

Modelagem molecular comparativa da enzima Adenosina Kinase isoforma 1 (AK1) de *Schistosoma mansoni*

Luana Kziozek

Universidade Estadual do Paraná, campus de União da Vitória
Contato: kluanak5@gmail.com

Carla Andreia Lorscheider

Universidade Estadual do Paraná, campus de União da Vitória
Contato: carla.lorscheider@unespar.edu.br

Larissa Romanello

Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG) Unidade Ituiutaba
Contato: larissa.romanello@gmail.com

Resumo: O *Schistosoma mansoni*, parasito responsável pela esquistossomose mansônica, depende integralmente da via de salvação de purinas para o suprimento das bases púricas. Uma vez que o parasito não possui a via de síntese dessas bases, a via de salvação representa um alvo potencial para o desenvolvimento de novos fármacos. A adenosina kinase (AK) é uma das principais enzimas dessa via na síntese direta de adenosina monofosfato (AMP) a partir de adenosina. No genoma do parasito foram identificadas duas isoformas da AK, no entanto, apenas a estrutura tridimensional de *SmAK2* (Smp_008360) foi resolvida experimentalmente. Assim, a modelagem comparativa foi utilizada como ferramenta para prever a estrutura da isoforma *SmAK1* (Smp_008400) e possibilitar a análise comparativa entre as duas estruturas. A modelagem foi realizada através do software Swiss-Model, o refinamento no 3Drefine, a validação no PDBsum, a observação e análise da estrutura e a comparação entre as isoformas no PyMOL. As estruturas tridimensionais da *SmAK1* e *SmAK2* possuem 80% de identidade e as sobreposições obtiveram RMSDs de 0.155 Å e de 0.167 Å atestando a similaridade do enovelamento entre ambas. Os modelos gerados possuem 343 resíduos de aminoácidos e os gráficos de Ramachandran demonstram que 94,1% dos resíduos estão em regiões favoráveis, 5,5% em regiões adicionalmente permitidas e 0,3% em regiões não permitidas garantindo a confiabilidade dos modelos gerados. As análises comparativas do sítio ativo da AK humana com relação a *SmAK1*, demonstram pouca variação nos aminoácidos que os constituem, como a substituição da Ser65 na AK humana pelo resíduo equivalente Ala79 na *SmAK1* e a não interação da adenosina com a Ala136 na humana, que corresponderia aos resíduos funcionais Thr150 da *SmAK1* e Thr136 da *SmAK2* dos sítios ativos. Os resultados obtidos sugerem que dados de ensaios cinéticos com ligantes e possíveis inibidores sejam realizados para complementar os dados obtidos e embasar conclusões sobre a viabilidade da enzima como alvo potencial para o desenvolvimento de novos fármacos.

Palavras-chave: Predição estrutural; *In silico*; método computacional; modelo 3D.

Comparative molecular modeling of the enzyme Adenosine Kinase Isoform 1 (AK1) of *Schistosoma mansoni*

Abstract: *Schistosoma mansoni*, the parasite responsible for schistosomiasis mansoni, depends entirely on the purine salvage pathway for the supply of purine bases. Since the parasite does not have the pathway for synthesis of these bases, the pathway of salvation is a potential target for the development of drugs. Adenosine kinase (AK) is one of the main enzymes of this pathway in the direct synthesis of Adenosine monophosphate (AMP). Two isoforms of AK were identified in the parasite genome, however, only the three-dimensional structure of *SmAK2* (Smp_008360) has been solved experimentally. Thus, comparative

