



Modelagem estrutural e estudos de *docking* da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase e análise *in vitro* do efeito da sinvastatina na viabilidade de *Mesocostoides corti*

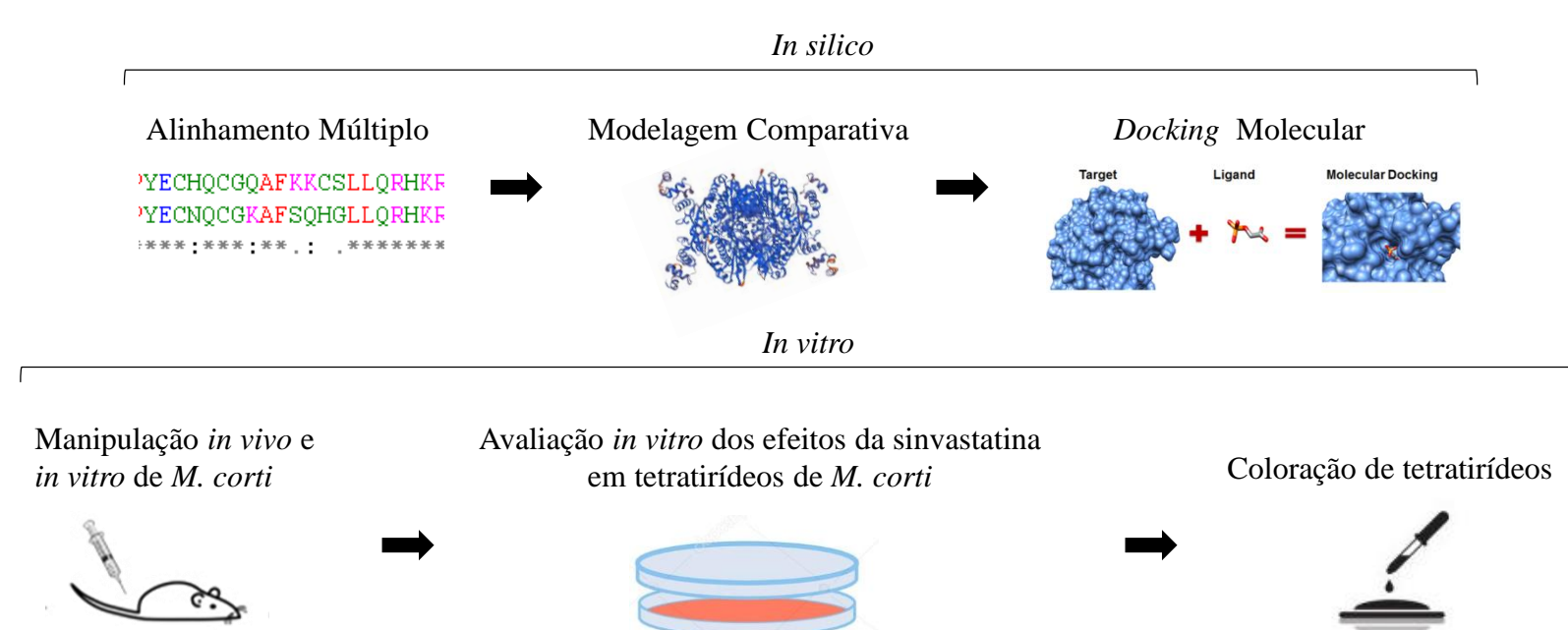
Marina Monteiro Guedes¹ & Arnaldo Zaha¹

¹Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos, Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

