

TRANSTORNOS MENTAIS E PROTEÍNAS DESORDENADAS: UMA ABORDAGEM *IN-SILICO* DO RECEPTOR DE DOPAMINA D4.

MATHAUS CAMELATTO KRÜGER¹; ROBSON DA SILVA OLIBONI²

Grupo de catálise e estudos teóricos, Universidade Federal de Pelotas – kruger-mathaus@gmail.com

²Grupo de catálise e estudos teóricos, Universidade Federal de Pelotas – rooliboni@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As vias dopaminérgicas estão relacionadas a muitos processos importantes no organismo como movimento voluntário, alimentação, afeto, recompensa, sono, atenção, memória de trabalho e aprendizado, fazendo com que os receptores sejam frequentemente associados à etiologia de diversos transtornos e doenças como Esquizofrenia, Doença de Parkinson, Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) e Transtorno de Tourette (BEAULIEU, 2011).

Dentre os receptores de dopamina, o do tipo D4 se destaca, pois o gene que o codifica possui uma região altamente polimórfica de repetições em *tandem* de número variável (VNTR), que se traduz na terceira alça intracelular (ICL3), variando de 2 a 11 unidades de um conjunto de 16 aminoácidos (RONDOU, 2010).

O receptor D4 é mais frequentemente associado ao TDAH devido a sua distribuição peculiar no cérebro, sendo o de menor expressão global. Entretanto, com maior expressão no córtex pré-frontal, relacionado às funções executivas, como atenção e conseqüentemente o TDAH. Apesar de o receptor de 7 repetições (D4.7R) ser a forma mais associada ao TDAH (MICHEALRAJ, 2014), os mecanismos pelos quais esta mudança estrutural poderia ter relação com a causa do TDAH ainda não foram elucidados. A compreensão dos mecanismos por trás tanto da relação do polimorfismo com o TDAH, quanto com a resposta ao metilfenidato, seriam de grande valor, pois facilitariam o diagnóstico, o tratamento e inclusive trariam a possibilidade do desenvolvimento ou reposicionamento de fármacos mais eficazes (BONVICINI, 2020).

Portanto, de acordo com as problemáticas apresentadas um dos objetivos deste trabalho é a modelagem da ICL3 na sua forma nativa de 4 repetições, e sua variante polimórfica de 7 repetições. Desta forma, viabiliza-se análises comparativas em relação ao receptor de 4 repetições, como a análise de afinidade via *Docking*, buscando uma possível explicação para os mecanismos

que poderiam estar relacionados com disfunções dopaminérgicas, como adição por substâncias ou TDAH.

2. METODOLOGIA

A estrutura base deste trabalho foi obtida no banco de dados *Protein Data Bank*, sob o código 5WIU.

A estrutura foi corrigida e otimizada utilizando os softwares *Chimera* (PETTERSEN, 2004) para adição de átomos e *Modeller* (WEBB, 2016) para adição de resíduos, onde foram gerados 5 modelos. Todos modelos foram submetidos à Minimização de Energia através do software *GROMACS* e validados através das ferramentas *PROCHECK* (LASKOWSKI *et al.* 1993) da qual foi utilizada o *Ramachandran Plot* (RAMACHANDRAN *et al.* 1963), e o *Errat* (COLOVOS e YEATES, 1993). A estrutura com maior score nos métodos de validação utilizados foi escolhida para ser usada como molde da modelagem das alças de 4 e 7 repetições. As sequências das alças foram então inseridas e modeladas e tiveram seus *loops* otimizados utilizando-se novamente o software *Modeller*, gerando-se 10 modelos para cada alça, os quais foram validados através dos métodos *Ramachandran Plot*, *Errat* e *Rama-Z* (HOOFT, 1997). Os modelos que obtiveram maiores scores nos métodos de validação foram então utilizados para o *Docking* Molecular, utilizando o software *Autodock Vina* (TROTT & OLSON, 2010). Os métodos utilizados estão demonstrados em fluxograma na figura 1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do resultado dos *dockings*, foi feita a comparação entre os scores de cada modelo (Tabela 1) gerado neste trabalho, que indicam a afinidade pelo ligante. Quanto mais negativo, maior a afinidade. Apesar do receptor D4.4 ter apresentando uma afinidade maior na primeira posição de *docking*, a região onde a dopamina se ligou não corresponde ao sítio de ligação do receptor, interagindo com resíduos diferentes do esperado. A segunda posição do ligante estava na região esperada, porém, sua afinidade pelo receptor reduziu. As interações adequadas só ocorreram nas posições 4 e 5, tendo afinidade mais baixa.

