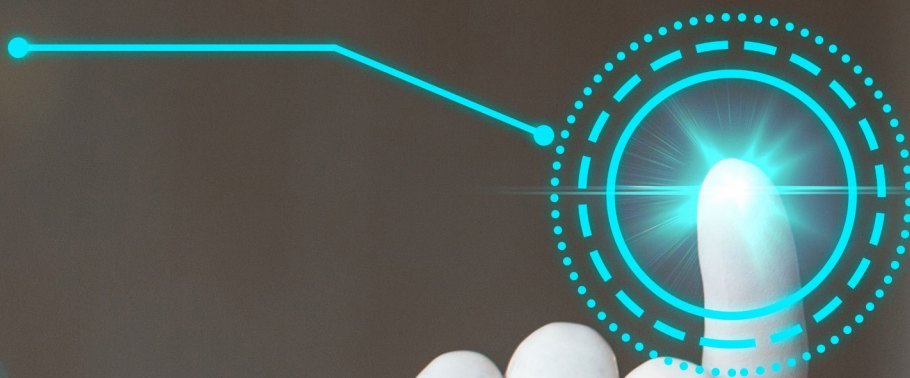


Análise Crítica das Ciências da Saúde

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)



Atena
Editora
Ano 2019

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Análise Crítica das Ciências da Saúde

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Geraldo Alves
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof.^a Dr.^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof.^a Dr.^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof.^a Dr.^a Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.^a Dr.^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof.^a Dr.^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof.^a Dr.^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof.^a Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.^a Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
A532	Análise crítica das ciências da saúde [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Análise Crítica das Ciências da Saúde; v. 1) Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-337-8 DOI 10.22533/at.ed.378192405 1. Farmacologia – Pesquisa – Brasil. 2. Saúde – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. II. Série. CDD 615.1
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Em tempos de propagação em larga escala e “viralização” das informações pelo advento da internet e redes sociais, cada vez mais torna-se necessário conteúdo sólido e sustentável que apresente informações relevantes e fidedignas de uma área tão importante quanto a saúde. O Brasil é um dos países onde os habitantes mais procuram informações relativas à saúde na internet, assim temos um dado que pode ser positivo quando observado o contexto de maior leitura e busca de informação, porém que imediatamente pode tornar-se negativo quando a fonte da informação não é confiável.

Assim, com grande expectativa apresentamos o primeiro volume da coleção “Análise Crítica das Ciências da Saúde”. Um agregado de atividades de pesquisa desenvolvidas em diversas regiões do Brasil, que partem do princípio da análise minuciosa e fundamentada de questões referentes à saúde em diversos dos seus aspectos.

Desde a pesquisa básica à pesquisa aplicada observamos fundamentos e características que influenciam diretamente no bem estar daqueles que receberão os benefícios desses trabalhos, seja na forma direta pelo desenvolvimento de um medicamento farmacêutico ou na forma indireta através de produtos que contribuem para aumento da qualidade de vida.

As ferramentas e o conhecimento disponíveis nem sempre são adequados para resolver os problemas de saúde existentes, necessitando assim de pesquisas e atividades científicas que possam de gerar novas informações e desenvolver maneiras melhores, e mais efetivas, de proteger e promover a saúde e de reduzir as doenças.

Deste modo princípios relevantes foram observados e organizados de forma a explicar conceitos e resultados nas linhas de descelularização pulmonares, correlações clínicas, bioinformática e análises clínicas, fotopolimerizadores, carcinoma epidermóide, fatores de transcrição e obesidade, dor e estresse, sinais vitais e cuidados intensivos, métodos farmacológicos, reabilitação virtual, suplementação dentre outras diversas temáticas ligadas à pesquisa básica e desenvolvimento.

Portanto, todo o material aqui apresentado nesse primeiro volume, assim como no segundo volume da obra, é de fato importante não apenas pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, mas também pela capacidade de professores, acadêmicos, pesquisadores, cientistas e da Atena Editora em produzir conhecimento em saúde nas condições ainda inconstantes do contexto brasileiro. Nosso profundo desejo é que este contexto possa ser transformado a cada dia, e o trabalho aqui presente pode ser um agente transformador por gerar conhecimento em uma área fundamental do desenvolvimento como a saúde.

Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ADERÊNCIA DE FIBROBLASTOS EM MATRIZ PULMONAR DESCELULARIZADA	
Juliana Conceição Da Silva Paulino Leticia Lopes Guimarães Andressa Daronco Cereta Adriana Raquel de Almeida da Anunciação Ana Lídia Jacintho Delgado Luis Vicente Franco de Oliveira Maria Angélica Miglino Renata Kelly da Palma	
DOI 10.22533/at.ed.3781924051	
CAPÍTULO 2	8
INTERAÇÕES PROTEICAS COMO ESTRATÉGIA PARA ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS E DESENVOLVIMENTO DE NOVAS ABORDAGENS PARA ANÁLISES CLÍNICAS	
Benedito Rodrigues da Silva Neto	
DOI 10.22533/at.ed.3781924052	
CAPÍTULO 3	17
COMPLICAÇÃO DURANTE DILATAÇÃO ENDOSCÓPICA DE ESTENOSES ESOFÁGICAS	
Milton Ernesto Scopel Marcos Antonio Picolo Júlio César Dalferth de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.3781924053	
CAPÍTULO 4	29
CORRELAÇÃO CLÍNICA E RADIOGRÁFICA PARA DIAGNÓSTICO DA DENTINOGÊNESE IMPERFEITA	
Yuri Cássio de Lima Silva Yuri de Arruda Tavares Ribeiro Maria Kaline Romeiro Teodoro Tamara Barros Soares de Oliveira Marco Antônio Pachêco Silva Filho Luciana Ferraz Gominho	
DOI 10.22533/at.ed.3781924054	
CAPÍTULO 5	39
DETERMINAÇÃO DO PERFIL ELETROCARDIOGRÁFICO EM RATOS, UTILIZANDO TÉCNICA NÃO INVASIVA, PROVENIENTES DO BIOTÉRIO DAS FACULDADES NOVA ESPERANÇA – PB	
João Vinícius Barbosa Roberto Michael Sarmiento Furtado Joyce Hellen Nascimento Paulino Vladimir Lenin de Sousa A. Araújo Bruno Araújo Novais Lima Ivson Cartaxo Braga	
DOI 10.22533/at.ed.3781924055	

CAPÍTULO 6	48
DOR E ESTRESSE EM ESTUDANTES DE ODONTOLOGIA QUE ATENDEM EM PEDIATRIA	
Afonso Danieli Ricardo José Fritzen Paula Zeni	
DOI 10.22533/at.ed.3781924056	
CAPÍTULO 7	64
EFEITO DO LICOPENO SOBRE PERFIL LIPÍDICO E ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO ADIPOSO DE RATOS OBESOS	
Renata Piran Bianca Sulzbacher da Silva Morena Alana Giordani Eveline Aparecida Isquierdo Fonseca de Queiroz Gisele Facholi Bomfim André Ferreira do Nascimento Mário Mateus Sugizaki Ana Lúcia dos Anjos Ferreira Renata de Azevedo Melo Luvizotto	
DOI 10.22533/at.ed.3781924057	
CAPÍTULO 8	76
IMPORTÂNCIA DA DRENAGEM LINFÁTICA MANUAL NO PERÍODO GESTACIONAL	
Catherine Alencar Morais Mariana Mendes Pinto Rejane da Costa Monteiro Rodolfo Menezes Brasil Lins de Matos	
DOI 10.22533/at.ed.3781924058	
CAPÍTULO 9	88
INVESTIGAÇÃO ACERCA DO EFEITO DA MÚSICA SOBRE OS SINAIS VITAIS DE PACIENTES SOB CUIDADOS INTENSIVOS	
José Augusto de Sousa Rodrigues Luiz Henrique da Silva Bruno Neves da Silva Lavoisier Morais de Medeiros Manuella Uilmann Silva da Costa Soares Gerlane Cristinne Bertino Vêras	
DOI 10.22533/at.ed.3781924059	
CAPÍTULO 10	98
MÉTODOS NÃO FARMACOLÓGICOS PARA ALÍVIO DA DOR DURANTE TRABALHO DE PARTO	
Elizama dos Santos Costa Nelsianny Ferreira da Costa Maria Helena de Sousa Santos Graziele de Sousa Costa Ana Patrícia de Oliveira Isadora Batista Lopes Figueredo	
DOI 10.22533/at.ed.37819240510	

CAPÍTULO 11	109
O USO DA REABILITAÇÃO VIRTUAL COMO COADJUVANTE EM PACIENTES NEUROLÓGICOS DA CLÍNICA ESCOLA DE FISIOTERAPIA	
Fernanda Berlatto Michele Cristina Minozzo dos Anjos Aline Martinelli Piccinini	
DOI 10.22533/at.ed.37819240511	
CAPÍTULO 12	115
PERCEPÇÃO DO USO DE SIMULADORES REALÍSTICOS COMO ESTRATÉGIA DE APRENDIZADO DE ENFERMEIROS	
Sonia Francisca Monken de Assis Viviane Dantas Soares	
DOI 10.22533/at.ed.37819240512	
CAPÍTULO 13	128
QUEDAS EM IDOSOS INSTITUCIONALIZADOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA	
Cindy Nogueira Moura Everton Alves Olegário Wesley Trigueiro Casemiro Klênia Felix de Oliveira Bezerra	
DOI 10.22533/at.ed.37819240513	
CAPÍTULO 14	140
RELATO DE EXPERIÊNCIA ACADÊMICA DE OBSERVAÇÃO CIRURGICA: GLOSSECTOMIA TOTAL	
Naiara Cecatto Aline Martinelli Piccinini Michele Cristina Minozzo dos Anjos	
DOI 10.22533/at.ed.37819240514	
CAPÍTULO 15	146
SUPLEMENTAÇÃO COM LICOPENO MELHORA O PERFIL GLICÊMICO DE ANIMAIS OBESOS SEM ALTERAR A EXPRESSÃO PROTÉICA DE FOXO1	
Bianca Sulzbacher da Silva Renata Piran Morena Alana Giordani Eveline Aparecida Isquierdo Fonseca de Queiroz Gisele Facholi Bomfim André Ferreira do Nascimento Mário Mateus Sugizaki Ana Lúcia dos Anjos Ferreira Renata de Azevedo Melo Luvizotto	
DOI 10.22533/at.ed.37819240515	

