

PEPTIDE DIN INSECTE – SURSĂ DE PREPARATE CU ACȚIUNE ANTIMICROBIANĂ

Dr. hab. Nicolae BACINSCHI
M. cor. Victor GHICAVÎI
Dr. Ina POGONEA
ISMF „Nicolae Testemițanu”

INSECTS' PEPTIDES – A SOURCE OF PREPARATION WITH ANTIMICROBIAL ACTION

Summary. Antimicrobial peptides (AMPs) are ribosomally synthesized natural antibiotics with crucial effect on innate immune systems in all living organisms. These are diverse peptides, differing in their amino acid composition and structure that generally display to rapid killing and have broad-spectrum of antimicrobial activities. They are classified into: peptides with an alpha-helical conformation (cecropins, magainins, etc.); cyclic and open-ended cyclic peptides with pairs of cysteine residues (defensins, protegrin, etc.); peptides with an over-representation of some amino acids (proline rich, histidine rich, glycine rich etc.). Most AMPs display hydrophobic and cationic properties, adopt an amphipathic structure (alpha-helix, beta-hairpin-like beta-sheet, beta-sheet, or alpha-helix/beta-sheet mixed structures) that is believed to be essential for their anti-microbial action. Therefore, AMPs have high potential for therapeutic use in healthcare.

Keywords: Antimicrobial activity, hydrophobic and cationic properties, innate immunity

Rezumat. Peptidele antimicrobiene (PAM) sunt antibiotice naturale, sintetizate de ribozomi, cu un efect crucial asupra imunității înnăscute a tuturor ființelor vii. Acestea sunt diverse peptide, diferite după componența aminoacidică și structură, care contribuie la liza rapidă și posedă un spectru variat de activitate antimicrobiană. Ele se subdivizează în: peptide cu structură alfa-helix (cecropine, magainine etc.); peptide ciclice și inel cu mai multe reziduuri de cisteină (defensine, protegrine etc.); peptide bogate în unul sau altul aminoacid (prolină, histidină, glicină etc.). Majoritatea PAM posedă proprietăți hidrofobe și cationice, adoptă o structură amfipatică (alfa-helix, beta spiralată sau alfa-helix/beta spiralată), care este esențială pentru activitatea antimicrobiană. Din aceste considerente, PAM prezintă un mare potențial de utilizare terapeutică în medicină.

Cuvinte-cheie: activitate antimicrobiană, proprietăți hidrofobe și cationice, imunitate înnăscută.

Din cele mai vechi timpuri, omul a folosit natura fie în viața sa cotidiană pentru rezolvarea problemelor nutriționale, fie pentru a combate sau preveni apariția un șir de maladii. Cele mai importante realizări în acest sens sunt legate de plante (infuzii, decocturi, tincturi, extracte). Însă în ultimele decenii în știința farmacologică se afirmă tot mai tranșant un domeniu nou, având ca obiect principal de studiu insectele, acestea constituind circa 1,5 mil. de specii față de cele 300 000 ale plantelor. După cum au constatat biologii, insectele sunt capabile să producă o imensitate de substanțe biologice active care pot servi model de imitare sau, și mai important, o sursă nouă pentru obținerea preparatelor medicamentoase. Putem menționa că aceste intenții deja au dat rezultate, soldate prin introducerea în practica medicală a unor suplimente alimentare sau medicamente entomologice cu diverse proprietăți [1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 14, 21, 23, 24, 25].

O mare varietate de vietăți produc peptide antimicrobiene (PAM) ce fac parte din prima linie de protecție a organismului față de agenții patogeni. Peptidele antimicrobiene sunt substanțe cu masă moleculară mică, încărcate pozitiv, izolate din organisme monocelulare – insecte, plante, păsări, pești și vertebrate, inclusiv din organismul uman. Datele despre circa 1 200 (50% din insecte) de astfel de peptide identificate dovedesc importanța lor în sistemul imun înnăscut. Expresia acestor peptide poate fi constitutivă și inductibilă de stimulii infecțioși ori inflamatori precum citokine proinflamatoare, bacterii sau molecule bacteriene (lipopolizaharide – LPS), care induc imunitatea înnăscută. PAM sunt în măsură să modifice fagocitoza, să elibereze prostaglandine, să neutralizeze efectele septice ale LPS, să contribuie la acumularea diferitor celule imune în focarul infecțios, să inițieze angiogeneza și regenerarea, să stimuleze chemotaxisul monocitelor și celulelor T. Multe din aceste peptide sunt prototipuri ale remediilor medicamentoase cu acțiune antibacteriană, antifungică, antivirală, imunomodulatoare, antitumorală etc. [10].

