

USO DA TÉCNICA DE DOCKING MOLECULAR PARA ESTUDO IN SÍLICO DA INIBIÇÃO DA ENZIMA BIOTINIDASE

Luana Coldebella Camillo, Maria de Lourdes Borba Magalhaes, Gustavo Felippe da Silva, Alaide Cristina de Bem Matos

INTRODUÇÃO

A biotinidase (BTD) é uma enzima hepática que cliva a biocitina — formada pela ligação entre biotina e lisina da dieta — liberando lisina e biotina livre (vitamina B7 ou H), cofator essencial para diversas carboxilases, como piruvato carboxilase, acetil-CoA carboxilase e propionil-CoA carboxilase (Nagamine et al., 1993; Hymes et al., 1996). A biotina é crucial para o metabolismo de carboidratos, síntese de ácidos graxos e aminoácidos, além de manter a integridade de unhas, cabelos e pele. As mutações na BTD, de caráter parcial ou profundo, reduzem sua atividade, diminuindo os níveis da vitamina e a função das carboxilases, podendo causar dermatites, perda auditiva e, em casos graves, disfunções neurológicas (Wolf, 1991; Hymes et al., 1997). Apesar da associação frequente entre BTD e bilirrubina, não há evidências consistentes de inibição enzimática pelo pigmento, mesmo em hiperbilirrubinemia ou variantes mutadas (Schulpis et al., 2003). Este estudo investiga, por meio de análises in silico, possíveis interações moleculares entre BTD e bilirrubina, avaliando seu potencial efeito inibitório na enzima selvagem e em variantes mutadas.

METODOLOGIA

As estruturas 3D foram obtidas em Uniprot, PubChem e Protein Data Bank (PDB). A proteína foi processada no Autodock e os ligantes preparados no Avogadro. O acoplamento molecular ocorreu no Autodock Vina, definindo o espaço de busca para o encaixe do ligante, com posições de ligação e energias obtidas via prompt de comando, e imagens dos aminoácidos geradas no Biovia. Para enzimas mutadas, o Pymol foi usado para substituir manualmente aminoácidos conforme mutações descritas na literatura, e a estrutura 3D modificada foi submetida às simulações com bilirrubina, biocitina e biotina, seguindo o mesmo protocolo.

RESULTADOS

A modelagem computacional mostrou que a bilirrubina apresenta afinidade ligeiramente superior à biocitina, substrato natural da BTD, com energias de -8,5 e -8,3 kcal/mol, reforçando a hipótese de inibição competitiva, especialmente em hiperbilirrubinemia. Foram analisadas 74 mutações da BTD, observando-se que alterações em regiões internas reduzem a afinidade pela biocitina, mas mantêm a interação com a bilirrubina, sugerindo que algumas variantes podem intensificar o efeito inibitório. Destaca-se a mutação L437V, associada à icterícia prolongada, que apresenta perfil de ligação singular, favorecendo a bilirrubina em detrimento da biocitina. A comparação entre complexos mutados e a enzima normal detalhou mudanças de afinidade e energia de ligação, contribuindo para compreender os efeitos das mutações na função enzimática.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados destacam a importância da integração entre análises in silico e pesquisa clínica, mostrando que a bilirrubina interfere tanto na BTD normal quanto em variantes mutadas. O Docking mostrou-se eficiente e de baixo custo para avaliar essas interações. O estudo indica que altos níveis de bilirrubina afetam significativamente a atividade da BTD, contribuindo com informações relevantes para o manejo de casos com bilirrubina elevada.

Palavras-chave: Docking molecular; Mutações; Biotinidase; Bilirrubina

ILUSTRAÇÕES

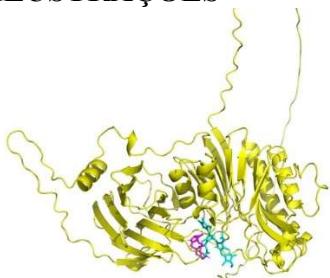


Figura 01: Estrutura tridimensional das posições de ligação previstas da biocitina (rosa) e da bilirrubina (azul) na biotinidase (BTD)

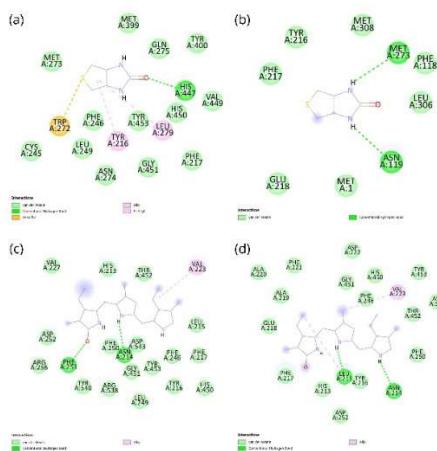


Figura 02: Comparação da estrutura 2D de docking molecular de BTD selvagem e biocitina (a), mutação L437V e biocitina (b), BTD selvagem e bilirrubina (c), mutação L437V e bilirrubina (d).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nagamine, T. et al. Biotinidase activity in patients with liver disease. *Scand J Gastroenterol* **28**, 899–906 (1993).

Hymes, J. & Wolf, B. Biotinidase and its roles in biotin metabolism. *Clin. Chim. Acta* **255**, 1–11 (1996).

Wolf, B. Worldwide survey of neonatal screening for biotinidase deficiency. *J. Inherit. Metab. Dis.* **14**, 923–927 (1991).

Hymes, J., Fleischhauer, K. & Wolf, B. Biotinidase in serum and tissues. *Methods Enzymol.* **279**, 422–434 (1997).

Schulpis, K.H., Gavrili, S., Tjamouranis, J., Karikas, G.A., Kapiki, A. & Costalos, C. The effect of neonatal jaundice on biotinidase activity. *Early Hum. Dev.* **72**, 15–24 (2003).

DADOS CADASTRAIS

BOLSISTA: Luana Coldebella Camillo

MODALIDADE DE BOLSA: PIBITI/CNPq

VIGÊNCIA: 09/2024 a 08/2025 – 12 meses

ORIENTADOR(A): Maria de Lourdes Borba Magalhães

CENTRO DE ENSINO: CAV

DEPARTAMENTO: Produção animal e alimentos

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Ciências biológicas/Bioquímica

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Deficiência de Biotinidase causada pela elevação dos níveis de bilirrubina, associada ao desenvolvimento da encefalopatia hepática”

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: PVAV86-2024