO E AVALIAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO EM UMA CANTINA UNIVERSITÁRIA DE RIBEIRÃO PRETO – SP	
Raphael Petrorossi Pita	
Luciano Menezes Ferreira	
DOI 10.22533/at.ed.81919131110	
CAPÍTULO 11	98
EDIÇÃO GENÉTICA ATRAVÉS DO CRISPR PARA TRATAMENTO DE DOENÇAS	
Jonas Ribeiro da Rosa	
Fernanda Marconi Roversi	
Lucas de Souza Ramalhaes Feitosa	
DOI 10.22533/at.ed.81919131111	
CAPÍTULO 12	117
ESTRATÉGIAS CIRÚRGICAS QUE PROMOVEM A REGENERAÇÃO DO NERVO PERIFÉRICO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA	
Pedro Walisson Gomes Feitosa	
Tatianne Régia Gomes Ribeiro	
Estelita Lima Cândido	
João Antônio da Silva Neto	
Esther Barbosa Gonçalves Felix	
Janaina Carneiro Lima	
Hellen Karen Almeida Pereira	
Iago Sávyo Duarte Santiago	
Yasmin de Alencar Grangeiro	
Maria Stella Batista de Freitas Neta	
Maria Andrezza Gomes Maia	
DOI 10.22533/at.ed.81919131112	
CAPÍTULO 13	134
MATURAÇÃO DE BIOFILME, DISPERSÃO CELULAR E RESISTÊNCIA À ANFOTERICINA B DE UMA CEPA DO COMPLEXO <i>Fusarium solani</i> SOBRE CATETER VENOSO	
Alana Fernanda Luzia Salvador	
Flavia Franco Veiga	
Terezinha Inez Estivalet Svidzinski	
Melyssa Fernanda Norman Negri Grassi	
DOI 10.22533/at.ed.81919131113	

CAPÍTULO 14 140

NOTIFICAÇÃO DOS EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAÇÃO EM CRIANÇAS DE 0 A 5 ANOS

Zannety Conceição Silva do Nascimento Souza

Tuany Peixoto Ramos

Raquel Vieira Farias

Karine Emanuelle Peixoto de Souza

Juliana de Oliveira Freitas Miranda

Maricélia Maia de Lima

DOI 10.22533/at.ed.81919131114

CAPÍTULO 15 153

NOVAS TERAPIAS E ALTERNATIVAS PARA O MELANOMA EM ESTÁGIOS AVANÇADOS

Layene Caetano Ireno

Karina Furlani Zoccal

Cristiane Tefé-Silva

DOI 10.22533/at.ed.81919131115

CAPÍTULO 16 160

OS BENEFÍCIOS DO USO DAS FOLHAS DE *M. EMARGINATA* (ACEROLEIRA) PARA A SAÚDE ORGÂNICA

Cristiane Moutinho Lagos de Melo

Bárbara Rafaela da Silva Barros

Dayane Kelly Dias do Nascimento

Ricardo Sérgio da Silva

Lethícia Maria de Souza Aguiar

Georon Ferreira de Sousa

Iranildo José da Cruz Filho

DOI 10.22533/at.ed.81919131116

CAPÍTULO 17 175

PROTEÍNA $MO-CBP_2$ EXERCE ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE A DIFERENTES ESPÉCIES DE *CANDIDA* E OCASIONA INIBIÇÃO DE H^+ -ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA

