

Estudos de dinâmica molecular sobre a resistência a antifúngicos azólicos.

Pedro S. Lacerda (IC)^{1*}, Humberto Fonseca de Freitas (PG)², Samuel S. Pita (PQ)¹, Marcelo S. Castilho (PQ)^{1,2}

¹Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia (UFBA), ²Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

pslacerda@gmail.com

Palavras Chave: *Dinâmica Molecular, mutação G484S, Cryptococcus neoformans, Lanosterol 14-alfa desmetilase*

Introdução

O combate às infecções fúngicas tem se tornando um desafio cada vez maior, em função da resistência aos antifúngicos atualmente disponíveis.¹ A mutação G484S na enzima lanosterol 14 α -desmetilase (Cyp51a), por exemplo, resulta em redução da atividade de derivados azólicos pela Cyp51a, seu alvo macromolecular.² Apesar de sua relevância, não há dados estruturais que corroborem o mecanismo de resistência proposto: alteração do posicionamento do grupo heme no sítio.³ Isso se deve a dificuldade de cristalização/resolução estrutural dessa enzima. Visando contornar essa limitação, investigou-se, através de simulações de dinâmica molecular, as diferenças estruturais entre a Cyp51a nativa e a mutante de *C. neoformans*: CnCyp51a e CnG484S-Cyp51a

Resultados e Discussão

Levando em consideração que não existem dados cristalográficos para CnCyp51a e CnG484S-Cyp51a, utilizou-se a técnica de modelagem comparativa para obtenção dos modelos iniciais para os estudos de dinâmica molecular. Esses modelos foram construídos com base em restrições espaciais⁴ impostas pelas estruturas molde 1VKU e 3LD6 e avaliados quanto as suas propriedades estereais (Ramachandran) e eletrônicas (ANOLEA). Após construção e otimização das caixas de simulação para CnCyp51a e CnG484S-Cyp51a, os sistemas foram submetidos a simulações de dinâmica molecular por 80ns, a 310K, 1atm e condições periódicas de contorno, como disponível no programa GROMACS 4.6.3.⁵ A análise do desvio quadrático médio das posições atômicas em relação às coordenadas iniciais de simulação (RMSD) sugere que tanto CnCyp51a quanto CnG484S-Cyp51a se estabilizam a partir de 30ns. Portanto foram analisados os último 50ns de ambas as simulações. A análise do número de ligações de hidrogênio do grupo heme com os resíduos da enzima (Tabela 1) revela o impacto da mutação G484S sobre o padrão de interações moleculares. Como resultado da mutação, ocorre também uma rotação maior que 45° do grupo heme (Figura 1).

Tabela 1. Principais interações por ligação hidrogênio do grupo heme com resíduos da enzima lanosterol 14 α -desmetilase (Cyp51a).

Resíduo	CnCyp51a	CnG484S-Cyp51a
	Porcentagem do total de interações (%)	Porcentagem do total de interações (%)
HIS397	35,53	33,79
ARG332	22,59	7,36
LYS97	2,90	9,89
LYS101	21,52	0,00
GLY395	0,00	21,72
ALA394	0,00	15,11
GLY/SER393	0,00	12,13
ARG398	18,45	0,00

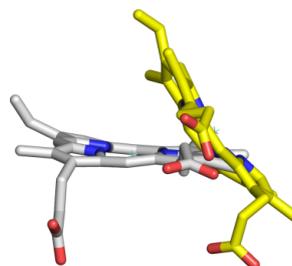


Figura 1. Orientação média do grupo heme em CnCyp51a e CnG484S-Cyp51a na enzima nativa (branco) e mutante (amarelo) na fase produtiva da dinâmica molecular.

Conclusões

Levando em consideração que os derivados azólicos se ligam perpendicularmente ao grupo heme, os dados de dinâmica molecular sugerem que a mutação G484S promove um novo posicionamento do grupo heme interferindo na acomodação dos derivados azólicos, causando resistência.

Agradecimentos

CNPq, FAPESB

¹ Perfect, J. R.; Cox, G. M. Drug Resist Update. **1999**, 2, 259.

² Kelly, S. L.; Lamb, D. C.; Loeffler, J.; Einsele, H.; Kelly, D. E. Biochem Biophys Res Commun. **1999**, 1, 174.

³ Rodero, L.; Mellado, E.; Rodriguez, A. C.; Salve, A.; Guelfand, L.; Cahn, P.; Cuenca-Estrella, M.; Davel, G.; Rodriguez-Tudela, J. L. Antimicrob Agents Chemother. **2003**, 47, 3653.

⁴ Eswar, N.; Webb, B.; Marti-Renom, M. A.; Madhusudhan, M. S.; Eramian, D.; Shen, M. Y.; Pieper, U.; Sali, A. Curr Protoc Bioinformatics. **2006**, cap. 5, unit 5.6.

⁵ Van Der Spoel, D.; Lindahl, E.; Hess, B.; Groenhof, G.; Mark, A. E.; Berendsen, H. J. J. Comput Chem. **2005**, 26, 1701.