Sistemul de protecție antimicrobiană se poate realiza prin factorii cu reacționare rapidă sau tardivă, ce persistă permanent sau sunt induși și care au acțiune efectoare sau reglatoare. Peptidele antimicrobiene sunt un component important al sistemului de protecție cu reacție imediată și se consideră drept o alternativă a antibioticelor clasice (de origine microbiană) [6, 9, 11, 14]. Aceste peptide reprezintă molecule conținând circa 12-100 reziduuri de aminoacizi, diferiți ca și consecutivitate, dar care se sintetizează sub formă de predecesori ce se supun unor modificări

(eliberarea unor reziduuri, glicozilare, halogenizare) cu formarea de peptide active. PAM de diferită genă și tip au caracteristici comune: posedă activitate antimicrobiană în concentrații mici ($\mu\text{g/ml}$); au masă moleculară mică spre deosebire de proteine; sunt molecule cationice care la pH-ul fiziologic au sarcini pozitive (+2 \rightarrow +7); sunt hidrofobe (aminoacizii hidrofobi constituie peste 50%); reprezintă niște molecule amfipatice ce conțin sediul hidrofob (reacționează cu lipidele) și hidrofil (interacționează cu apa și ionii încărcăți negativ); sunt sintetizate de gene ce permit acțiune țintită a PAM (antibioticele de origine microbiană sunt produse ale metabolismului microorganismelor) [6, 9, 11, 14, 22].

Actualmente sunt cunoscute un șir de peptide din insecte și derivații lor sintetici cu activitate antifungică și antibacteriană (abacina, bactericidina, bombolitina, moricina, defensine etc.).

Peptidele cu acțiune antimicrobiană se pot subdivide în:

1) peptide liniare cu alfa helix (spirale) fără conținut de cisteină;

2) peptide bogate în cisteină cu structură beta-stratificată, care conțin de la 4 la 8 reziduuri de cisteină între care se formează de la 2 la 4 punți (S=S);

3) peptide ciclice ce conțin 2 reziduuri de cisteină cu formarea unei punți disulfidice și a unei structuri de inel (loop-structură);

4) peptide bogate în anumiți aminoacizi – prolină, arginină, triptofan, histidina, glicină – care nu formează oarecare structuri secundare și au o formă extinsă în mediul hidric și în faza hidrofobă a membranei [6, 9, 11, 14, 22].

Peptidele antimicrobiene, în conformitate cu mecanismul apariției peptidei mature, se pot subdivide în cele cu: codarea de pe ARNm individual sub formă de predecesor care la maturare se supune proteolizei; proteoliza unei proteine mai mari cu formarea de PAM care asigură funcția specifică. Deși în ambele cazuri se constată proteoliza, ele diferă prin procesele de maturare și mecanismele de reglare [22].

Mecanismul acțiunii antimicrobiene

Insectele manifestă o rezistență specifică față de agenții infecțioși fie prin structurile sale naturale (cuticula constituită din chitina rigidă), fie printr-un mecanism încă incomplet determinat, dar care pare a fi mediat de receptori ce recunosc elemente structurale: proteice, glicoproteice și polizaharidice. Un astfel de receptor, denumit GGBP (Gram negativ binding protein) a fost identificat la viermele de mătase. Acesta s-a dovedit a face parte din familia de receptori scavenger, care la om realizează clearance-ul lipoproteinelor oxidate în sânge.