João Xavier da Silva Neto

Larissa Alves Lopes

Eva Gomes Moraes

Francisco Bruno Silva Freire

Ana Paula Apolinário da Silva

Bruno Bezerra da Silva

João Paulo Apolinário da Silva

Luciana Freitas Oliveira

Thiago Fernandes Martins

Claudia Johana Pérez Cardozo

Johny de Souza Silva

Daniele de Oliveira Bezerra de Sousa

DOI 10.22533/at.ed.81919131117

CAPÍTULO 18 182

OS EFEITOS DA MICROCORRENTE E DO OLIGOELEMENTO SELÊNIO NAS DISFUNÇÕES TECIDUAIS DA FACE DO TABAGISTA

Cristiane Rissatto Jettar Lima

Anne Dryelle De Souza Silva

Isabela Mayara Souza Santos

Edneia Nunes Macedo

Jovira Maria Sarraceni

Luciana Marcatto Fernandes Lhamas

Suelen Moura Zanquim Silva
DOI 10.22533/at.ed.81919131118

CAPÍTULO 19 194

PLANTAS MEDICINAIS COM POTENCIAL LEISHMANICIDA NA AMAZÔNIA

Arnold Patrick de Mesquita Maia
Beatriz dos Reis Marcelino
Daniely Alves Almada
Tainá Soares Martins
Taís Amaral Pires dos Santos
Josiane do Socorro Vieira
Sebastião Ribeiro Xavier Júnior
Silvane Tavares Rodrigues

DOI 10.22533/at.ed.81919131119

CAPÍTULO 20 207

REABILITAÇÃO NEUROMOTORA PARA O PACIENTE COM TRAUMA RAQUIMEDULAR - SÍNDROME DE BROWN SÉQUARD

Diana Marrocos de Oliveira
Natália Ramalho Figueredo
Camila Ferreira Alves
Priscila Andrade da Costa
Sting Ray Gouveia Moura
Patrícia Cordeiro Oliveira
Rodrigo Canto Moreira

DOI 10.22533/at.ed.81919131120

CAPÍTULO 21 215

TÉCNICAS DE CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DE INSETÁRIOS DE MOSQUITOS *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: CULICIDAE)

Fabiola da Cruz Nunes
Louise Helena Guimarães de Oliveira
Hyago Luiz Rique
Gabriel Joventino do Nascimento

DOI 10.22533/at.ed.81919131121

CAPÍTULO 22 225

TRIAGEM FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Mansoa difficilis* E *Hippocratea volubilis*

Mayara Cristina Neves Abel
Letícia Pezenti
Nathani Fernandes Alves Silva
Bruno Henrique Feitosa
Ana Francisca Gomes da Silva

DOI 10.22533/at.ed.81919131122

CAPÍTULO 23 232

UTILIZAÇÃO DE TÍBIAS SECAS DE ADULTOS NA ESTIMATIVA DO SEXO E IDADE POR MEIO DE MEDIDAS LINEARES

Rinaldo Alves da Silva Rolim Junior
Amanda Santos Meneses Barreto
Bruna Maria Barros de Jesus
Gabrielle Souza Silveira Teles
Kellyn Mariane Souza Sales
Mylla Crislley Trindade Carvalho
Renata Queiroz Corrêa

ErasmO de Almeida Júnior

DOI 10.22533/at.ed.81919131123

SOBRE A ORGANIZADORA.....	234
ÍNDICE REMISSIVO	235

PROTEÍNA MO-CBP₂ EXERCE ATIVIDADE INIBITÓRIA FRENTE A DIFERENTES ESPÉCIES DE *CANDIDA* E OCASIONA INIBIÇÃO DE H⁺-ATPASE DE MEMBRANA PLASMÁTICA

João Xavier da Silva Neto

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

Larissa Alves Lopes

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

Eva Gomes Morais

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

Francisco Bruno Silva Freire

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

Ana Paula Apolinário da Silva

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,
Fortaleza - Ceará

Bruno Bezerra da Silva

Universidade Estadual do Ceará

Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

João Paulo Apolinário da Silva

Centro Universitário Unifanor Wyden

Engenharia de alimentos, Fortaleza-Ceará

Luciana Freitas Oliveira

Centro Universitário Unifanor Wyden, Fortaleza-
Ceará

Thiago Fernandes Martins

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

Claudia Johana Pérez Cardozo

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

Johny de Souza Silva

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Fitotecnia, Fortaleza – Ceará