INTRODUÇÃO

Platelmintos da Classe Cestoda (cestódeos) são endoparasitos obrigatórios, capazes de infectar uma grande diversidade de organismos, sendo facilmente transmitidos entre os hospedeiros. Cestódeos de relevância média e veterinária (e.g. *Echinococcus* sp. e *Taenia* sp.), causam doenças (cestodíases), para qual o tratamento disponível ainda é pouco efetivo, assim é necessária a busca por novas formas de tratamentos [1]. Uma estratégia para a busca por novas formas de tratamento é o reposicionamento de fármacos e, neste contexto, temos as estatinas que são fármacos usados para controlar a hipercolesterolemia por meio da inibição da enzima hidroxi-metil-glutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase), enzima envolvida na síntese de colesterol pela via do mevalonato. Os cestódeos apresentam a via do mevalonato, mas sem o ramo que leva à síntese de colesterol e, dessa forma, são dependentes da captação do colesterol do hospedeiro. Mas a via do mevalonato é essencial nesses organismos para prenilação de proteínas e síntese de ubiquinona. Desta forma, a enzima HMG-CoA redutase surge como um potencial alvo terapêutico. Estudos envolvendo cestódeos de relevância médica e veterinária, são dificultados pela ausência de protocolos bem estabelecidos para a manutenção destes organismos em condições laboratoriais, sendo assim, *Mesocostoides corti* que é um típico cestódeo, surge como um organismo-modelo, pois permite o estudo de aspectos básicos sobre a biologia dos cestódeos e pode ser facilmente mantido *in vivo* e *in vitro* [2].

MATERIAIS E MÉTODOS



RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise *in silico* mostrou que a enzima HMG-CoA redutase de *M. corti* é conservada em diferentes cestódeos, incluindo espécies do gênero *Echinococcus* e *Taenia* (Fig. 1). Desta forma, é esperado que os resultados obtidos em *M. corti* possam ser extrapolados para cestódeos de relevância médica e veterinária. A modelagem comparativa da estrutura tridimensional da enzima HMG-CoA redutase de *M. corti* (McosHMG8) revelou uma organização estrutural similar a HMG-CoA redutase humana (Fig. 2), com conservação do domínio catalítico da enzima. As análises computacionais de *docking* molecular mostraram que a sinvastatina interage com McosHMG8 por meio de três ligações de hidrogênio (resíduos Lys521 e Asn543 da cadeia A e Ser470 da cadeia B), um número menor de interações que a enzima HMG-CoA redutase humana (8 interações). A sinvastatina realiza poucas interações com o modelo McosHMG8, e isto pode implicar na diminuição da especificidade e afinidade do fármaco e resultar em uma ligação fraca. No entanto, as interações realizadas são na porção do fármaco que é semelhante à HMG-CoA, o que pode estar indicando a inibição da enzima pela sinvastatina. Nos ensaios *in vitro*, os efeitos da sinvastatina no estágio larval de *M. corti* (tetrahidrideo, TT), nas concentrações de 50 µM, 100 µM e 150 µM por até 120 h de tratamento mostraram que os TTs começam a perder mobilidade a partir de 72 h de tratamento nas concentrações de 100 µM e 150 µM. Com 120 h de tratamento de sinvastatina, os TTs apresentaram sinais de degradação, como a formação de bolhas no tegumento do parasito (Fig. 3). Estes resultados sugerem que nas concentrações testadas (50 µM, 100 µM e 150 µM) a sinvastatina pode estar diminuindo a viabilidade do parasito. Durante o experimento, ao realizar a coloração dos tetrahidrideos com a eosina no final do tratamento (24, 48, 72, 96 e 120 h), observamos no microscópio de luz que nenhum dos TTs tratados ficou marcado pela eosina, ou seja, o fármaco nestas concentrações não causa a morte dos parasitos.