Recunoașterea non-șelfului stimulează activitatea fagocitară a hemocitelor și declanșează două cascade proteolitice: una responsabilă de coagularea hemolimfei, iar cea de-a doua ducând la activarea profenol oxidazei. Această enzimă produce depozite de melanină pe suprafața microbului, fiind responsabilă și de formarea radicalilor liberi și altor compuși citotoxici, cum ar fi: chinone, semichinone, specii reactive de oxigen etc. Concomitent, în corpul gras al insectei, care este omologul funcțional al ficatului, și în anumite hemocite este indusă sinteza peptidelor cu activitate antimicrobiană. Cinetica acestui proces este asemănătoare cu reacția de fază acută constatată la om în cazul unei inflamații.

Peptidele antimicrobiene manifestă acțiune antibacteriană, antifungică, antivirală și antiprotozoică, inclusiv și față de tulpinile rezistente la antibiotice și chimioterapice. Unele peptide se caracterizează prin acțiune selectivă asupra florei gram-pozitive sau gram-negative. Altele combat bacteriile, fungii, virusurile sau protozoarele [6, 9, 11, 14].

În procesul evoluției, organismele au căpătat proprietatea de a produce substanțe ce modifică permeabilitatea membranei altor organisme, care au fost numite *poroformeri* – proteine capabile să se încorporeze în membrana străină cu formarea de pori. Un efect primar comun al acestor proteine, diferite ca structură chimică, se reduce la cuplarea cu membrana celulară și formarea în ea a unui canal hidrofil ce ușurează, în funcție de dimensiunile porilor, transportul prin partea hidrofobă a membranei a diferitor substanțe (ioni, glucide și chiar proteine). Formarea unor pori suplimentari inițiază diferite mecanisme de moarte celulară [20].

E necesar de menționat că membrana citoplasmatică nu este accesibilă nemijlocit pentru PAM. Astfel, la bacteriile gram-pozitive ea este protejată de stratul de peptidoglican, iar la cele gram-negative – de membrana externă și peptidoglican. În acest context unele PAM-uri pot fi eficiente numai față de flora gram-pozitivă, altele de cea gram-negativă, fapt ce se explică prin recunoașterea specifică a acestora. Astfel, bacteriile gram-negative sunt identificate prin conținutul de lipopolizaharide. Peptidele antimicrobiene trec prin structurile externe substituind ionii de calciu și magneziu datorită proprietăților cationice cu creșterea permeabilității ce ușurează penetrarea și a altor molecule [20, 22].

După penetrarea membranei externe, PAM-urile capătă posibilitatea de a se absorbe pe suprafața membranei citoplasmatică, iar ulterior comportamentul lor poate fi determinat de câteva mecanisme:

1. formarea canalelor permanente de tip butoi (barrel-stave), pereții cărora sunt alcătuiți prin agregarea câtorva peptide. Acest tip este caracteristic pentru puținele peptide (melitine, pardoxine, alameticine) care nu sunt cationi puternici și au rolul de a forma legături hidrofobe ce micșorează selectivitatea față de bacterii cu acțiune asupra celulelor macroorganismului (eritrocite);

2. formarea porilor de tip toroid (toroidal pore), pereții cărora sunt alcătuiți din părțile polare ale PAM-ului și hidrofile ale lipidelor. Acest tip de pori este caracteristic pentru unele PAM-uri cu structură alfa-helix (mageinine).

3. formarea porilor de tip carpet (carpet model), când interacțiunea dintre PAM și membrană nu duce la formarea canalelor permanente sau temporare, ci la substituirea lipidelor cu moleculele amfipatice ale PAM-urilor pe un sector limitat cu distrugerea membranelor, asemănător cu acțiunea detergenților.

Mecanismele respective nu se autoexclud, ci se pot completa – 1 și 2 cu 3 [15, 20, 22].