Daniele de Oliveira Bezerra de Sousa

Universidade Federal do Ceará

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Fortaleza – Ceará

RESUMO: *Candida* spp. são parte de um grupo de patógenos oportunistas que acometem principalmente pacientes imunocomprometidos, aumentando o risco de mortalidade dos mesmos. Muitos dos antimicóticos usados no controle de infecções por *Candida* spp. apresentam toxicidade e são passíveis de desenvolvimento de resistência. Assim, as plantas surgem como fonte promissora de moléculas com efeito antimicóticos, com destaque para as proteínas vegetais. *M. oleifera* é uma planta bem utilizada na medicina popular da Índia, apresentando efeito antimicrobiano. Neste trabalho está sendo relatado o isolamento de uma proteína

das sementes de *M. oleífera* com potencial anticandida. Essa proteína, denominada de $Mo-CBP_2$, foi purificada por meio da combinação de cromatografia de afinidade e troca iônica. Por SDS-PAGE, apresentou como uma única banda proteica na faixa de 23,4 kDa. Ensaio *in vitro* mostraram que esta proteína foi ativa contra *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, e *C. tropicalis*, com um CIM_{50} e CIM_{90} variando entre 9,45–37,90 e 155,84–260,29 μM respectivamente. Como avaliação do modo de ação, foi observado que $Mo-CBP_2$ (CIM_{50}) inibiu a H^+ -ATPase de membrana de leveduras de *C. albicans*, observada pela inibição da acidificação do meio induzida por glicose. Esses resultados sugerem que $Mo-CBP_2$ apresenta potencial para se tornar um possível novo fármaco antimicótico, podendo ser usado como alternativa aos atuais. Também é sugerido que a atividade da proteína está relacionada com a inibição de H^+ -ATPase de membrana.

PALAVRAS-CHAVE: Etnobotânica. Etonofarmacologia. Biotecnologia. CBP_s . Antimicrobiano.

$MO-CBP_2$ PROTEIN PRODUCED INHIBITORY ACTIVITY AGAINST DIFFERENT SPECIES OF *CANDIDA* AND INDUCES INHIBITION OF THE PLASMA MEMBRANE H^+ -ATPASE

ABSTRACT: *Candida* spp. they are part of a group of opportunistic pathogens that mainly affect immunocompromised patients, increasing their risk of mortality. Many of the antimycotics used to control *Candida* infections are toxic and may develop resistance. Thus, plants appear as a promising source of molecules with antimycotic effect, especially plant proteins. *M. oleífera* is a well used plant in folk medicine of India with antimicrobial effect. In this work the isolation of a protein from *M. oleífera* seeds with anticandida potential is being reported. This protein, called $Mo-CBP_2$, was purified by combining affinity chromatography and ion exchange. By SDS-PAGE, it presented as a single protein band in the 23.4 kDa range. In vitro assays have shown that this protein was active against *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, and *C. tropicalis*, with an MIC_{50} and MIC_{90} ranging from 9.45–37.90 and 155.84–260.29 μM respectively. . As an evaluation of the mode of action, it was observed that $Mo-CBP_2$ (CIM_{50}) inhibited *C. albicans* yeast membrane H^+ -ATPase, observed by the inhibition of glucose-induced acidification of the medium. These results suggest that $Mo-CBP_2$ has the potential to become a possible new antimycotic drug and can be used as an alternative to the current ones. It is also suggested that the activity of the protein related to membrane H^+ -ATPase inhibition.

KEYWORDS: Ethnobotany. Etonopharmacology. Biotechnology. CBPs. Antimicrobial.

1 | INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o uso prologado e indiscriminado de antimicrobianos tem levado ao surgimento constante de microrganismos resistentes. Semelhantemente,

os fungos desenvolvem elevada resistência aos antimicóticos comumente usados, principalmente pela pouca variedade de drogas disponíveis e mutações sofridas pelos fungos (Abdelrahman et al., 2018). Fungos do gênero *Candida* são naturalmente encontrados em várias partes do corpo humano. Dentre as espécies mais isoladas se destacam *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. São fungos oportunistas que ocasionam infecções conhecidas como candidíases, principalmente em pacientes imunocomprometidos. (Garcia et al., 2018).