modeling was used as a tool to predict the structure of the SmAK1 isoform (Smp_008400) and enable comparative analysis between the two structures. The modeling was performed using the Swiss-Model software, the refinement in 3Drefine, the validation in PDBsum, the observation and analysis of the structure and the comparison between isoforms in PyMOL. The three-dimensional structures of SmAK1 and SmAK2 have 80% identity and the overlaps obtained RMSDs of 0.155 Å and 0.167 Å attesting to the similarity of the folding between both. The generated models have 343 amino acids residues, and the Ramachandran graphs show that 94.1% of the residues are in favorable regions, 5.5% in additionally permitted regions and 0.3% in non-permitted regions guaranteeing the reliability of the generated models. Comparative analyzes of the active site of human AK with respect to SmAK1, show little variation in the amino acids that constitute them, such as the replacement of Ser65 in human AK by the equivalent residue Ala79 in SmAK1 and the non-interaction of adenosine with Ala136 in humans, which correspond to the functional residues Thr150 from SmAK1 and Thr136 from SmAK2 of the active sites. The results obtained suggest that data from kinetic assays with ligands and possible inhibitors are carried out to complement the data obtained and support conclusions about the viability of the enzyme as a potential target for the development of new drugs.

Keywords: Structural prediction; *In silico*; computational modeling; 3D structure.

Como citar este artigo:

KZIOZEK, I.; LORSCHIEDER, C.A.; ROMANELO, L. Modelagem molecular comparativa da enzima Adenosina Kinase isoforma 1 (AK1) de *Schistosoma mansoni*. Luminária, União da Vitória, v.23, n.02, p. 36 – 45, 2021.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a esquistossomose é popularmente conhecida como "xistose", "barriga-d'água" ou "mal-do-caramujo". É uma doença parasitária, inicialmente assintomática, caracterizada como um importante problema de saúde pública no país, pela dimensão da prevalência, rigor das formas clínicas e desenvolvimento da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Considerada negligenciada no mundo, o único fármaco utilizado para seu tratamento apresenta limitações, como baixa eficácia e reações adversas, e casos de resistência do parasita são reportados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; FALLON; DOENHOFF, 1994; FALLON et al., 1995).

A esquistossomose atinge milhões de pessoas no mundo, e o Brasil é caracterizado como uma das maiores regiões endêmicas, com detecção em todas as regiões do país, sendo a causadora expressiva de formas graves e mortalidade da população (NEVES et al., 2004). As unidades federadas mais atingidas compreendem os estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte (faixa litorânea), Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e

Minas Gerais (predominantemente no norte e nordeste do estado) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Essas regiões não possuem saneamento básico ou estão com saneamento básico inadequado, o que se caracteriza como um agravante na disseminação da doença, já que esta é contraída através do contato humano com águas contaminadas com as formas infectantes do *S. mansoni* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Outros fatores, como o nível socioeconômico, ocupação, lazer, grau de educação e informação da população exposta à doença, atuam como condicionantes e contribuem para a ocorrência da esquistossomose numa localidade (NEVES et al., 2004; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Uma medida para reduzir as infecções do parasito no Brasil foi o programa de controle da esquistossomose, implantado entre 1976 e 1993, que “resultou em significativa redução da prevalência da doença e da incidência de formas graves. No entanto, foi observado o surgimento de novos focos” (QUEIROZ, 2012). Mundialmente, o tratamento direto, com o indivíduo já infectado, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) e os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), utiliza apenas um tipo de fármaco, o praziquantel (PZQ). Entretanto, sua eficácia está associada somente à forma adulta do verme e

requer a presença de uma reposta madura de anticorpos ao parasito (CDC, 2017; OMS, 2018). A utilização de um único fármaco como método de controle e tratamento pode gerar o surgimento de cepas resistentes, através do mecanismo de pressão seletiva (COELHO et al., 1997 apud COUTO, 2010). Relatos de resistência ao PZQ são registrados desde a década de 90 (FALLON; DOENHOFF, 1994; FALLON et al., 1995), fato este que associado a falha de outros medicamentos previamente utilizados e torna evidente a necessidade de desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da esquistossomose (KATZ et al., 1973).