CAPÍTULO 16	159
UTILIZAÇÃO DE LIPOPOLISSACARÍDEO BACTERIANO EM MODELOS COMPORTAMENTAIS <i>IN VIVO</i> PARA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TIPO-ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO	
Gelvani Locateli	
Bianca de Oliveira Alves	
Patricia Zanotelli Serpa	
Cristian Alex Dala Vecchia	
Luisa Mota da Silva	
Walter Antônio Roman Junior	
DOI 10.22533/at.ed.37819240516	
CAPÍTULO 17	174
AVALIAÇÃO DA IRRADIÂNCIA DOS APARELHOS FOTOPOLIMERIZADORES DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS	
Valéria Da Cunha Elias	
Carlos Enrique Cuevas-Suarez	
Josiane Kuhn Rutz	
Evandro Piva	
DOI 10.22533/at.ed.37819240517	
CAPÍTULO 18	179
VIGILÂNCIA SANITÁRIA E O MONITORAMENTO DOS RESÍDUOS DE SAÚDE	
Ândrea Regina de Camargo	
Renata Fracácio Francisco	
DOI 10.22533/at.ed.37819240518	
CAPÍTULO 19	193
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO PELO HIV/AIDS EM MUNICÍPIO DA REGIÃO NORTE DE MATO GROSSO	
Isaquiel Erbson Alves Bergonci	
Ludmila Barbosa Bandeira Rodrigues Emerick	
DOI 10.22533/at.ed.37819240519	
CAPÍTULO 20	205
AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA EM ACADÊMICOS DE EDUCAÇÃO FÍSICA	
Emmanuel de Carvalho Gomes	
Fabiano de Jesus Furtado Almeida	
Bruno Bavaresco Gambassi	
Thiago Gomes Leite	
Bismarck Ascar Sauaia	
DOI 10.22533/at.ed.37819240520	
CAPÍTULO 21	216
VALIDAÇÃO DA VERSÃO EM PORTUGUÊS DO INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS TUTORES DA FACULDADE DE MEDICINA DE MAASTRICHT	
Márcia Andréa da Silva Carvalho Sombra	
Sâmya Pessoa de Amorim Marinho	
Juliana Leão Moraes	
Claúdia Maria Costa De Oliveira	
Hermano Alexandre Lima Rocha	
Marcos Kubrusly	
DOI 10.22533/at.ed.37819240521	

CAPÍTULO 22	225
CONHECIMENTO E AÇÕES PREVENTIVAS DO CANCER DE COLO UTERINO NA CIDADE DE PELOTAS	
Rossana Pereira da Conceição	
Débora Castro Ehlert	
Liliana Martins Jorge	
Matheus Zenere Demenech	
Vitória Costa Ataídes	
Celene Maria Longo da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.37819240522	
SOBRE O ORGANIZADOR.....	230

INTERAÇÕES PROTEICAS COMO ESTRATÉGIA PARA ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS E DESENVOLVIMENTO DE NOVAS ABORDAGENS PARA ANÁLISES CLÍNICAS

Benedito Rodrigues da Silva Neto

Graduação em Ciências Biológicas, Mestre em Biologia Celular e Molecular, Doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública . Goiânia, GO, Brazil.
address: neto@doctor.com

RESUMO: As novas abordagens que utilizam a proteômica funcional como ferramenta para o estudo das proteínas expressas em uma célula de microrganismo patogênico, tem cada vez mais sustentado as informações obtidas pelo genoma. As modificações pós-translacionais das proteínas, tais como fosforilação ou glicosilação, são fatores muito importantes na determinação da função da proteína desde o aspecto estrutural até à patogenicidade e virulência que esta pode propiciar ao microrganismo. As interações entre as proteínas são o foco deste estudo, deste modo objetivamos apresentar as principais técnicas de bioinformática utilizadas como mecanismo de entendimento dos princípios destas interações que por sua vez tem apresentado novos caminhos e possibilidades no estudo dos mecanismos de patogenicidade dos microrganismos. Esta revisão descreve as tecnologias de análise e estudo das interações proteína-proteína desde análises *in-silico* por intermédio da bioinformática até as possibilidades de aplicação no diagnóstico. Por intermédio deste estudo é possível concluir que

os avanços na área da bioinformática aplicada à microbiologia tem contribuído na identificação e análise de proteínasde compostos de origem natural ou sintética, que possam inibir a interação entre as proteínas, visando diversas utilizações tais como no tratamento quimioterápico e diagnóstico sensível e específico de doenças causadas por microrganismos patogênicos.