Os antimicóticos usados atualmente não são totalmente efetivos, pois os fungos apresentam mecanismos de resistência (Sanglard et al., 2016) e os fármacos exibem certo nível de toxicidade para o ser humano (Dimopoulou et al., 2017). Na busca por novos antimicóticos, as plantas se destacam, principalmente como fonte de proteínas biologicamente ativas. *Moringa oleifera* Lamarck (*Moringaceae*) é uma planta natural da Índia que é comumente usada na medicina tradicional e como fonte de alimento (Freitas et al., 2016). Dela já foram isoladas proteínas com atividade frente a fungos fitopatogênicos. Essas proteínas são denominadas *Mo-CBP₃* e *Mo-CBP₄* (Pereira et al., 2011; Gifoni et al., 2012). Neste trabalho é destacado a purificação de *Mo-CBP₂*, uma nova proteína ligante a quitina de *M. oleifera*, bem como a avaliação de seu efeito anticandida e determinação de seu modo de ação.

2 | METODOLOGIA

2.1 Purificação de *MO-CBP₂*

Neste trabalho foi utilizado a proteína pura *Mo-CBP₂* obtida após a fração albumina das sementes *M. oleifera* ser submetido a processo cromatográfica de afinidade e em seguida de troca iônica. Depois de isolada, a proteína foi observada em SDS-Page (Laemmli, 1970) para determinar o seu grau de pureza. As proteínas solúveis foram quantificadas pelo método de Bradford (1976) e lidas a 280 nm para o acompanhamento dos processos cromatográficos.

2.2 Atividade anticandida

Nesta pesquisa foram utilizadas cepas padrão de *C. albicans* (ATCC 10231), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. krusei* (ATCC 6258) e uma cepa de isolado clínico de *C. tropicalis*. O teste de atividade antifúngica seguiu a metodologia descrita pela CLSI. Inicialmente, uma solução estoque de leveduras foi incubada em placas contendo meio de cultura batata-dextrose-agar e incubado por 24 horas, 37° C. Em seguida, uma colônia isolada da placa foi dissolvida em meio caldo batata-dextrose ficando com DO (densidade óptica) a 620 nm de 0,1. Essa solução foi diluída 1.000 vezes em caldo batata-dextrose, gerando o inóculo final ($2,5 \times 10^3$ UFC/mL). *Mo-CBP₂*, (0,1-1.346,46 μ M), nistatina (0,085-1.067,04 μ M) e itraconazol (0,088-2.832,50 μ M)

foram preparados em NaCl 150 mM. Uma alíquota de 100 μ L de cada antifúngico foi incubado com 100 μ L de inóculo final por 24 horas, 37° C. O crescimento foi observado a 620 nm após 24 horas após início do ensaio. A concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração necessária para inibir o crescimento fúngico em 50 e 90% respectivamente.

2.3 Inibição da acidificação do meio externo estimulada por glicose

Esse ensaio foi realizado para observar o efeito de *Mo*-CBP₂ na inibição de H⁺-ATPase de membrana de leveduras de *C. albicans*. Assim, 7989 μ L de suspensão de leveduras ($2,5 \times 10^3$ UFC/mL) foram misturadas com 20 μ L de *Mo*-CBP₂ ou albumina sérica bovina (BSA). A solução foi incubada por 1 hora, 37° C, sobre agitação leve. Em seguida, glicose 5 M (300 μ L) foi adicionada ao meio reacional e o pH foi mensurado após 30 minutos. *Mo*-CBP₂, BSA, glicose e inóculo final de células foram preparados em tampão Tris-HCl, pH 7,2, 50 mM. A quantidade de inibição foi calculada em comparação com o grupo do controle negativo (tampão tris-HCl) (Monk et al., 1994).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que a proteína pura se apresentou como apenas uma banda proteica com massa molecular aparente de 23,4 kDa (Figura 1). *Mo*-CBP₂ foi purificada com êxito e não apresentou contaminantes.

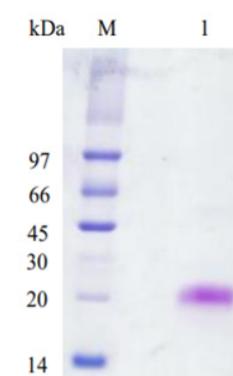


Figura 1. Perfil eletroforético da proteína *Mo*-CBP₂. M = Marcadores de massa molecular. 1= *Mo*-CBP₂ (2 μ g).

