

Desarmando a 'ratoeira' hormonal

LUIZ SUGIMOTO

sugimoto@reitoria.unicamp.br

Resultados de um estudo relacionado com o hormônio tireoideano, obtidos pelo mestrando Leandro Martínez, do Instituto de Química (IQ) da Unicamp, estão causando boa repercussão entre pesquisadores no Brasil e nos Estados Unidos. Martínez realizou simulações computacionais de importância já reconhecida como guias para trabalhos experimentais, na dissertação "Estudo computacional dos mecanismos de dissociação do hormônio tireoideano de seu receptor nuclear", orientado pelos professores Munir Skaf, do IQ, e Igor Polikarpov, da USP de São Carlos.

Grupos da USP de São Carlos e EUA colaboram com estudo

Os receptores nucleares formam uma família de aproximadamente 40 proteínas, que têm a função de regular a transcrição de genes no interior do núcleo celular

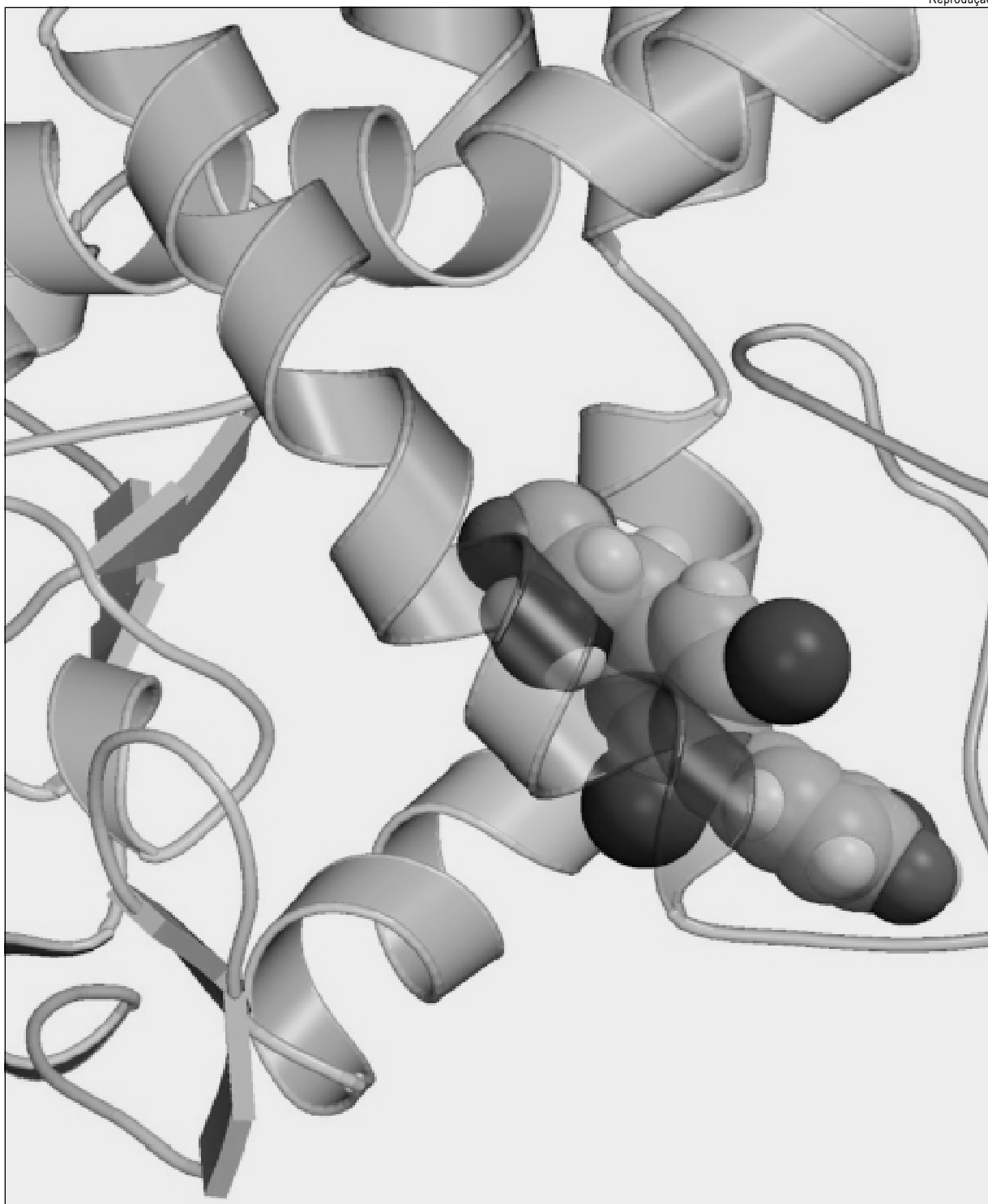
– daí, o seu nome. Apesar do dado incerto, a intensidade das pesquisas sobre esta família pode ser medida pelo fato de que entre 15% e 30% dos medicamentos produzidos no mundo, principalmente os anticoncepcionais, atuam de uma forma ou de outra sobre os receptores nucleares. O hormônio tireoideano e seu receptor nuclear, especificamente, controlam as taxas de metabolismo e a atividade cardíaca, estando associados a distúrbios de obesidade ou hiperatividade.