A inibição do funcionamento seletivo de vias metabólicas de parasitos é uma forma de obtenção de novos fármacos. Há evidências de que *S. mansoni*, ao contrário de seu hospedeiro humano, não desenvolve a via *de novo*, de síntese de purinas, sendo dependente da via de salvação de purinas para a síntese de nucleotídeos, que utiliza bases pré-moldadas do hospedeiro para suprir sua necessidade dessas bases, o que foi confirmado em estudos (DOVEY; MCKERROW; WANG, 1984; SENFT et al., 1972). Considera-se então que a via de salvação de purinas é um alvo interessante para gerar novos fármacos específicos para o controle e tratamento da esquistossomose (ROMANELLO et al., 2013).

Na via de salvação em *S. mansoni*, Stegman et al. (1973) demonstraram que a adenosina pode ser processada por dois mecanismos, uma via direta utilizando a enzima adenosina kinase (AK) que produz diretamente AMP, e a via indireta composta por várias enzimas e etapas, muito mais ativa que a direta. Para este estudo, o foco está direcionado à enzima adenosina kinase protagonista da via direta, que possui, no genoma do *S. mansoni*, duas isoformas identificadas: a enzima *SmAK2* (isoforma Smp_008360) e a *SmAK1* (isoforma Smp_008400). *SmAK2* foi resolvida experimentalmente por cristalografia por difração de raio-X (ROMANELLO et al., 2013).

A modelagem comparativa é uma técnica que se baseia no alinhamento dos aminoácidos entre proteína-alvo e proteína-molde e no compartilhamento da conformação espacial entre esses resíduos. Exige apenas que a

proteína molde tenha sido resolvida por método experimental e é considerado um método acessível, rápido e de baixo custo (CALIXTO, 2013). Assim, objetivando predizer a estrutura da *SmAK1*, o método de modelagem comparativa foi utilizado.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelagem molecular comparativa

A sequência de aminoácidos da proteína alvo, a *SmAK1* (Fasta: Smp_008400) foi obtida no *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), um banco de dados público que abrange sequências de nucleotídeos, referências bibliográficas e anotações de apoio (BENSON et al., 2013). A proteína molde, *SmAK2* do parasito (PDBs: 3VAS; 3UQ6; 3UQ9; 4DC3; 3VAQ) (ROMANELLO et al., 2013) foi selecionada a partir da Ferramenta de Pesquisa de Alinhamento Local Básico Proteínas (BLASTp) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Todos os candidatos resultantes do BLASTp são estruturas resolvidas por métodos experimentais. Esses moldes são avaliados segundo grau de identidade, organismo, *e-value*, *query cover*, resolução e ligantes.

A previsão de uma estrutura, a partir da sequência por comparação com uma estrutura homóloga conhecida é satisfatória quando a homologia da sequência é superior a 50% (CHOTHIA; LESK, 1986). Assim, os dados obtidos pelo BLASTp, revelam que a proteína molde apresenta 79% de identidade sequencial.

Os moldes foram selecionados de acordo com o grau de identidade e qualidade de resolução das estruturas, quanto menor o valor em angstroms (Å) mais alta é a resolução, influenciando também na qualidade da proteína modelada. Os PDBs utilizados foram 3UQ6 (2,3 Å) com os ligantes adenosina e AMP, e 3VAS (2,26 Å) com o ligante adenosina e conformação de *loop* ocluído. O modelo da proteína alvo foi obtido pelo *Swiss-model* (<https://swissmodel.expasy.org/>), um servidor online para modelagem comparativa automatizada de estruturas de proteínas tridimensionais (3D). Para utiliza-lo o usuário fornece o alinhamento da sequência de aminoácidos da proteína para modelar com estruturas relacionadas conhecidas, então o software calcula automaticamente um modelo contendo todos os átomos, implementando uma

modelagem da estrutura proteica pela satisfação de restrições espaciais. O servidor também pode realizar outras tarefas, incluindo modelagem *de novo* de loops, otimização de vários modelos em relação a uma função objetiva definida, alinhamento de múltiplas sequências e/ou estruturas de proteínas, agrupamento, busca de sequências em bases de dados, comparação de estruturas proteicas, entre outras ferramentas de obtenção e análise de modelos (SCHWEDE et al., 2003).