PALAVRAS-CHAVE: Proteína. Interação. Microrganismo. Diagnóstico. Bioinformática

INTRODUÇÃO

Funções celulares são controladas por complexos proteicos cujas proteínas componentes interagem de forma dinâmica e cooperativa no tempo e espaço. Desta forma, a análise de interações e localizações de determinadas proteínas, podem propiciar informações importantes sobre suas funções no ambiente celular. A função biológica de uma proteína é fortemente sugerida quando são identificadas proteínas com as quais ela se associa, ou seja, quando são conhecidos os componentes desse complexo. Assim, o estudo da interação entre proteínas pode colaborar na elucidação de funções biológicas de componentes desta rede de interação e na definição dos mecanismos celulares nos quais as mesmas estejam envolvidas, possibilitando maior eficácia na elucidação do mecanismo de

virulência e patogenicidade de microrganismos.

Interações entre proteínas do hospedeiro e do patógeno são tipicamente estudadas utilizando-se experimentos tradicionais de bioquímica e genética em pequena escala, dirigindo o foco para uma proteína ou via metabólica por vez. Métodos de investigação em grande escala, como por exemplo, purificação por afinidade *in tandem* e experimentos de duplo híbrido em leveduras, permitem uma detecção mais abrangente, mas ao custo de taxas significativas de falsos positivos e/ou negativos 1 (HART *et al.*, 2006). Em combinação com dados experimentais, métodos computacionais podem ser utilizados para melhorar a cobertura, precisão e eficiência na identificação de interações proteína-proteína (IPPs) e muito provavelmente poderão complementar as abordagens experimentais em grande escala para caracterizar redes de interação patógeno-hospedeiro, otimizando métodos tradicionais e desenvolvendo novas estratégias para análises clínicas² (JANSEN *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2004),

Deste modo presente estudo discute e avalia as publicações recentes no ramo da proteômica funcional abordando as principais ferramentas utilizadas no estudo da interação de proteínas de microrganismos como base para inovações no diagnóstico preciso e na pesquisa avançada.

METODOLOGIA

A pesquisa trata-se de uma revisão narrativa de literatura, realizada seguindo as etapas de identificação do tema, estabelecimento de critérios para inclusão e exclusão de trabalhos, seleção das informações a serem incluídas, síntese do conteúdo encontrado e elaboração de propostas para sanar as dificuldades encontradas e perspectivas para o futuro da área. O levantamento bibliográfico foi realizado através de pesquisa nas bases de dados: LILACS, SCIELO e PubMed. Os termos descritores utilizados foram: genômica funcional, bioinformática, proteína, interação e microrganismo. Foram utilizados textos nas línguas portuguesa e Inglesa. Após leitura dinâmica dos principais conteúdos encontrados, foram selecionados os principais trabalhos que versaram sobre a temática de interação e análise de proteínas.

ANÁLISE DE DADOS

Devido às preocupações com toxicidade e efeitos secundários, a maioria dos estudos com microrganismos para descoberta de fármacos alvo-dirigidas tem sido focada em proteínas exclusivas do patógeno. Entretanto, essa abordagem não evita um problema recorrente, o desenvolvimento de resistência a antibióticos. Para minimizar esse risco, novas estratégias de desenvolvimento de fármacos baseadas em conhecimento integrativo dos processos celulares e dos mecanismos patogênicos são urgentemente necessárias (WANG *et al.*, 2013).

Dentre essas estratégias integrativas, podemos citar o estudo de IPPs, um dos mecanismos mais comum responsável pelo funcionamento de grande número de

processos fisiológicos na célula. Dessa forma, IPPs constituem a base de funções celulares e também patológicas. Uma vez que muitas proteínas exercem sua função biológica apenas quando fazem parte de um complexo corretamente montado, interações proteína-proteína, os interatomos têm sido extensamente estudados, desde o desenvolvimento de novos antimicrobianos ao diagnóstico clínico (PIERROT *et al.*, 2012).