Mo-CBP₂ foi purificada da fração albumina das sementes de *M. oleífera*, caracterizando-a como um possível membro da família das albuminas. Na literatura a vários relatos de albuminas vegetais com atividade antifúngica (Cândido et al., 2011; Ribeiro et al., 2012).

Os ensaios de atividade anticandida demonstraram que *Mo*-CBP₂ apresenta grande espectro de ação contra *Candida* spp., sendo capaz de inibir todas as 4

cepas testadas. CIM₅₀ de *Mo*-CBP₂ variou entre 9,45 – 37,90 μ M. Já o CIM₉₀ variou entre 155,84 – 260,94 μ M. A cepa mais sensível a presença de *Mo*-CBP₂ foi *C. krusei*. Interessantemente, *C. krusei* é reconhecidamente resistente a fluconazol e apresenta sensibilidade diminuída a anfotericina B (Sharifzadeh et al., 2017; Silva et al., 2018).

Foi observado também que o tratamento com *Mo*-CBP₂ ocasionou uma forte redução na acidificação do meio induzido por glicose (Figura 2). Esse resultado sugere que houve atividade ensaio de acidificação média induzida por glicose foi observado que sua proteína possui atividade inibitória da H⁺-ATPase de membrana plasmática. A H⁺-ATPase fúngica é uma enzima transmembranar que apresenta vários papéis no metabólicos, mantendo a fisiologia celular e o gradiente de prótons eletroquímico transmembranar necessário para a absorção de nutrientes. Devido a sua grande relevância, a H⁺-ATPase surge como um alvo para a ação de novos agentes antifúngicos (Kongstad et al., 2015; Orié et al., 2017).

Cepas	<i>Mo</i> -CBP ₂	Itraconazol	Nistatina
<i>C. albicans</i> ATCC 10231			
CIM ₅₀ (μ M) ^b	18,90 ^A	11,33 ^B	11,11 ^C
CIM ₉₀ (μ M) ^c	169,50 ^A	67,98 ^B	55,55 ^C
<i>C. krusei</i> ATCC 6258			
CIM ₅₀ (μ M)	9,45 ^A	22,67 ^B	11,11 ^C
CIM ₉₀ (μ M)	155,84 ^A	136,02 ^B	55,55 ^C
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019			
CIM ₅₀ (μ M)	37,90 ^A	11,33 ^B	22,23 ^C
CIM ₉₀ (μ M)	260,29 ^A	67,98 ^B	133,38 ^C
<i>C. tropicalis</i> ^d			
CIM ₅₀ (μ M)	18,90 ^A	22,67 ^B	22,23 ^C
CIM ₉₀ (μ M)	180,98 ^A	136,02 ^B	133,38 ^C

Tabela 1. Atividade antifúngica^a de *Mo*-CBP₂, nistatina e itraconazol contra *Candida* spp.

^aa atividade antifúngica foi avaliada após 24 horas de incubação, 37 °C.

^{b,c} Concentração inibitória mínima que inibiu 50% e 90% de crescimento fúngico.

^d Isolado clínico.

^{A B C D} Diferença significativa entre CIMs de *Mo*-CBP₂, itraconazol e nistatina para mesma espécie. A análise estatística foi realizada através de ANOVA a Tukey test. ($P < 0,05$).

Foi observado também que o tratamento com *Mo*-CBP₂ ocasionou uma forte redução na acidificação do meio induzido por glicose (Figura 2). Esse resultado sugere que a proteína *Mo*-CBP₂ possui atividade inibitória para a H⁺-ATPase de membrana plasmática. A H⁺-ATPase fúngica é uma proteína transmembranar que apresenta vários papéis metabólicos, mantendo a fisiologia celular e o gradiente de prótons eletroquímico transmembranar necessário para a absorção de nutrientes. Devido a sua grande relevância, a H⁺-ATPase surge como um alvo para a ação de

novos agentes antifúngicos (Kongstad et al., 2015; Orié et al., 2017).