Moartea celulelor-țintă poate surveni potrivit următoarelor ipoteze:

- dereglarea stării membranei prin: modificarea fluidității stratului lipidic; dereglarea stabilității complexelor proteice intercalate; stoparea respirației; perturbarea potențialului membranelor și balanței energetice; afectarea funcțiilor de barieră a membranei; influxul necontrolat al apei în celulă; pierderea metaboliților esențiali;

- penetrarea PAM-urilor în citoplasmă și cuplarea cu structurile intracelulare (mecanism mai puțin elucidat), de exemplu, cu polianionii celulari (precum ADN și ARN) ce se soldează cu stoparea biosintezei proteinelor și moartea celulei [15, 20, 22].

Se consideră, de asemenea, că PAM-urile, datorită sarcinii pozitive, ar forma o peliculă ce acoperă membrana cu sarcini negative, fapt ce duce ulterior la distrugerea bacteriilor.

În studiile experimentale, deși nu s-a determinat o corelație clară între structura și mecanismul de acțiune al PAM-urilor, totuși se pot stipula unele tendințe:

- corelația pozitivă dintre capacitatea de acțiune agresivă asupra membranei (structura și parametrii funcționali) și selectivitatea joasă (acțiunea asupra bacteriilor și celulelor eucariote);

- repetarea segmentului a 3-6 aminoacizi pentru PAM-urile cu alfa-helix este importantă pentru interacțiunea cu membrana, în deosebi dacă PAM-urile sunt amfipatice și domeniul hidrofob este mai mare. Cu cât e mai mic unghiul polar în PAM, cu atât mai activ formează pori și aceștia sunt mai stabili;

- prezența sau substituirea cu prolină contribuie la modificarea mecanismului – de la formarea porilor – la țintele intracelulare.

Peptide liniare cu alfa helix (spirale) mai poartă și numele generic de cecropine, deoarece primii compuși de acest tip au fost identificați prin infecții experimentale din pupele fluturului *Hyalophora cecropia*. În prezent se cunosc 21 de astfel de peptide provenind atât de la diptere: *Drosophilla melanogaster* (conține 3 izoforme), *Sarcophaga peregrina* (niusca de carne), *Aedes albopictus* (o specie de țânțar american), cât și de la lepidoptere: *Hyalophora cecropia*, *Manduca sexta*, *Bombyx mori*. Cecropinele au fost determinate în hemolimfa diferitelor insecte (sarcotoxina A la muște, cecropina la fluturi, spinigerina la termite) și sunt eliminate sub formă de toxine cu funcția de citolizine. S-a constatat că acestea manifestă acțiune antimicrobiană, hemolitică slabă și sunt parte componentă a sistemului imun al insectelor ce asigură protecția acestora de microorganisme [20].

Peptidele cecropine sunt secretate în formă inactivă, având un peptid semnal și o proscvență la capătul N-terminal care sunt apoi îndepărtate de proteaze, iar la capătul C-terminal prezintă întotdeauna un reziduu de glicină care sub acțiunea unei monooxidaze specifice (enzimă amidantă) este îndepărtat, cel de-al doilea aminoacid rămânând cu o grupare amido-terminală. Partea biologic activă cuprinde 36-40 de aminoacizi care adoptă o structură secundară alcătuită dintr-un alfa helix amfipatic, urmat de o regiune de legătură și de un alfa helix hidrofob, mai scurt, spre capătul C-terminal.

Inițial ambele spirale se orientează paralel membranei celulare urmând ca spirala N-terminală, încărcată pozitiv, să interacționeze electrostatic cu grupările negative ale lipidelor membranare, iar spirala C-terminală să se infiltreze în membrană cu formarea de pori. S-a constatat că fixarea pe membranele lipidice pare a fi favorizată de fosfolipidele anionice (fosfatidilserina) și împiedicată de colesterol, efect care nu se atestă în cazul altor tipuri de steroli. Aceasta ar justifica selectivitatea cu care cecropinele lizează membranele procaiotelor, compoziția acestora fiind permisivă pentru mecanismul lor de acțiune, spre deosebire de membranele eucariotelor. Testele pe lipozomi încărcăți cu coloranți fluorescenți și în care s-a realizat o diferență de potențial transmembranar, au arătat că cecropinele produc doar în câteva minute dereglarea potențialului de membrană și doar după circa o oră se constată liza membranei și eliberarea colorantului. *In vitro* cecropinele s-au dovedit active în special pe germeni gram- negativi, mai puțin