Apesar de sua importância, a maioria das IPPs ocorre por meio de sítios relativamente pequenos que são essenciais para a alta afinidade de ligação. Estas regiões podem ser referidas como *hot spots* de ligação (BOGAN & THORN, 1998; CLACKSON & WELLS, 1995). A existência de múltiplos contatos nas interfaces entre proteínas foi demonstrada por análises mutacionais, onde em muitos casos a modificação de apenas uma cadeia lateral crucial pode abolir uma IPP. Além disso, essas pequenas regiões, onde a maior parte da energia de ligação se localiza, são consideradas novos alvos de fármacos, já que sua ligação a pequenas moléculas pode coibir a interação entre proteínas. Outro modo de ação de inibidores seria a ligação em outros sítios que levariam a uma mudança de conformação capaz de interferir com a interface IPP (BUCHWALD, 2010; PIERROT *et al.*, 2012). Logo, a interface IPP pode ser uma alternativa aos alvos de fármacos atuais e com menor possibilidade de desenvolvimento de resistência, já que os *hot spots* devem ser extremamente conservados e, conseqüentemente, menos sujeitos a mutações. Assim, apresentamos a seguir uma atualização literária abordando os principais conceitos para o desenvolvimento de estudos de interação de proteínas em microrganismos como apresentado no fluxograma da figura 1.

Modelagem comparativa por homologia

De modo geral, os modelos das proteínas envolvidas nos complexos podem ser preditos seguindo o critério de alinhamento da sequência a ser modelada (alvo) com todas as estruturas 3D que já foram depositadas no banco de dados de proteínas (PDB) (BERENDSEN, *et al.*, 1995). Famílias de proteínas também podem ser selecionadas como entrada para o alinhamento neste tipo de abordagem, então um modelo 3D da sequência alvo é construído a partir de um *template* particular ou a partir de vários deles. O algoritmo MODELLER tem sido amplamente utilizado neste tipo de abordagem (ModWeb; ESWAR *et al.*, 2003), classificando as estruturas seguindo o escore ZDOPE (baixa energia) dentre as estruturas do PDB com mais alta identidade no alinhamento.

Decomposição e identificação de domínios estruturais

Muitas proteínas podem ser divididas em subunidades modulares denominadas domínios, podendo estar associados a funções biológicas específicas. Um domínio, portanto, pode ser considerado como a unidade evolutiva de estrutura e função biológica. Uma coleção de famílias de domínios de proteínas amplamente utilizada é a

Pfam (PUNTA *et al.*, 2012), construída a partir de alinhamentos múltiplos de sequências de proteínas. Embora seja reconhecido que a estrutura 3D de domínios de proteínas é evolutivamente mais conservada do que sua sequência de aminoácidos (ILLERGÅRD *et al.*, 2009), comparar estruturas 3D é mais complexo que comparar sequências unidimensionais (1D). Assim, os estudos evolutivos de proteínas têm comparado, e agrupado, sequências 1D de aminoácidos e nucleotídeos ao invés de estruturas 3D.

De fato, algoritmos de correspondência de padrões eficientes, como o FASTA e o BLAST, são ferramentas amplamente utilizadas para a busca de bancos de dados de sequências de aminoácidos e nucleotídeos, entretanto não há um padrão amplamente aceito em como alinhar e comparar duas estruturas de proteínas (SIPPL & WIEDERSTEIN, 2008). O algoritmo *Kpax* (RITCHIE *et al.*, 2012), permite realizar buscas rápidas em bancos de dados estruturais visando identificar sequências proteicas homólogas que, embora divergentes (baixa identidade), possuem estruturas 3D conservadas, fornecendo informações importantes sobre possíveis IPPs.

Ancoragem molecular

Há três aspectos fundamentais mutuamente inter-relacionados para a realização da ancoragem molecular: i) a representação do sistema, ii) o algoritmo de busca conformacional e iii) a forma de classificar os resultados. A escolha do tipo de representação do sistema, como os átomos/resíduos são representados, decide os tipos de algoritmos que podem ser empregados e o tipo de função escore que será usada na classificação dos ligantes. De maneira geral, estes são os elementos mais críticos envolvidos nos protocolos de ancoragem molecular (HALPERIN *et al.*, 2002).

Os algoritmos de busca têm a finalidade de explorar os graus de liberdade do sistema gerando os possíveis modos de ligações entre a proteína e o ligante. Ao mesmo tempo, a função escore é capaz de selecionar aquelas conformações geradas de maior probabilidade de ocorrência. Naturalmente, os aspectos críticos de um algoritmo de busca são sua velocidade de execução e sua habilidade em explorar as conformações de maior relevância. A função escore deve representar adequadamente a energia livre de ligação envolvida na interação do sistema proteína-ligante, permitindo a classificação dos modos de ligações mais prováveis. Estas estimativas, por meio de funções escores, são bastante complicadas devido à dificuldade em incluir os efeitos entrópicos do sistema, isto é, tratar adequadamente os efeitos do solvente (ALONSO *et al.*, 2006; LIMONGELLI *et al.*, 2012).

Nos estudos que requerem testes com vários ligantes (*screening virtual*), as soluções devem ser mais rapidamente determinadas para não comprometer o tempo de CPU. Neste caso, dois importantes passos são geralmente necessários: uma busca global seguida por outra refinada. Vários algoritmos têm sido desenvolvidos usando estas estratégias, acopladas aos recursos de paralelismo dos algoritmos para melhor desempenho (BIESIADA *et al.*, 2011).