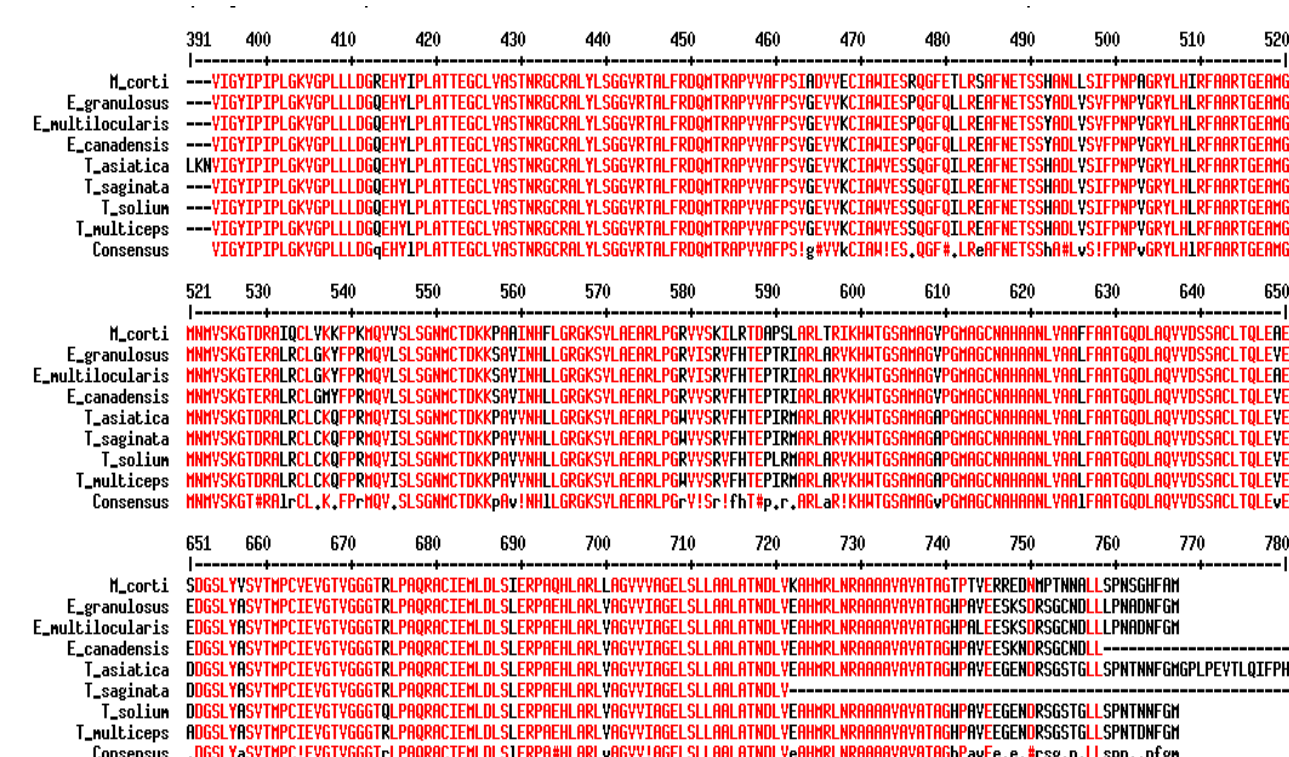


Figura 1 - Alinhamento Múltiplo. Alinhamento das sequências de aminoácidos da HMG-CoA redutase de *M. corti*, *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus canadensis*, *Taenia asiática*, *Taenia saginata*, *Taenia solium* e *Taenia multiceps*.