pe gram-pozitivi și aproape lipsite de toxicitate pe celulele mamiferelor. Astfel, Cecropina A din *Drosophila* este bactericidă pe tulpinile de laborator de *E. coli* la concentrația de 1 microM/l, pentru *Staph. aureus* – la 12 microM/l, iar fibroblastele umane sunt rezistente până la concentrația de 102 microM/l. Cecropina B este comparabilă ca activitate, concentrația minimă bactericidă pe sușa standard de *E. coli* fiind de 0,7 microM, iar pe tulpina izolată clinic – de 1,7 microM. Majoritatea germenilor gram-negativi sunt lizați de concentrații până la 25-50 microM, cu excepția speciilor de *Serratia* care sunt cunoscute ca patogene pentru *Drosophila*. Mai activă s-a dovedit Cecropina 1A din *Sarcophaga* (denumită și sarco-toxină) bactericidă pentru *E. coli* și *Shigella spp.* la concentrații de 0,2-0,3 microM. Un studiu efectuat cu tulpini de *Pneumocystis carinii*, izolate de la pacienți cu SIDA și cultivate pe straturi de epiteliocite, au arătat că Cecropina P1 în concentrații de 66 μg/l elimină în proporție de 98% trofozoizi și 93% din formele chistice, fără efecte toxice aparente pe celulele umane.

Cecropinele și melitinele, obținute din insecte, au demonstrat *in vitro* o activitate bună față de flora gram-pozitivă și gram-negativă [19]. Autorii au sintetizat o peptidă hibridă din cecropină și melitină și au studiat eficacitatea ei *in vitro* față de micobacterii (*M.tuberculosis*, *M.avum complex*, *M. Fortuinum* și *M. sinegmatis*). S-a demonstrat că aceasta era activă față de *M.sinegmatis*, dar nu și de celelalte.

Din veninul albinelor *Halictus sexcintua* (Hymenoptera, halictidae) s-au obținut două peptide antibacteriene numite halictine (HAL): HAL-1 și HAL-2 cu un conținut de 12 reziduuri de aminoacizi cu structură alfa-helix. Aceste peptide exercită acțiune antimicrobiană față de flora gram-pozitivă și gram-negativă. Ulterior s-au sintetizat 51 de analogi ai HAL-1 și HAL-2 cu studierea parametrilor structurali (cationicitatea, hidrofobicitatea, alfa-helicitatea, amfipaticitatea) și activității antimicrobiene. Prin substituirea aminoacidului potrivit cu lisina s-a relatat despre creșterea efectului antimicrobian și reducerea celui hemolitic [16].

Din veninul vespei *Polybia paulista* a fost izolată polibia-MPI, o peptidă de structură alfa-helix cu proprietăți antimicrobiene față de flora gram-pozitivă și gram-negativă [17].

Din peptida polibia-MPI, izolată din *Polybia paulista*, a fost sintetizată și studiată acțiunea antitumorală. Rezultatele au relevat că peptida inhibă selectiv proliferarea celulelor canceroase ale prostatei și vezicii urinare cu o citotoxicitate redusă față de fibroblastele obișnuite.

Peptide bogate în cisteină cu structură beta-stratificată cu legături disulfidice, care se cunosc sub denumirea generică de defensine, sunt întâlnite începând cu plantele și terminând cu mamiferele superioare, inclusiv omul. Defensinele din insecte au fost obținute pentru prima dată din cultura de celule a muștei de carne *Sarcophaga pergrina* și au fost denumite sapecine. Ulterior din hemolimfa larvelor muștelor *Phormica terranova* s-au selectat 2 peptide antibacteriene formicina A și B. S-a constatat o analogie a structurilor primare cu defensinele obținute din macrofagele alveolare ale iepurelui și din unele insecte. Actualmente se cunosc circa 30 de defensine din insecte de diferite familii: diptere (*Drosophila melanogaster*; *Sarcophaga spp.*, *Phormia terranova*); himenoptere (*Formica terranova*) și coleoptere (*Tenebrio molitor*). Din defensinele obținute din insecte se pot menționa: heliomicina, termicina, drosomicina, roialisina, sapecina A, B, C etc.