Nas interações proteína-proteína, podemos partir da premissa de que, a nível

molecular, cada IPP é composta de uma interface física tridimensional. Logo, se as estruturas individuais de um par de proteínas que interagem são conhecidas, a princípio, seria possível prever a estrutura do complexo a partir de um algoritmo de ancoragem molecular (*docking*). No entanto, apesar do melhoramento desses algoritmos (LENSINK & WODAK, 2010), ainda é um desafio produzir modelos 3D satisfatórios de um complexo de proteínas utilizando técnicas *ab initio* (*docking* cego, por exemplo).

BN-PAGE

É possível detectar alguns complexos multiprotéicos com diferentes tamanhos em um mesmo experimento pelo método eletroforético “Blue Native” (BN-PAGE) e identificar seus componentes por espectrometria de massas. O BN-PAGE foi desenvolvido para separar complexos proteicos nativos a partir de membranas biológicas e proteínas (ácida e básica) hidrossolúveis. Em combinação com uma segunda dimensão de SDS-PAGE, torna-se possível determinar a massa molecular, estados oligoméricos, detectar subcomplexos e o nível de pureza da amostra (SANTANA et al., 1992). O sucesso do BN-PAGE, naturalmente depende da solubilização da amostra nativa.

Análise das interações por LC-MS/MS e bioinformática

A espectrometria de massas (MS) é uma técnica que mede a relação entre a massa e a carga (m/z) de moléculas ionizadas em fase gasosa (GROSS, 2004). De uma maneira geral, um espectrômetro de massas é constituído por uma fonte de ionização, um analisador de massas um detector e um sistema de aquisição de dados. Na fonte de ionização de moléculas são ionizadas e transferidas para a fase gasosa. No analisador de massas os íons formados são separados de acordo com suas relações m/z e posteriormente detectados (usualmente por elétron multiplicador) (FENN *et al.*, 1989; GROSS, 2004).

Até a década de 80, a necessidade de ionizar as moléculas para obter um espectro de massas era um grande obstáculo enfrentando no caso de moléculas biológicas de alta massa molecular. Nos métodos de ionização disponíveis na época, as moléculas a serem ionizadas deveriam estar fase gasosa, sob alto vácuo e as altas temperaturas, condições incompatíveis com biomoléculas. Esse problema foi resolvido com o surgimento de duas técnicas brandas para ionizar moléculas biológicas grandes, são: a espectrometria de massas com base na dessorção e ionização das proteínas de laser, auxiliado por uma matriz (MALDI – Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization), que analisa a massa através do tempo de voo dos íons no tubo de análise (ToF - Time of Flying); e a espectrometria de massas baseada na ionização por pulsos elétricos em médio líquido (ESI – ElectroSpray Ionization); (ROCHA *et al.*, 2005).

Os experimentos desenvolvidos no laboratório necessitam ser complementadas pelas análises virtuais feitas com o auxílio de um computador (HOCHSTRASSER, 1998). Além de softwares para analisar a separação eletroforética, ferramentas

bioinformáticas foram desenvolvidas. Algumas destas está disponível através da Internet ao usuário: ExPASy (www.expasy.ch/www/tools.html) (HOCHSTRASSER et al., 1995).

Estes softwares permitem não somente a identificação das proteínas, mas também de uma caracterização adicional que varia do cálculo das propriedades físico-químicas básicas até a predição de potenciais modificações pós-traducionais e de estruturas tridimensionais 3D. A proteína encontrada e as bases de dados dos géis bidimensionais são o núcleo da bioinformática na pesquisa de proteomas. SWISS-PROT é um exemplo típico de uma base de dados (BAIROCH & APWEILER, 1998).

Modelagem comparativa de proteínas-alvo

Uma vez selecionadas as proteínas-alvo, e, caso não haja uma estrutura 3D depositada no PDB, as mesmas passarão por um processo de modelagem comparativa, seguindo o protocolo do programa MODELLER. O procedimento de modelagem inicia-se com o alinhamento da sequência a ser modelada (alvo) com todas as estruturas 3D que já foram depositadas no banco de dados de proteínas. Famílias de proteínas também podem ser selecionadas como entrada para o alinhamento feito pelo programa. A saída é um modelo 3D da sequência alvo, construído a partir de um *template* particular ou por vários deles. A qualidade das estruturas preditas será medida com o programa ERRAT (COLOVOS; YEATES, 1993) nos servidores do laboratório NIH-MBI (<http://nihserver.mbi.ucla.edu>). Os gráficos de Ramachandran dos modelos serão conferidos no servidor RAMPAGE (LOVELL et al., 2003).