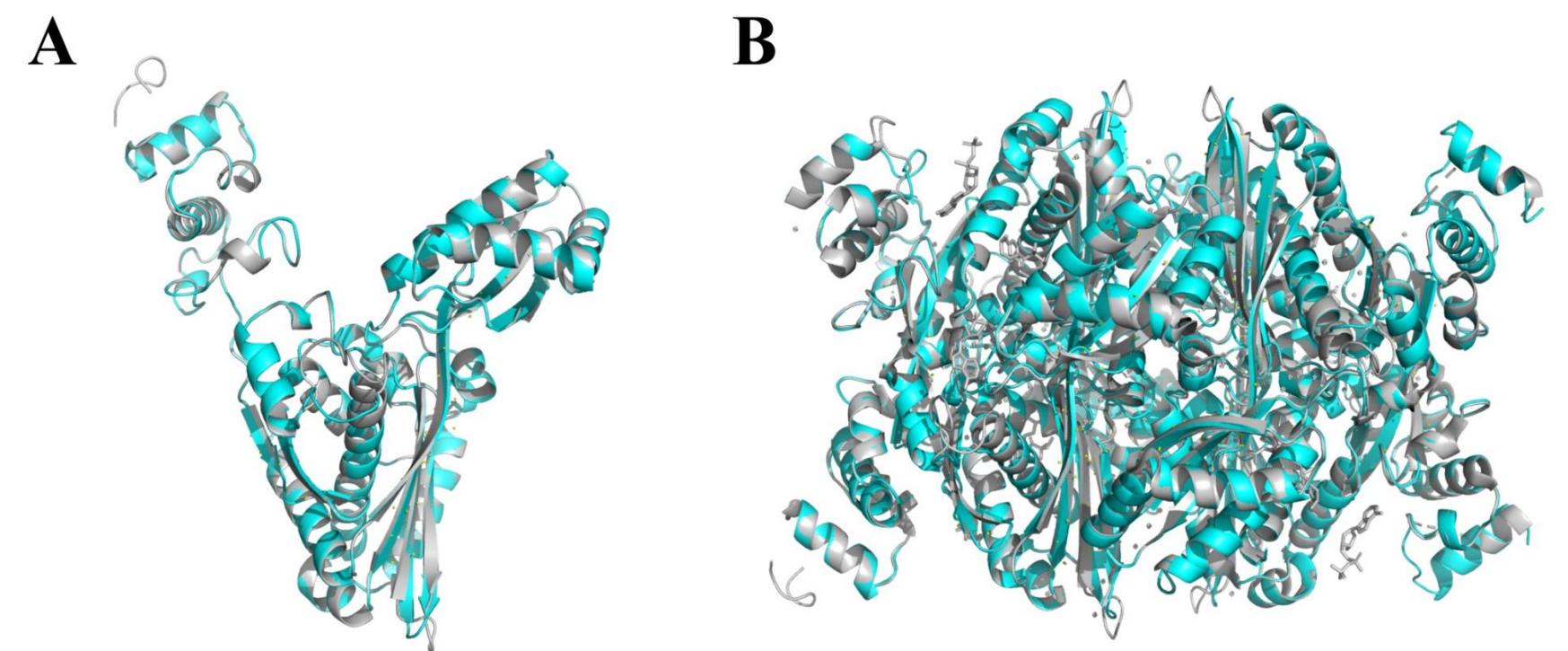


Figura 2 - Sobreposição das estruturas tridimensionais da enzima HMG-CoA redutase humana (1hw9) e do modelo McosHMG8. (A) Sobreposição dos monômeros (cadeia A), em cinza o monômero da HMG-CoA redutase humana e em ciano o monômero da HMG-CoA redutase de *M. corti*. (B) Sobreposição dos tetrâmeros, em cinza o tetrâmero da HMG-CoA redutase humana e em ciano o tetrâmero da HMG-CoA redutase de *M. corti*.