Para o refinamento de cada modelo, a ferramenta web 3Drefine (<http://sysbio.rnet.missouri.edu/3Drefine/>) foi utilizada. O servidor aproxima o modelo inicial ao da estrutura nativa de forma consistente, baseando-se na otimização da rede de ligações de hidrogênio e aplicando a minimização de energia no nível atômico no modelo otimizado usando campos de força baseados em física composta (BHATTACHARYA; CHENG, 2012).

A validação do modelo foi efetuada através do servidor online PDBsum (<http://www.ebi.ac.uk/pdbsum>). O banco de dados fornece um resumo das moléculas em cada arquivo PDB (ou seja, proteínas, ácidos nucleicos, ligantes, moléculas de água e metais), assim como análises de suas características estruturais. Inclui imagens da estrutura primária e secundária de cada cadeia proteica, análises estruturais detalhadas geradas pelo programa PROMOTIF e diagramas esquemáticos das interações proteína-ligante. Estão também presentes scripts RasMol, que destacam os principais aspectos da estrutura, como os domínios da proteína, os padrões de sítio ativo e as interações proteína-ligante, quando disponível. O PROCHECK, também incorporado no PDBsum, verifica a qualidade estereoquímica da estrutura proteica, utilizando uma série de scripts que analisam sua geometria geral, resíduo por resíduo (LASKOWSKI et al., 1997).

Obtida e validada a estrutura, as análises foram realizadas utilizando o programa de visualização de estruturas tridimensionais PyMOL (SCHRÖDINGER) (<https://pymol.org/2/>), um sistema gráfico molecular gratuito de plataforma cruzada que permite, além da visualização e geração de imagens de alta qualidade, a análise de dados moleculares.

RESULTADOS E DISSCUSSÃO

Estrutura e comparações estruturais entre as isoformas

A sequência de aminoácidos da isoforma Smp_008400 (*SmAK1*) depositada no Genbank (mais facilmente encontrada pelo *locus* XP_018648833.1) possui 366 resíduos de aminoácidos. O alinhamento das estruturas primárias de *SmAK1* e *SmAK2* (enzima alvo) demonstra que ambas possuem 80% de identidade sequencial determinada pela ferramenta de web Blastp. No alinhamento (figura 1) da Smp_008400 e Smp_008360 é possível observar que poucos aminoácidos são divergentes em similaridade entre as isoformas.

Smp_008400	MRDLPEGYVFGMGNFLDLILVDADDYMYERYELQKDNAILAEHEHMAIYDEIQKRKDVKY 60
Smp_008360	MHDLSEGYVFGMGNFLDLILVDADDYMYERYELQKDNIVLAEERHMTIYDEIQKRKRLNY 60
Smp_008400	YAGSATLNTVVMIQWIIQKPFVCSYVGCIGADIQSKYIKNDCRGLDVRTDFPQITTKPLKT 120
Smp_008360	IAGSATLNTVVMIQWIIQKPFVCSYVGCIGADIQSKYIKNDCRGLDVRTDFPQIAEEFLMT 120
Smp_008400	GKVAVLISEKLRSMVTVLGAACDLSLAHIEQPHWVSLVEKAGVYVIAGVYVINTCYEGMLK 180
Smp_008360	GKVAVLVSEKLRSMVTVLGAACDLSLAHIEQPHWVSLVEKAGVYVIAGVYVINTCYEGMLK 180
Smp_008400	IAKHSLENEKLCFNLSTATFLPRNTKEVNEMISYSRIVIGNESEAAATFGEVHSLTDGTV 240
Smp_008360	IAKHSLENEKLCFNLSTATFLPRNTKEVDEMIYSYINIVFGNESEAAATFGEVHSLTDGTV 240
Smp_008400	HEAAQYIADLFFADGKRRRLVITQGRDPIYADSTDPVHVQVVEQLKDEEMVDNNGA 300
Smp_008360	HATARYIADLFFADGKRRRLVITQGRNELLVTDSSDSIHQNMVQGFDDQIIDNNGA 300
Smp_008400	GDFFAAGFIADYIRNKFMITSLQSGVKAAYIIRRSGFSLGLRESAFAKINL 352
Smp_008360	GDAFAAGFIADYIRGKFMITSLHAAVKAAAYIICRSQFSLGSRDSYSLKINK 352