Dinâmica molecular dos modelos

Conhecendo o modelo inicial dos pares de proteínas do complexo, sejam eles preditos por homologia ou obtidos diretamente a partir dos bancos de proteínas, o próximo passo envolve a execução de simulações de dinâmica molecular com cada modelo, de modo que se possa melhorar a orientação de suas cadeias laterais e reproduzir a estabilidade estrutural de cada uma em solução. O software GROMACS (BERENDSEN *et al.*, 1995) é usado nas simulações de dinâmica molecular usando seu próprio campo de força. O receptor será solvatado num modelo de caixa cúbica usando o modelo de água SPC. Para tratar as aproximações envolvendo as interações eletrostáticas será usado o método *Particles Mesh Ewald* (DARDEN *et al.*, 1993), cujas condições periódicas de contorno da caixa serão consideradas em todas as direções. O programa *g_cluster* (DAURA *et al.*, 1999), ferramenta do próprio GROMACS, será usado para selecionar aquelas conformações que melhor representem a trajetória ao longo do tempo.

Predição dos modos de interação dos complexos

As estruturas obtidas tanto do banco de dados PDB como pelo processo de modelagem por homologia descrito acima, serão decompostas em seus domínios

conservados identificados no banco de dados *Pfam*¹ (PUNTA *et al.*, 2012). Cada domínio será utilizado como entrada para uma busca por similaridades estruturais com proteínas que conhecidamente realizam interações com outras, utilizando para isso o programa *Kpax*² (RITCHIE *et al.*, 2012).

Busca de inibidores por triagem virtual de alto desempenho (vHTS)

Possíveis sítios de ligação das IPPs geralmente são submetidos a uma campanha de varredura virtual para identificar moléculas com potencial terapêutico e/ou com potencial para fins de diagnóstico. Cada alvo é submetido à ancoragem molecular virtual por meio dos programas GOLD 5.1³ (CCDC, Cambridge, Reino Unido) e AutoDock VINA (CHANG *et al.*, 2010; MANUSCRIPT, 2011; TROTT & OLSON, 2010). Para explorar a flexibilidade dos ligantes, o número de execuções do algoritmo genético do GOLD (VERDONK *et al.*, 2003) é estabelecido em 50. O método de ranqueamento dos resultados por este programa será o GoldScore, que leva em consideração energias de pontes de hidrogênio e van der Waals entre ligante e proteína, assim como torção e energias de van der Waals do ligante. A coleção de compostos virtuais com atividade anti-IPP é utilizada, e as moléculas que apresentarem os melhores resultados *in silico* serão encomendadas para posteriores testes *in vitro* a nível de inibição de atividade enzimática e produção de subprodutos que subsidiem futuros processos em diagnóstico, tratamento ou identificação de microrganismos patogênicos.

Refinamento das interações proteína-ligante

Para os ligantes selecionados como potenciais candidatos a inibir a interação dos complexos, por exemplo, os modos de interação preditos na etapa anterior para cada um deles, são submetidos a novas simulações de dinâmica molecular para determinar as interações intermoleculares entre eles quando solvatados. Nessa etapa, a topologia de cada ligante é gerada usando o GlycoBioChem PRODRG2SERVER (SCHÜTTELKOPF & VAN AALTEN, 2004) e a topologia do receptor usando o campo de força GROMOS96. Ainda, é possível realizar nesta etapa a seleção de compostos que possuam afinidades pelas regiões do receptor que não sejam propriamente aquelas da interação entre o receptor e a proteína ligante, mas também pelas regiões da superfície da proteína, cuja interação com os compostos possam alterar a estrutura do sítio de interação e inibir a interação do complexo proteína-proteína. Esse tipo de análise, somente poderá ser verificado por meio de simulações de dinâmica molecular para os compostos selecionados. Por isso, é fundamental na etapa anterior, relativa à triagem virtual de compostos, que os testes de *docking* sejam realizados não somente para um sítio de interação particular, mas pelo menos para as cavidades consideradas mais importantes da superfície do receptor, pois deste modo conseguimos entender

1 <http://pfam.sanger.ac.uk>

2 <http://kpax.loria.fr>

3 <http://www.ccdc.cam.ac.uk/Solutions/GoldSuite/Pages/GOLD.aspx>

não apenas a relação de inibição do complexo para fins terapêuticos como também é possível analisar toda a superfície da proteína inferindo assim novas possibilidades de interações que possam contribuir por exemplo para kit's comerciais de diagnóstico rápido.

CONCLUSÃO

A partir das fontes literárias discutidas, visualizamos os avanços na área da bioinformática aplicada à microbiologia onde é possível Identificar proteínas que interagem entre si, bem como identificar compostos de origem natural ou sintética, que possam inibir a interação entre as proteínas, visando diversas utilizações tais como no tratamento quimioterápico e diagnóstico sensível e específico de doenças causadas por microrganismos patogênicos.