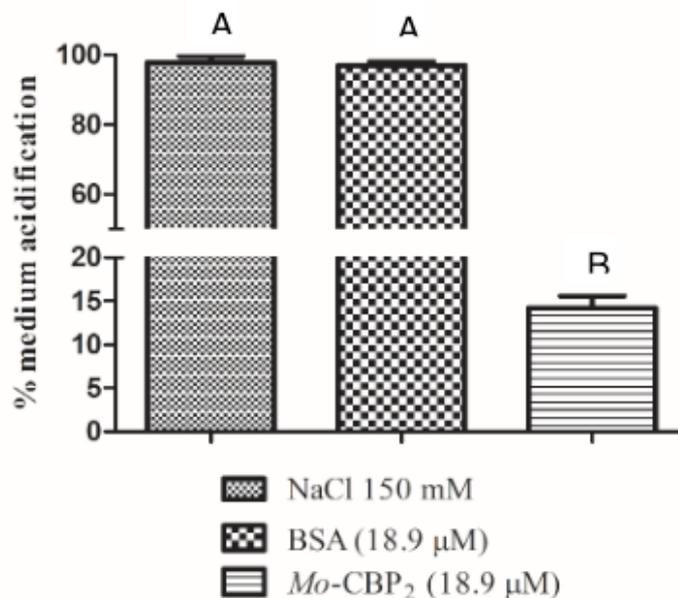


Figura 2. Influência de *Mo-CBP₂* e BSA na acidificação do meio induzida por glicose. Letras diferentes representam diferença significativa entre médias por meio do Tukey test. ($P < 0,05$).

4 | CONCLUSÃO

Com os resultados descritos neste trabalho fica evidente que o processo de purificação descrito previamente, foi satisfatório, resultando em uma proteína pura e integra. Também ficou evidenciado o potencial biotecnológico de *Mo-CBP₂* como um antimicótico, sendo demonstrado isso através de seu amplo de espectro de ação frente a diferentes espécies de *Candida*. Sua atividade inibitória, como demonstrado, parece estar associada com a inibição de H⁺-ATPase de membrana plasmática destas leveduras. Mais estudos devem ser realizados visando melhor determinar o modo de ação desta molécula e seus eventuais efeitos tóxicos em células de mamíferos.

REFERÊNCIAS

Abdelrahman., K. et al. ***In vitro* activity of dihydropyrazole derivatives against *Candida* species.** Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University. V. 56, 80-82, 2018.

Laemmli, U. K. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4,** Nature. V. 227, 680–685, 1970.

Cândido, E. S. et al. **Plant storage proteins with antimicrobial activity: novel insights into plant defense mechanism.** The FASEB Journal. V. 25, 1-16, 2011.

Bradford, M. M. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** Analytical Biochemistry. V. 72, 248-254, 1976.

- Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**; 4th Informational Supplement. CLSI Document M27-S4. Wayne, PA, 2012.
- Monk, B. C. et al. **Fungal Plasma Membrane Proton Pumps as Promising New Antifungal Targets**. *Critical Reviews in Microbiol.* V. 20, 209-223, 1994.
- Ribeiro, S. F. et al. ***Caspsicum annuum* l. trypsin inhibitor as a template scaffold for new drug development against pathogenic yeast**. *Antonie Van Leeuwenhoek.* V. 101, 657-670, 2012.
- Sharifzadeh, A. et al. **Synergistic anticandidal activity of menthol in combination with itraconazole and nystatin against clinical *Candida glabrata* and *Candida krusei* isolates**. *Microbial Pathogenesis.* V. 107, 390-396, 2017.
- Garcia, L. G. S. et al. **Effect of molecular weight of chitosan on its antifungal activity against *Candida* spp. in planktonic cells and biofilm**. *Carbohydrate Polymers.* V. 192, 662-669, 2018.
- Silva, P. M. et al. **PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei***. *International Journal of Biological Macromolecules.* V. 108, 391-400, 2018.
- Kongstad, K. T. et al. **Fungal plasma membrane H⁺-ATPase inhibitory activity of o-hydroxybenzylated flavanones and chalcones from *Uvaria chamae* P. Beauv.** *Fitoterapia.* V. 105, 102-106, 2015.
- Orie, N. N. et al. ***In vitro* Assessment of the growth and plasma membrane H⁺-ATPase inhibitory activity of ebselen and structurally related selenium- and sulfur containing compounds *In Candida albicans***. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology.* V. 31, 1-7, 2017.
- Sanglard, D. **Emerging Threats in Antifungal Resistant Fungal Pathogens**. *Frontiers in Medicine.* V. 11, 1-10, 2016.
- Dimopoulou, M. et al. **Embryotoxic and pharmacologic potency ranking of six azoles in the rat whole embryo culture by morphological and transcriptomic analysis**. *Toxicology and Applied Pharmacology.* V. 322, 15-26, 2017.
- Freitas, J. H. et al. **Evaluation of using aluminum sulfate and water-soluble *Moringa oleifera* seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water**. *Chemosphere.* V. 163, 133-141, 2016.
- Gifoni, J. M. et al. **A novel chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seed with potential for plant disease control**. *Biopolymers.* V. 98, 406-415, 2012.
- Pereira, M. L. et al. **Purification of a chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds with potential to relieve pain and inflammation**. *Protein & Peptide Letters.* V. 18, 1078-1085, 2011.