Figura 1. Alinhamento das sequências de *SmAK1* e *SmAK2*. A linha *cons* (caracteres de pontuação) indica o índice de conservação dos aminoácidos, sendo um “*” representando conservação total (mesmos aminoácidos); um “:” indicando similaridade média (aminoácidos com característica parecidas) e uma baixa similaridade para os campos sem nenhum caractere ou com um “.”.

Fonte: ROMANELLO et al., 2013.

No Swiss-Model o modelo gerado possui 343 resíduos tanto para o molde 3UQ6 quanto para o 3VAS. Os gráficos de Ramachandran (Figura 2) demonstraram que 94,1% dos resíduos estão em regiões favoráveis, 5,5% em regiões adicionalmente permitidas e 0,3% em regiões não permitidas. Na região não permitida encontra-se o resíduo Ser 211. Este resíduo está localizado no loop que se liga à fita $\beta 10$ e à α -hélice11, estando aparentemente conservado, pois o resíduo também está nesta conformação e região não permitida do gráfico de Ramachandran na *SmAK2*, AK humana, AK *Anopheles gambiae* e AK do *axoplasmagondii* (ROMANELLO et al., 2013).

Modelagem molecular comparative da enzima Adenosina ...

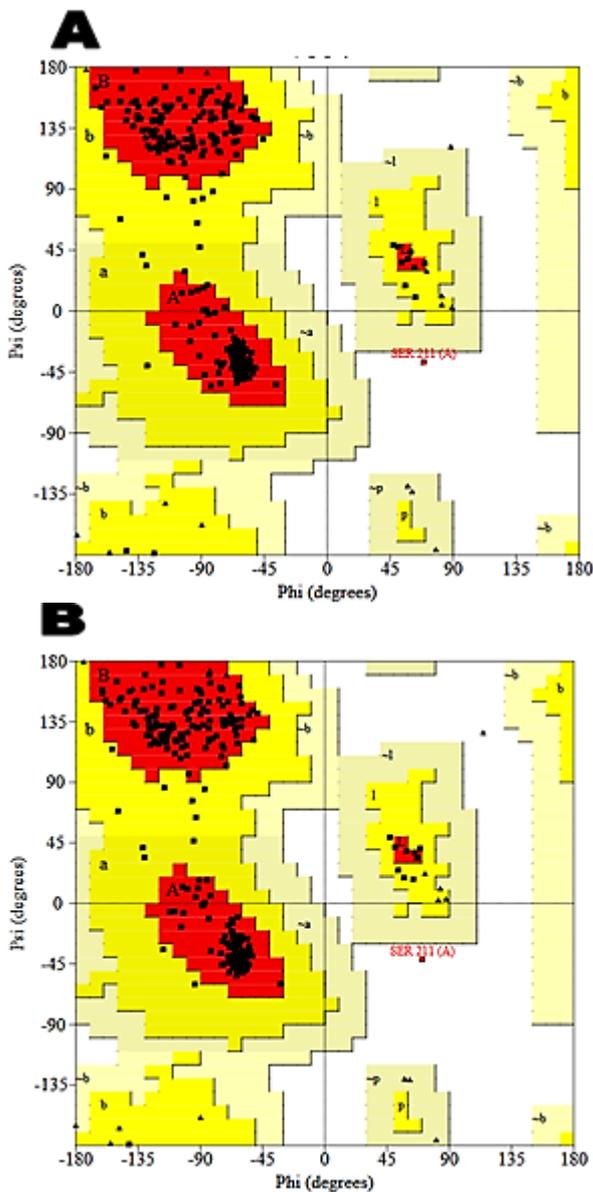


Figura 2. Diagramas de Ramachandran gerado utilizando o PDBsum com as distribuições dos ângulos diedros para as estruturas da SmAK1 com (A) obtida a partir do PDB 3UQ6 e (B) obtida a partir do PDB 3VAS. As regiões representadas em vermelho correspondem às regiões mais favoráveis, as regiões em amarelo escuro são as adicionalmente permitidas, amarelo claro são as generosamente permitidas e as regiões em branco são as regiões não permitidas, para os valores dos ângulos. As glicinas são representadas por triângulos.