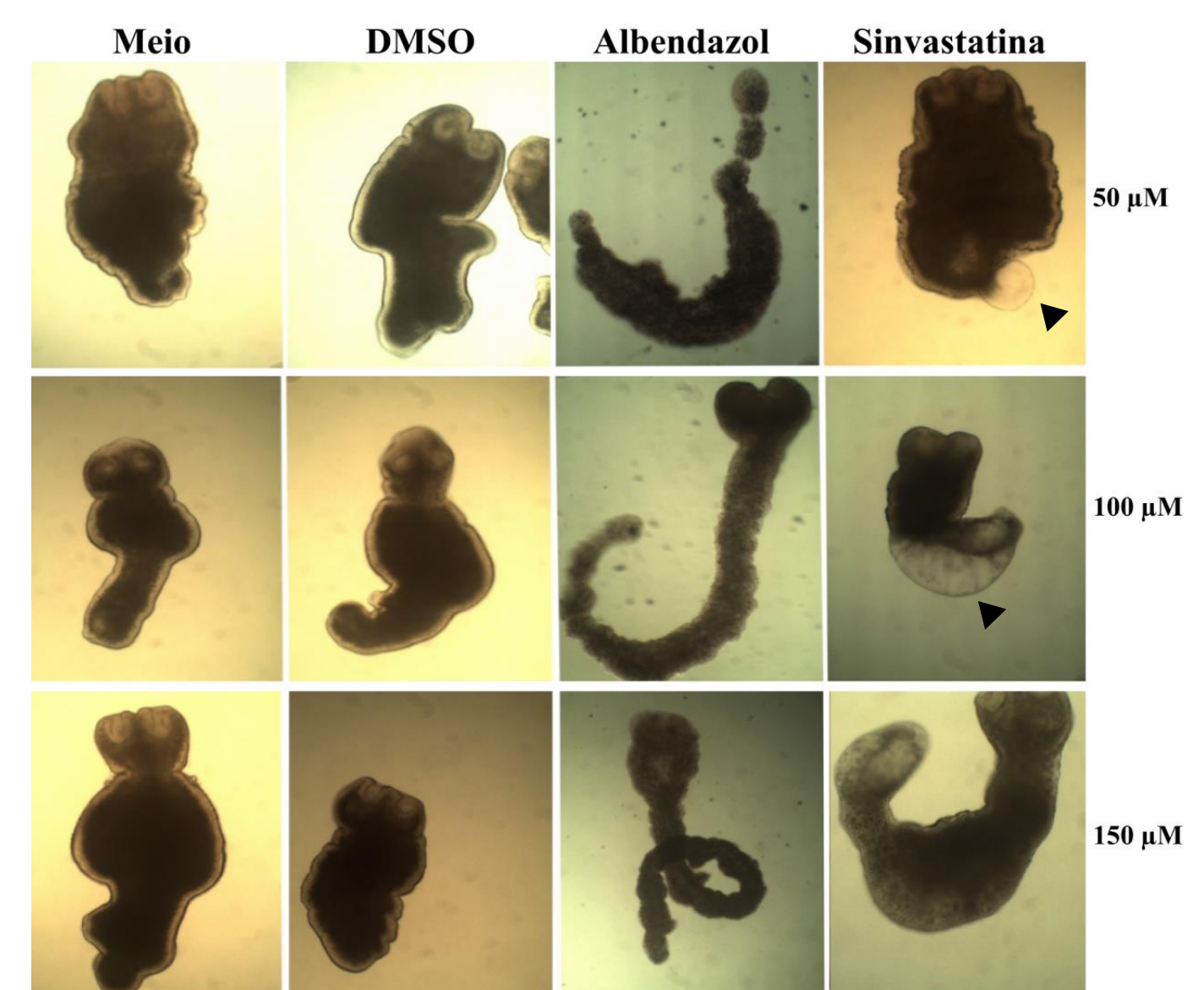


Figura 3 - Efeitos da sinvastatina em TTs de *M. corti* em cultivos *in vitro*. TTs tratados com as concentrações de 50 µM, 100 µM e 150 µM de sinvastatina por 120 h mostram sinais de degradação (ponta de seta) em comparação aos controles negativos (Meio e DMSO).

PERSPECTIVAS

Novas análises computacionais de *docking* são necessárias para melhorar a predição da forma de interação da sinvastatina com McosHMG8, assim como ensaios mais específicos para quantificar a mobilidade e a viabilidade dos tetrahidrideos durante o tratamento com a sinvastatina.

REFERÊNCIAS

- Kern, P., Menezes da Silva, A., Akhan, O., Müllhaupt, B., Vizcaychipi, K. A., Budke, C., & Vuitton, D. A. (2017). The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease. *Advances in Parasitology*, 96, 259–361. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.09.006>
- Markoski, M. M. M. et al. *In vitro* segmentation induction of *Mesocostoides corti* (Cestoda) tetrahidridia. *The Journal of Parasitology*, 89 (1): 27–34, 2003.