SOBRE A ORGANIZADORA

RENATA MENDES DE FREITAS - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais, concluída em 2011; mestrado em Genética e Biotecnologia (2014) também pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). É Doutora em Ciências (2018) pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, na área temática de genética e epidemiologia. Atualmente é professora do ensino a distância na Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), no curso de Ciências Biológicas, lecionando a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I (TCC1) e pós-docanda do Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), onde desenvolve projetos de pesquisas relacionados à epidemiologia molecular do câncer de mama e tumores pediátricos, incluindo aconselhamento e rastreamento genético de grupos com predisposição ao câncer hereditário.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acidente vascular 1, 2, 6
Acupuntura 13, 14, 15, 16, 20, 21
Amazônia 34, 162, 171, 194, 201
Anatomia humana 8, 232
Antioxidante 46, 66, 157, 160, 165, 166, 167, 169, 182, 183, 186, 191, 193, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231
Antitumoral 66, 153, 155, 156, 157, 162
Arboviroses 72, 76, 81, 84, 85, 215, 224
Atenção farmacêutica 26, 27, 32
Atividade antibacteriana 50, 52, 54, 57, 157
Atividade antifúngica 59, 60, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 168, 177, 178, 179
Atividade repelente 72, 73, 75, 76

B

Biofilme 63, 134, 135, 136, 137, 138, 139
Biotecnologia 52, 72, 73, 80, 83, 84, 99, 112, 115, 175, 176, 215, 223, 234

C

Cantina universitária 86, 87, 94, 95
CRISPR/Cas9 98, 99, 106, 108, 109, 111, 114, 115, 116

D

Determinantes sociais da saúde 140
Dispositivo médico 134

E

Edição gênica 111
Estratégias cirúrgicas 117, 129
Etnobotânica 176

F

Fisioterapia 1, 3, 5, 6, 7, 133, 193, 207, 208, 209, 210, 213, 214

G

Glaucoma 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33

I

Infecções sistêmicas 135

L

Leishmanicida 194, 197, 200, 201, 202, 204, 205

M

Medidas lineares 232

Melanoma 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159

Microcorrente 182, 183, 184, 185, 187, 188, 190, 191, 192

MO-CBP₂ 175, 176, 177

N

Nei Guan 13, 14, 16, 17, 20

O

Oligoelemento 182, 183, 186, 187, 191

P

Perfis imunogenéticos 34

Plantas medicinais 46, 50, 155, 161, 169, 173, 174, 194, 195, 197, 204, 205, 231

Processos imunológicos 34, 37

Programas de imunização 140

Protozoário 195, 196

R

Reabilitação 1, 3, 4, 5, 6, 207, 210, 211, 212, 213, 214

Regeneração do nervo periférico 117, 119, 128, 130

S

Saúde orgânica 160

Saúde única 86

Segurança alimentar 86

Síndrome Brown Séquard 207, 208, 209, 213

T

Tabagismo 112, 182, 183, 184, 192, 193

Tíbias secas 232

Tratamentos fitoterápicos 195

Trauma raquimedular 207, 208, 209, 213

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-781-9



9 788572 477819