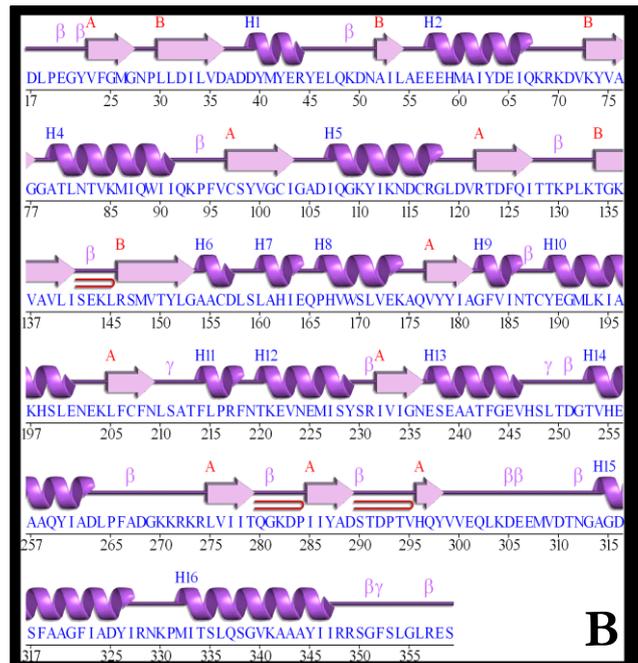
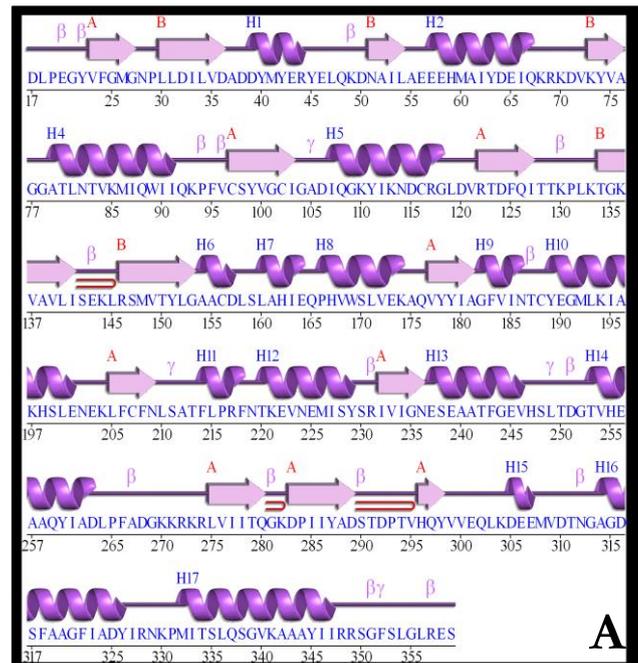


Figura 3. Estrutura secundária de Smp_008400 com (A) obtida a partir do PDB 3UQ6 e (B) obtida a partir do PDB 3VAS. As fitas β são representadas por setas, as α -hélices por espirais com a respectiva numeração em cima (H1, H2...H17), as 2 folhas β são classificadas como A e B, sendo essas letras colocadas acima das fitas identificando a qual folha pertencem. Os símbolos: β - beta turn, γ - gammaturn e - beta hairpin. Esquema gerado utilizando o PDBsum.

Modelagem molecular comparative da enzima Adenosina ...