"As proteínas não são absorvidas pelo organismo na forma como as ingerimos. Depois de digeridas, o organismo vai sintetizar nas células as proteínas que realmente utilizamos, a partir dos aminoácidos", procura simplificar o professor Munir Skaf. "Nosso corpo necessita de diferentes proteínas para suas diferentes atividades. Qual das proteínas está sendo sintetizada a cada momento, depende de mecanismos de regulação do organismo", acrescenta Leandro Martínez.

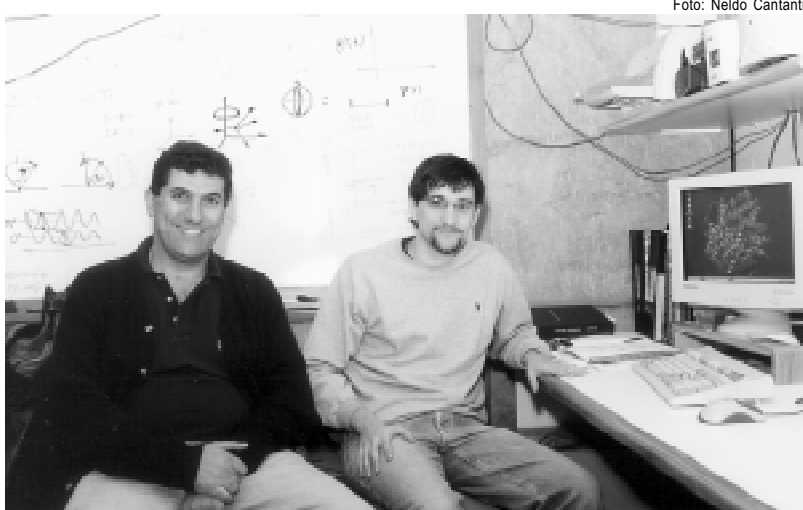
Os receptores nucleares, portanto, regulam se as proteínas codificadas pelos genes estão ou não sendo produzidas no organismo. Eles interagem diretamente com o DNA, através de ligações específicas com seqüências de nucleotídeos (peças fundamentais do DNA) bem definidas para cada gene. Os receptores ativam ou inibem a transcrição desses genes, e esta é a primeira etapa do processo de síntese da proteína nas células. No entanto, a ativação ou a inibição dependem da ligação dos receptores com moléculas pequenas, os hormônios. São conhecidos hormônios para aproximadamente a metade dos receptores nucleares identificados. Dentre os mais citados estão o hormônio tireoideano, a progesterona, o estrógeno e a vitamina A (ácido retinóico).

O receptor pode estar presente no organismo, mas não necessariamente ligado com o hormônio; sozinho, ele é inativo. "O hormônio entra e sai da proteína. É muito importante entender esses mecanismos de associação e dissociação, não apenas para o conhecimento científico, mas também para o desenvolvimento racional de fármacos que atuem sobre essas proteínas de forma análoga aos hormônios", afirma Martínez. No caso do hormônio tireoideano, isto significaria garantir o controle da taxa de gordura no organismo, ajudando a resolver problemas de obesidade e cardíacos.

Simulações – As estruturas de vários receptores nucleares, ligados ou não a hormônios, foram conhecidas recentemente, por meio de processos complexos como difração de raios-X. Contudo, os mecanismos de associação e dissociação não são co-



Detalhe de um caminho de dissociação do hormônio tireoideano de seu receptor protéico



Professor Munir Skaf e Leandro Martínez: simulações guiam trabalhos experimentais

nhecidos. Existem na literatura apenas dois estudos, referentes à dissociação de hormônios dos seus receptores e ambos tratando do ácido retinóico. Estas pesquisas foram realizadas por dois grupos americanos distintos (de Martin Karplus em Harvard e de Klaus Schulten em Urbana), utilizando técnicas diferentes de simulação computacional pelo método de dinâmica molecular. Neste terceiro estudo, voltado para a dissociação do hormônio tireoideano de seu receptor nuclear, Leandro Martínez valeu-se da combinação das duas técnicas anteriores.