Observamos neste estudo que é possível identificar proteínas ligantes de proteínas específicas de microrganismos utilizando ferramentas de bioinformática no estudo de interatoma virtual. Vimos também a possibilidade de validar os complexos identificados no interatoma virtual através de *blue native* (BN-PAGE) e espectrometria de massas.

Finalmente, concluímos que com as técnicas de bioinformática já disponíveis em plataformas gratuitas é possível identificar compostos que interferem nas interações entre as proteínas ligantes de fungos, vírus e bactérias utilizando *docking molecular* e *screening virtual*, visando o desenho racional de fármacos e métodos sensíveis de análises das proteínas de membrana, parede ou do citoplasma destes microrganismos.

REFERÊNCIAS

ALONSO, H., BLIZNYUK, A. A., et al. (2006) *Med Res Reviews*. 26:531–68.

BAIROCH, A., APWEILER, R. The SWISS-PROT protein sequence data bank and its supplement TrEMBL in 1998. *Nucleic Acids Research*, v. 26, p. 38–42, 1998.

BERENDSEN, H. J. C., VAN DER SPOEL, D., et al. (1995) *Comput Phys Commun*. 91:43–56.

BIESIADA, J. (2011) *Human genomics*. 5:497–505.

BOGAN, A. A., THORN, K. S. (1998) *J Mol Biology*. 280:1–9.

BUCHWALD, P. I. (2010) *UBMB life*. 62:724–31.

COLOVOS, C., YEATES, T. O. (1993) *Protein Science*. 2:1511–1519.

CHANG, M. W. (2010) *PloS one*. 5:e11955.

CLACKSON, T., WELLS, J. A. (1995) *Science*. 267:383–6.

DARDEN, T., YORK, D., et al. (1993) *J Chem Phys*. 98:10089–10092.

DAURA, X. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 38, n. 1-2, p. 236–240, jan. 1999.

- ESWAR, N. (2003) *Nucleic Acids Res.* 31:3375–3380.
- FENN, J. B.; MANN, M., et al. (1989.) *Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules.* Science.
- GROSS, B.A. Conf. Proc. IEEE Eng. (2004.) Med. Biol. Soc. BioMEMs., v. 7, p. 5129,
HALPERIN, I.(2002) *Proteins.* 47:409–443.
- HART, G. T., RAMANI, A. K., et al. (2006) *Genome Biol.* 7:120.
- HOCHSTRASSER, D. F., APPEL, R. D., et al (1995.). *Sharing of worldwide spread knowledge using hypermedia facilities and fast communication protocols (Mosaic and World Wide Web): the example of ExPASy.* Methods of Information in Medicine.
- ILLERGÅRD, K., ARDELL, D. H., et al. (2009) *Proteins.* 77:499–508.
- JANSEN, R., GREENBAUM, D., et al. (2002) *Genome Res.* 12:37–46.
- LEE, I. (2004) *Science.* 306:1555–8.
- LENSINK, M. F., WODAK, S. J. (2010) *Proteins.* 78:3073–84.
- LIMONGELLI, V. (2012) *Proc Nat Ac Sci USA.* 109:1467–72.
- LOVELL, S. C. (2003) *Proteins: Struct, Funct Bioinf.* 50:437–450.
- MANUSCRIPT, A. J. (2011) *Comput Chem.* 31:455–461.
- PIERROT, C. (2012) *Curr Pharm Design.* 18:3522–30.
- PUNTA, M. (2012) *Nuc Acid Res.* 40::D290–301.
- RITCHIE, D. W. (2012) *Bioinformatics.* 28:3274–81.
- ROCHA, T. L.; COSTA, P. H. A.; et al. (2005). *Eletroforese bidimensional e analise de proteomas.* Comunicado Técnico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.
- SANTANA, J.M., GRELLIER, P., et al. (1992) *Biochem Biophys Res Commun.* 187:1466-1473.
- SIPPL, M. J., WIEDERSTEIN, M. (2008) *Bioinformatics.* 24:426–7.
- SCHÜTTELKOPF, A. W., VAN AALTEN, D. M. F. (2004) *Act Crystal Section D Biol Crystal.* 60:1355–1363.
- TROTT, O., OLSON, A. J. (2010) *J Comput Chem.* 31:455–461.
- VERDONK, M. L. (2003) *Proteins.* 52:609–623.
- WANG, Y.C. (2013) *BMC Systems Biol.* 7:79.

SOBRE O ORGANIZADOR

Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia. Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Também possui seu segundo Pós doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com Análise Global da Genômica Funcional e aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany.

Palestrante internacional nas áreas de inovações em saúde com experiência nas áreas de Microbiologia, Micologia Médica, Biotecnologia aplicada a Genômica, Engenharia Genética e Proteômica, Bioinformática Funcional, Biologia Molecular, Genética de microrganismos. É Sócio fundador da “Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde” (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Como pesquisador, ligado ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG), o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-337-8

