



**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***

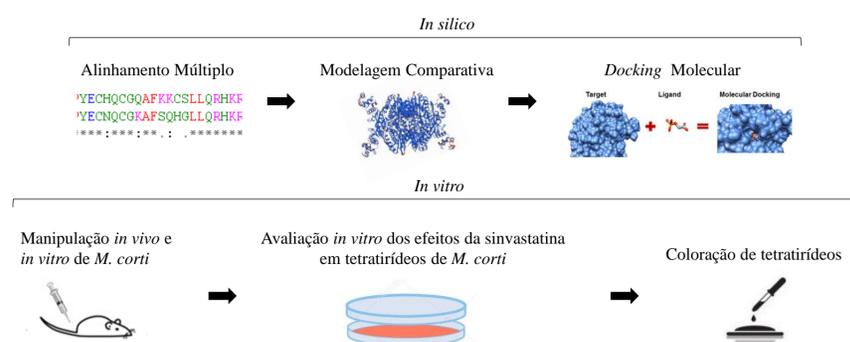
Marina Monteiro Guedes<sup>1</sup> & Arnaldo Zaha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos, Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

**INTRODUÇÃO**

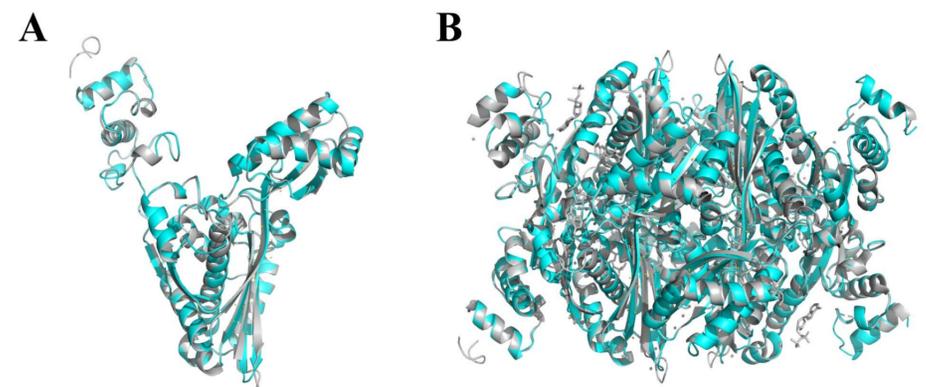
Platelmintos da Classe Cestoda (cestódeos) são endoparasitos obrigatórios, capazes de infectar uma grande diversidade de organismos, sendo facilmente transmitidos entre os hospedeiros. Cestódeos de relevância média e veterinária (e.g. *Echinococcus* sp. e *Taenia* sp.), causam doenças (cestodíases), 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**

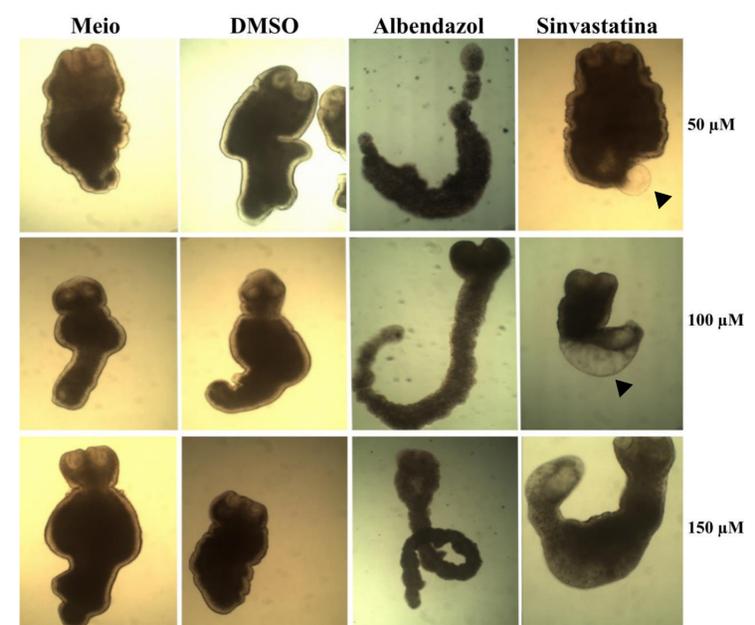


**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

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* (tetratrídeo, 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 tetratrídeos 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 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*.**



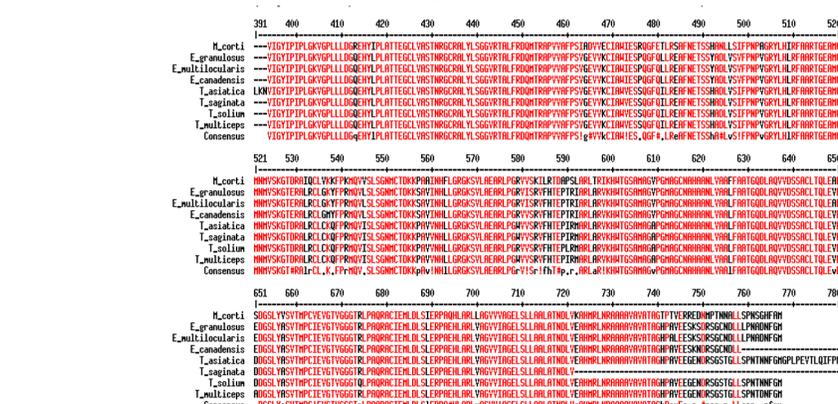
**Figura 3 - Efeitos da sinvastatina em TTs de *M. corti* em cultivos *in vitro*. TTs tratados com as concentrações de 50 µM, 100 µM e 150 µM de sinvastatina por 120 h mostram sinais de degradação (ponta de seta) em comparação aos controles negativos (Meio e DMSO).**

**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 tetratrídeos 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) tetrathyridia. *The Journal of Parasitology*, 89 (1): 27–34, 2003.



**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*.