Defensinele sunt molecule cu masă moleculară mică și se întâlnesc la fungi, plante, insecte, vertebrate și la om. Evolutiv au o proveniență comună și reprezintă cea mai veche metodă de apărare a celulelor, fiind un factor important al sistemului imun înăscut. Defensinele, prin sarcinile pozitive, interacționează cu lipidele anionice (fosfatidilglicerol și cardiolipina) ale microorganismelor, care sunt absente la vertebrate, și formează pori în membrana celulară [20, 22].

Peptidele ciclice ce conțin 2 reziduuri de cisteină cu formarea unei punți disulfidice și a unei structuri de inel (loop-structură) sunt mai rar întâlnite. Printre acestea am remarca – tanatina (derivatul sintetic S-tanatina).

S-tanatina reprezintă un analog al tanatinei, peptidă cationică, obținută din Hemiptera *Podisus maculiventris*, cu proprietăți antibacteriene. S-a constatat că aceasta exercită acțiune bactericidă față de 99% de tulpini clinice de *Klebsiella pneumoniae* cu rezistență la antibioticele convenționale. În aceste condiții S-tanatina manifesta sinergism cu cefepima, și nu cu gentamicina, tetraciclina, ciprofloxacină [18].

Peptidele bogate în prolină conțin circa 25-30% prolină. Reprezentanți ai acestui grup sunt: drosocina (*Drosophila melanogaster*), formecinele (*Myrmecia gulosa* – furnica), lebocinele (*Bombyx mori* – vermele de mătase), pirocoricina (*Pyrrhocoris apterus* – vaca domnului), apidaecinele și abecinele (*Apis mellifera* – albina), megalnicovinele (*Palomeria prasina*) și mecincovinele (*Drosophila mekwogasier*). Acestea au un număr de 16-20 aminoacizi în structură și sunt 0-glicozilate, partea

glucidică fiind esențială pentru acțiunea antimicrobiană. Sunt active preponderent pe germenii gram-negativi (Enterobacteriaceae), concentrația minimă inhibitorie fiind mai mică de 10 microM. Unele peptide bogate în prolină, lipsite de partea glucidică, ca mecinicovinele, abecinele, apidaecinele și megalnicovinele sunt toxice pentru flora gram pozitivă, iar mecinicovinele – pentru fungi.

Proteine bogate în glicină formează tot un grup eterogen, singura lor trăsătură comună fiind conținutul de 15-20% glicină. Printre reprezentanți se disting galotricinele (*Holotrichia*), tenecinele (*Tenebrio*) și atacinele (*Drosophila*, *Sarcophaga*, *Hyalophora*, *Hyphantria*), proteine cu masă moleculară mare, având peste 200 de aminoacizi. Spectrul de acțiune al atacinelor cuprinde doar câțiva germeni gram-negativi asupra cărora acționează bactericid, inhibând eficient sinteza porinelor – canalele din structura peretelui celular necesare pentru schimburile de substanțe. Mecanismul nu este clarificat deoarece această acțiune inhibitoare asupra transcripției se realizează fără ca atacinele să pătrundă în citoplasmă, fapt ne mai elucidat până acum. Galotricinele și tenecinele pot manifesta acțiune antifungică.

Din larvele de *Drosophila virilis* s-a izolat o nouă peptidă antibacteriană (SK-84), constituită din 84 reziduuri de aminoacizi cu un conținut bogat de glicină (15,5%). Această peptidă conține serina la lanțul N-terminal și lizina la C-terminal și s-a dovedit activă față de germenii gram-pozitivi, gram-negativi și fungi [12]. Concomitent, autorii au constatat că SK-84 manifestă efect inhibitor asupra proliferării celulelor tumorale (Human leukemia THP-1, liver cancer HepG2, breast cancer MCF-7) fără activitate hemolitică. S-a demonstrat că peptida omoară celulele THP-1 prin distrugerea membranei celulare. Proteina respectivă în *Drosophilla virilis* se află sub formă de pseudoproteină și este similară cu multe pseudoproteine din diferite specii de drozofilă.