O modelo do receptor D4.7R atingiu as interações adequadas na 2^o posição. Entretanto, além de a diferença de afinidade entre os modelos não ser

significativa, o modelo D4.4R sequer pode ser usado para comparação, afinal as interações não se apresentaram de maneira correta, indicando possível erro no modelo. Mesmo utilizando o modelo 5WIU como comparação em relação ao D4.7R, o resultado é inconclusivo, pois seus valores de afinidade foram idênticos.

4. CONCLUSÕES

Este trabalho buscou uma possível correlação entre o polimorfismo de 7 repetições do receptor de dopamina D4 e transtornos, devido a uma possível neurotransmissão dopaminérgica deficitária. Tendo em vista que a maior diferença deste polimorfismo é a ICL3, que é uma região desordenada, foi proposta uma pergunta que ainda não pôde ser respondida por trabalhos como os de Wang (2017) e Zhou (2019), pois a ICL3 foi substituída pelo fragmento citocromo b562 e seus trabalhos visam apenas a análise do “*wild type*”, ou seja, a versão de 4 repetições.

Foram modelados os receptores com as respectivas ICL3, de 4 e de 7 repetições. Até o momento não foram encontradas outras tentativas de modelagem da ICL3 de 7 repetições na literatura.. De acordo com os resultados obtidos, não foi possível inferir se há diferença entre a afinidade entre os receptores e a dopamina, embora a comparação entre os modelos 5WIU e o D4.7R indique que esta diferença não existe.

Apesar de o resultado deste trabalho ser inconclusivo, questões importantes foram levantadas, direcionando estudos futuros a considerar a dinâmica das interações moleculares, a imprevisibilidade das regiões desordenadas, a flexibilidade molecular e a interação com proteínas G. Outro fator decisivo na elaboração de tais estudos é a precisão dos métodos de validação dos modelos, principalmente para regiões desordenadas. Considerando os fatores mencionados será possível trabalhar com um modelo mais próximo do encontrado na natureza, que conseqüentemente levará a respostas mais precisas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEAULIEU, JM; GAINETDINOV, RR. **The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors**. *Pharmacological Reviews*, Estados Unidos, Vol. 63, No. 1, p. 182-217, 2011. doi:10.1124/pr.110.002642

BIOVIA, Dassault Systèmes, **Discovery Studio**, v21.1.0.20298, San Diego: Dassault Systèmes, 2021.

BONVICINI, C. *et al.* **DRD4 48 bp multiallelic variants as age-population-specific biomarkers in attention-deficit/hyperactivity disorder.** *Transl Psychiatry* 10, 70, 2020.

COLOVOS, C; YEATES, TO. **Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions.** *Protein Sci.* 1993;2(9):1511-1519. doi:10.1002/pro.5560020916

HOOFT, R.W.W., SANDER, C., VRIEND, G. **Objectively judging the quality of a protein structure from a Ramachandran plot.** *Bioinformatics* 13, 425–430, 1997.

LARSEN, Svend Arild *et al.* **Identification and Characterization of Tandem Repeats in Exon III of Dopamine Receptor D4 (DRD4) Genes from Different Mammalian Species.** *DNA AND CELL BIOLOGY*, Volume 24, Nº 12, p.795-804, 2005.

LASKOWSKI, RA; MACARTHUR, MW; MOSS, DS; THORNTON, JM (1993). **PROCHECK - a program to check the stereochemical quality of protein structures.** *J. App. Cryst.*, 26, 283-291.

MICHEALRAJ, KA *et al.* **Functional Characterization of rare variants in human Dopamine receptor D4 Gene by Genotype-Phenotype Correlations.** *Neuroscience* 262 (2014) 176-189.

PETTERSEN, E.F. *et al.* **UCSF Chimera - A Visualization System for Exploratory Research and Analysis.** *J. Comput. Chem.* 25(13):1605-1612 (2004).

RAMACHANDRAN, G. N.; RAMAKRISHNAN, C.; SASISEKHARAN, V. J. **Stereochemistry of Polypeptide Chain Configurations** *Mol. Biol.*, 7,95-99, 1963

RONDOU, P; HAEGEMAN, G; CRAENENBROECK, KV. **The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties.** *Cellular and Molecular Life Sciences* (2010).

TROTT, O., & OLSON, A. J. **AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading.** *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461, 2010.

WEBB, B; SALI, A. **Comparative Protein Structure Modeling Using Modeller.** *Current Protocols in Bioinformatics* 54, John Wiley & Sons, Inc., 5.6.1-5.6.37, (2016).

ZHOU, Ye *et al.* **Crystal Structure of dopamine receptor D4 bound to the subtype selective ligand, L745870.** *eLife*, 21 de nov. de 2019.