"As estruturas são muito complexas e sua obtenção depende de trabalho exaustivo. Tais estruturas, tendo ou não um hormônio dentro, são estáticas e fornecem pouca informação sobre a dinâmica da proteína. As informações sobre a entrada e saída do hormônio são geralmente obtidas por especulações sobre a estrutura está-

tica ou experimentos indiretos. As simulações permitem a visualização direta desses processos moleculares com grande detalhe. É onde entra o nosso trabalho", informa Martínez.

Resultados – As simulações no Instituto de Química da Unicamp indicaram três mecanismos para a saída do hormônio tireoideano de seu receptor. Com a mesma paciência e disponibilidade exigidas para a longa série de simulações no computador, orientado e orientador procuraram descrever didaticamente o passo a passo da busca pelos caminhos possíveis, bem como as interações igualmente relevantes observáveis no percurso. Tantos detalhes, porém, poderiam confundir o leigo, tirando o foco sobre a importância dos resultados.

O primeiro resultado relevante é que o mecanismo obtido nas simulações anteriores sobre o ácido reti-

nóico, repetiu-se nas simulações da dissociação do hormônio tireoideano. Devido à falta de outras evidências, este mecanismo era geralmente aceito pela comunidade científica para toda a classe dos receptores nucleares. Ficou demonstrado pela primeira vez, de forma direta, que esse mecanismo também pode existir para outras famílias de receptores. Porém, este mecanismo, chamado de "ratoeira", já vinha sendo questionado na literatura porque nele o hormônio deveria entrar por uma região do receptor que geralmente está bloqueada pela presença de uma outra proteína, conhecida como coativador.

Os resultados mais promissores dizem respeito a outros dois mecanismos obtidos por Leandro Martínez – um deles inédito na literatura internacional – que apresentam correlações consistentes com diversos resultados experimentais, além de estarem livres dos problemas inerentes ao mecanismo da "ratoeira" porque envolvem outras regiões do receptor. Naquele que foi batizado de mecanismo 2, o hormônio entra de uma forma que explica a ligação de diversos ligantes sintéticos que vêm sendo desenvolvidos na Universidade da Califórnia, conforme matéria publicada nesta página. O terceiro mecanismo, por sua vez, já foi sugerido na literatura, mas as simulações mostraram que ele deve ser o principal mecanismo de dissociação *in vivo* por apresentar barreiras energéticas menores. As simulações reabriram, com novos argumentos, o debate sobre estes mecanismos, e parecem ter revelado formas mais consistentes pelas quais os receptores podem reconhecer os hormônios no organismo.

Endocrinologistas e biofísicos avaliam resultados com interesse

Os resultados alcançados por Leandro Martínez, sobre mecanismos de associação e dissociação do hormônio tireoideano com seu receptor nuclear, terão grande impacto se vierem a ser confirmados por meio de trabalhos experimentais. Esta confirmação vem sendo buscada pelo grupo do professor Igor Polikarpov, da USP de São Carlos, e por um grupo de endocrinologistas liderado pelo professor John Baxter, da Universidade da Califórnia. As duas equipes trabalham em cooperação na área de receptores nucleares desde 2001. Martínez se envolveu com o tema enquanto aluno de iniciação científica de Polikarpov no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron e teve o grupo de físico-químicos do professor Munir Skaf, do Instituto de Química da Unicamp, completando o tripé de apoio para sua dissertação de mestrado. Parte dos complexos programas computacionais foram implementados com a ajuda de outro aluno do IQ, Milton Sonoda.

Os endocrinologistas americanos ficaram bem impressionados com o mecanismo nº 2, pois diversos protótipos de fármacos que estão desenvolvendo são consistentes com a entrada do hormônio tireoideano na proteína através deste caminho. "Nossas simulações mostraram regiões da proteína que são móveis. Usando esta informação, eles podem chegar a ligantes maiores que o hormônio natural, ou seja, a moléculas que também vão interagir de forma efetiva com a proteína, no entanto diferentes", explica Martínez.

Outro aspecto importante para pesquisas futuras, na opinião do professor Munir Skaf, é a possibilidade de realizar mutações sítio-dirigidas, usando técnicas de síntese para promover trocas de aminoácidos até chegar àqueles mais eficazes para a estabilização do hormônio dentro da proteína. "Com os mecanismos que sugerimos, os pesquisadores têm melhor idéia das regiões onde promover as mutações. Eles podem partir de outro patamar", afirma.

Segundo Leandro Martínez, as simulações indicaram em torno de dez aminoácidos-chaves, dentre os 256 que a proteína possui: "Os cientistas terão uma base muito mais clara. Esses grupos trabalham com proteínas há 20 anos, mas esta área é muito aberta a informações. Como esses problemas de química estrutural são bastante complicados, todo tipo de informação nova, surgida de simulações ou experimentos, resulta em um salto muito grande. A expectativa é de que nosso trabalho seja útil para esses grupos. E o retorno tem sido muito positivo".