Un număr mare de peptide antibacteriene și antifungice s-au descoperit în *Musca domestica*, care sunt componente indispensabile pentru realizarea mecanismelor imune de protecție. Din larve s-a purificat o grupă de peptide antibacteriene cu acțiune bactericidă față de bacteriile gram-pozitive și gram-negative. Acțiunea antibacteriană față de *Bacillus thuringiensis* este determinată de formarea porilor în membrana celulară cu liza și moartea microbilor [13]. Din hemolimfă s-a izolat o substanță constituită din 30 reziduuri de aminoacizi cu proprietăți antimicotice, numită peptida antifungică din *Musca domestica* (PAFMD-1) [7].

Recent au fost descoperite diptericele, pep-

tide cu 70-80 de aminoacizi și o structură hibridă având un domeniu N-terminal bogat în prolină, un domeniu central și C-terminal cu conținut ridicat de glicină. Sunt active pe germenii gram-negativi, iar structura lor spațială și mecanismul de acțiune nu sunt încă elucidate. În urma studiilor privind relațiile structura chimică-activitate biologică, au fost sintetizați un șir de derivați ai acestor compuși naturali, având însă proprietăți îmbunătățite.

Actualmente sunt obținuți un șir de derivați sintetici ai PAM-urilor ce deschid noi perspective de rezolvare a tratamentului infecțiilor bacteriene, fungice, parazitare și virale. De exemplu, MSI-78 (exiganan), un derivat de magainină, peptid similar structural cecropinelor, se află în faza de testare, fiind prevăzut a se utiliza în aplicații topice [15, 16].

În ultimul timp se vehiculează ideea eradicării bolilor parazitare și, în special, a malariei, prin controlul dezvoltării parazitului la nivelul organismului vector. În acest scop a fost elaborat un derivat de cecropină, numit Shiva-3, extrem de activ *in vitro* pe *Plasmodium bergheii* (care produce o variantă murină a malariei), a fost asamblat un vector retroviral care realizează transfecția eficientă a celulelor țanțarului și s-au identificat secvențe promotore care să inducă expresia peptidei în sistemul digestiv. Această tehnologie, deși încă departe de a fi viabilă, potențial este extrem de utilă, dar în același timp ridică semne de întrebare privind efectele secundare ale unei intervenții de acest fel care urmărește înlăturarea completă a unor organisme dintr-o arie ecologică.

Așadar, se cunosc și se obțin un șir de antibiotice și preparate chimioterapice sintetice. PAM-urile reprezintă o clasă de preparate antimicrobiene, dezvoltarea de mai departe a căreia este justificată prin multiplele avantaje: acționează pe numeroși germeni, inclusiv polirezistenți; mecanismul de acțiune face puțin probabilă apariția rezistenței; dovedesc o toxicitate minimală pentru mamifere.

Bibliografie

1. Bulet P., Stöcklin R., Menin L. *Anti-microbial peptides: from invertebrates to vertebrates*. Immunol Rev. 2004 Apr; 198:169-84.
2. Cernysh S.I., Kim S.I., Bekker G., et al. P.: *Anti-viral and antitumor peptides from insects*. PNAS, 2002, vol.99, N.20, 12628 – 12632.
3. Cernysh S.I., Filatova N.A., Cernysh N.S. *Cytotoxic activity of blow fly Calliphora vicina hemocytes*. Journal of Insect Physiology. 2004, v. 50, 777-781.
4. Ciuhrii M., Vernescu S. *Entomologia la finele secolului XX*. Lucrările celui de-al II-lea Congres „Dezvoltarea în pragul mileniului III”. București, 1999, 560-567.
5. Ciuhrii M. *Terapii complementare noi bazate pe substanțe biologice active extrase din insecte*. Lucrările

simpozionului „Priorități în dezvoltarea biotehnologiei românești”. Târgoviște, 12-13 decembrie 2002, 96-103.