A *SmAK2* é “estruturalmente composta por: 2 folhas β , 15 fitas β (10 da folha A e 5 da folha B), 2 β bulges, 18 α -hélices (5 hélices 3-10), 21 interações entre as hélices, 16 β turns, 3 β hairpins e 4 γ turns” (ROMANELLO et al., 2013). Já a *SmAK1*, difere em número com 14 fitas β , 1 β bulge, 16 ou 17 α -hélices (com 3 ou 4 hélices 3-10), 19 ou 20 interações entre hélices, 17 ou 16 β turns e 3 ou 4 γ turns (Figura 3). A diferença no número de α -hélices, interações entre hélices, β turns e γ turns entre os modelos obtidos a partir da *SmAK2* 3UQ6 e *SmAK2* 3VAS se deve ao fato de que possivelmente o programa de modelagem Swiss-Model considerou alguns resíduos como formadores de *loops* ou a falta de compatibilidade com alguns aminoácidos da fita molde.

A sobreposição da *SmAK1* (modelada com a 3UQ6) com a *SmAK2* (3UQ6) obteve RMSD de 0.155Å (Figura 4), em verde e vermelho respectivamente), e da *SmAK1* (modelada com a 3VAS) com a *SmAK2* (3VAS) obteve RMSD de 0.167Å (Figura 4), em azul e amarelo respectivamente). Atestando a semelhança estrutural entre as enzimas, esperada pelo alto grau de identidade entre ambas.

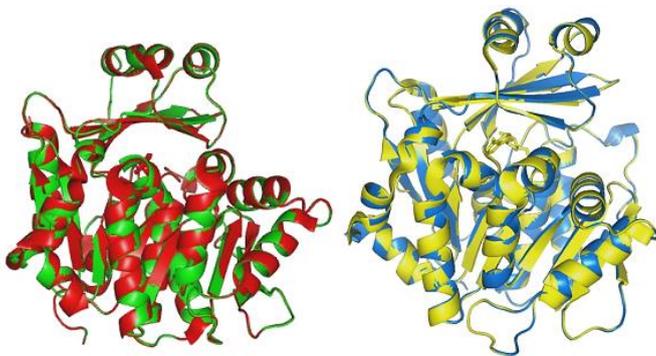


Figura 4. Alinhamento das estruturas tridimensionais de SmAK1 e SmAK2. Em vermelho e verde estão representadas a SmAK2 PDB 3UQ6 e SmAK1 (modelada a partir do PDB 3UQ6), respectivamente, com RMSD de 0.155 angstroms. Em amarelo e azul representadas a SmAK2 PDB 3VAS e SmAK1 (modelada a partir do PDB 3VAS), respectivamente, com RMSD de 0.167 angstroms. Figuras geradas através do PyMOL.

Essa alta identidade entre a *SmAK1* e *SmAK2* (Figura 5) revela a conservação de uma grande similaridade estrutural, dividida em dois

domínios: domínio superior, chamado de tampa, e domínio maior, logo abaixo (ROMANELLO et al., 2013), e duas sequências de aminoácidos características da família ribokinase, à qual pertencem, di-glicina Gly63 e Gly64 na *SmAK2*, Gly77 e Gly78 na *SmAK1* (Figura 6). Estas regiões conservadas são muito importantes no mecanismo catalítico da enzima (ROMANELLO et al., 2013).

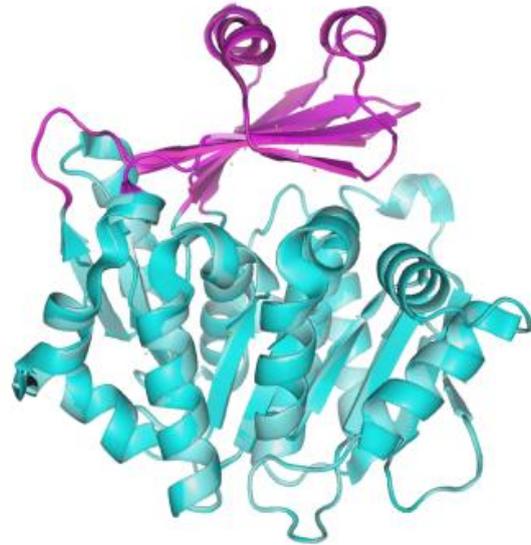


Figura 5. SmAK1 e SmAK2 sobrepostas demonstrando o domínio superior, tampa (magenta), e inferior (azul claro).

