

Utilização de ressonância plasmônica de superfície na determinação da atividade agonista de ligantes dos receptores dos hormônios da tireóide.

Napoleão F. Valadares¹ (PG)*, Igor Polikarpov (PQ)¹, Richard C. Garratt (PQ)¹

1-Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural – CBME, Instituto de Física de São Carlos – USP, São Carlos, Brasil.

napo@if.sc.usp.br

Palavras Chave: *Biacore*, *SPR*, *Receptor dos Hormônios da Tireóide*.

Introdução

Os hormônios da tireóide influenciam o metabolismo de lipídeos e o funcionamento cardiovascular. A maior parte dos efeitos dos hormônios da tireóide é mediada por seus receptores, TR α e TR β . A descoberta de novos compostos capazes de atuar como agonistas ou antagonistas dos receptores dos hormônios tireoidianos pode ser útil para o tratamento de problemas médicos importantes, como a obesidade e hipercolesterolemia.

Contudo, a metodologia utilizada tradicionalmente para a avaliação da interação entre os receptores dos hormônios tireoideanos e seus ligantes depende de técnicas de custo elevado, como os ensaios de transfecção realizados em células humanas e ensaios utilizando ligantes com marcadores radioativos, que necessitam permissão especial para a compra.

Nesse trabalho descrevemos o desenvolvimento de uma metodologia alternativa para a determinação da atividade agonista de ligantes dos receptores dos hormônios da tireóide utilizando a técnica de ressonância plasmônica de superfície.

Resultados e Discussão

Os receptores dos hormônios da tireóide (TR) sofrem uma mudança conformacional decorrente de sua interação com agonistas, e apenas após essa mudança a superfície de interação com os co-ativadores é formada. Dessa forma, através do monitoramento da interação entre o complexo TR-Ligante e o peptídeo co-ativador é possível determinar se o ligante apresenta atividade agonista. Esse monitoramento está sendo realizado pela primeira vez através da técnica de ressonância plasmônica de superfície, que propicia medidas em tempo real, dispensa marcadores radioativos, necessita de pequena quantidade de amostras e permite a determinação das constantes cinéticas de forma rápida e com alta reprodutibilidade.

Um derivado do peptídeo SRC2-2, co-ativador dos receptores do hormônio da tireóide, foi imobilizado em um *sensorchip* CM5 em um equipamento *Biacore X*[®] utilizando a técnica de *thiol coupling*. Diferentes

concentrações da isoforma beta do receptor dos hormônios tireoideanos (TR β), previamente incubadas com compostos obtidos por um procedimento de triagem virtual ou com o hormônio T3, foram injetadas sobre a superfície do sensorchip. A cada injeção foi obtido o perfil cinético da interação entre o peptídeo e o complexo receptor-ligante. Essa estratégia permitiu a determinação das constantes de associação (K_a) e dissociação (K_d) entre o peptídeo e os complexos TR-Ligantes (Figura 1).

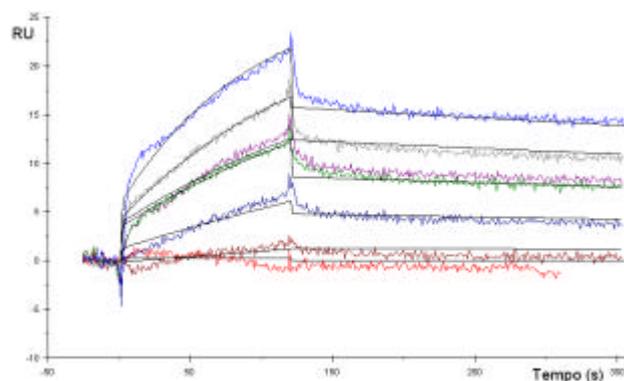


Figura 1. Sensorgrama proveniente do ensaio com o peptídeo SRC2-2 e o complexo TR-T3. As curvas apresentam os dados de associação e dissociação de diferentes concentrações do complexo TR β -T3 ao peptídeo.

Tabela 1. Parâmetros cinéticos e termodinâmicos obtidos pela análise do sensorgrama apresentado na Figura 1.

K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	KA (1/M)	KD (M)
$3,7 \times 10^4$	$5,4 \times 10^4$	$6,8 \times 10^7$	$1,5 \times 10^8$

* Medidas realizadas a 20 °C.

Conclusões

No presente trabalho foi apresentada uma metodologia inovadora que possibilita de maneira simples e reprodutível a identificação da atividade agonista de ligantes dos receptores dos hormônios da tireóide.

Agradecimentos

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

FAPESP