6. Duclohier H. *Antimicrobial peptides and peptidols, substitutes for conventional antibiotics*. Curr Pharm Des. 2010;16(28):3212-23.

7. Fu P., Wu J., Guo G. *Purification and molecular identification of an antifungal peptide from the hemolymph of Musca domestica (housefly)*. Cell Mol Immunol. 2009 Aug. 6 (4):245-51.

8. Ghicavii V., Bacinschi N. *Preparatele entomologice – o nouă direcție de cercetare și elaborare a medicamentelor*. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 3 (7). Chișinău, 2006, p. 221-226.

9. Guani-Guerra E. et al. *Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease*. Clin Immunol. 2010 Apr;135(1):1-11.

10. Jenssen H., Hamill P., Hancock R.W. *Peptide Antimicrobial Agents*. Clin. Microbiol. Rev. 2006 July; 19(3): 491-510.

11. Jiang H., Vilcinskas A., Kanost M.R. *Immunity in lepidopteran insects*. Adv Exp Med Biol. 2011; 708:181-204.

12. Lu J., Chen Z.W. *Isolation, characterization and anti-cancer activity of SK84, a novel glycine-rich antimicrobial peptide from Drosophila virilis*. Peptides. 2010 Jan;31(1):44-50. Epub 2009 Sep 30.

13. Lu J. et al. *Purification and characterization of weak-acid antibacterial peptide MD7095 from Musca domestica larvae*. Wei Sheng Wu Xue Bao. 2006 Jun 4;46(3):406-11.

14. Maróti G. et al. *Natural roles of antimicrobial peptides in microbes, plants and animals*. Res Microbiol. 2011 May;162(4):363-74.

15. Matejuk A. et al. *Peptide-based Antifungal Therapies against Emerging Infections*. Drugs Future. 2010 March; 35(3)&197.

16. Monincová L. et al. *Novel antimicrobial peptides from the venom of the eusocial bee Halictus sexcinctus (Hymenoptera: Halictidae) and their analogs*. Amino Acids. 2010 Aug;39(3):763-75. Epub 2010 Mar 3.

17. Wang Y. et al. *Effect of extracted housefly pupae peptide mixture on chilled pork preservation*. J Food Sci. 2010 Aug 1;75(6):M383-8.

18. Wu GQ. et al. *Activity of the antimicrobial peptide and thanatin analog S-thanatin on clinical isolates of Klebsiella pneumoniae resistant to conventional antibiotics with different structures*. Curr Microbiol. 2009 Aug;59(2):147-53. Epub 2009 May 21.

19. Zebrini E. et al. *In vitro activity of two hybrid synthetic peptides having antimicrobial activity against mycobacteria*. Rev. Argent Microbiol. 2006 Oct-Dec.;38(4): 221-223.

20. Андреева-Ковалевская Ж.И. и др. *Пороформирующие белки и адаптация организмов к условиям окружающей среды*. Успехи биологической химии 2008; 48: 267-318.

21. Гикавый В.И. и др. *Фармакологические эффекты энтомологических препаратов*. Материалы научно-практической конференции, „Равнодействие”. Минск, 2010, стр.57-61.

22. Мальцева А.А. *Изучение молекулярных механизмов антимикробной защиты морской звезды Asterias Rubens*. Дисс.канд.биол.наук. 2008.

23. Маркина Н. *Лекарства из насекомых*. 2005.

24. Черныш С.И. *Аллокины (цитокинноподобные пептиды насекомых) как модуляторы иммунного ответа человека и других млекопитающих*. Russian Journal of Immunology, 2004, v.9, s.1, 36.

25. Черныш С.И., Гордя Н.А. *Иммунная система личинок Calliphora vicina (Diptera, calliphoridae) как источник лекарственных веществ*. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2011; 47; 6: 444-452.



Tudor Zbârnea. *Adâncuri*, u/p, 600 × 800 mm, 2010