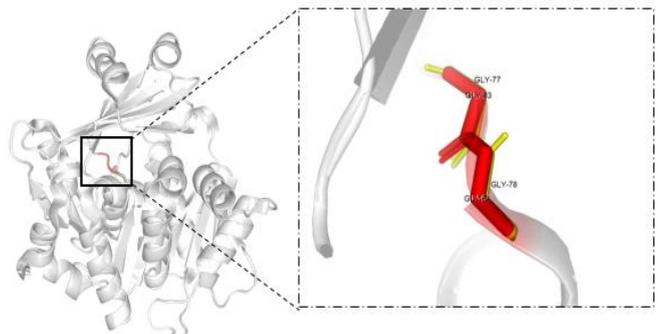


Figura 6. Sobreposição das di-glicinas de *SmAK1* (em amarelo) e *SmAK2* (em vermelho).

Sítio ativo

De modo geral, as AKs, pertencentes a superfamília ribokinase, possuem a característica de ter um sítio ativo localizado em um sulco superfamília ribokinase, possuem a característica de ter um sítio ativo localizado em um sulco pouco

Modelagem molecular comparative da enzima Adenosina ...

profundo entre os domínios ao longo da borda da folha β , com o fosfato aceptor do grupo hidroxila e γ -fosfato do ATP juntos no meio desse sulco, e o substrato e o ATP ligados nas extremidades (ZHANG, DOUGHERTY e EALICK, 2004).

As análises do sítio de ligação da adenosina das isoformas demonstram que não há alteração nos resíduos que os compõem. A adenosina é então estabilizada na *SmAK1* por três moléculas de água (11, 157 e 160) e pelos resíduos: *SmAK1* Thr150, correspondente na *SmAK2* a Thr136; *SmAK1* Asp32 = *SmAK2* Asp18; *SmAK1* Gly78 = *SmAK2* Gly64; *SmAK1* Asp316 = *SmAK2* Asp302 e *SmAK1* Asn82 = *SmAK2* Asn68.

De forma similar, as análises do sítio de ligação de ATP também demonstram que não há alteração nos resíduos que o compõe. Desta forma, o AMP é estabilizado pelas interações e ligações de hidrogênio que realiza com quatro moléculas de água (45, 64, 65 e 156) e com os resíduos Thr279 correspondente na *SmAK2* a Thr265 e Gly281 correspondente a Gly267, na *SmAK1* e *SmAK2* sucessivamente (ROMANELLO et al., 2013). A figura 7 demonstra a adenosina inserida no sítio ativo da *SmAK1* e a figura 8 demonstra o AMP (provenientes da estrutura molde) no sítio de ligação de ATP da *SmAK1*.

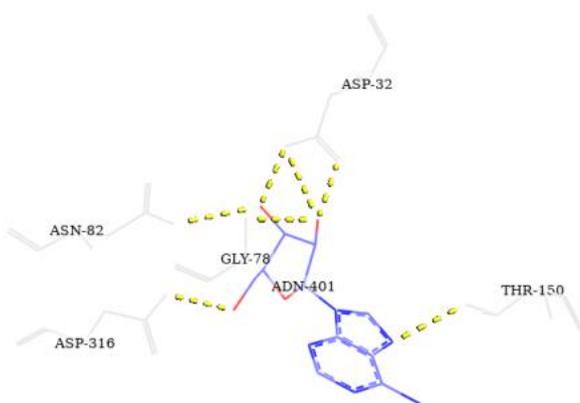


Figura 7. Sítio ativo da *SmAK1* com a Adenosina. Demonstra a conservação dos aminoácidos 136Thr150, 18Asp32, 64Gly78, 302Asp316 e 68Asn82 (cinza). Interações polares (amarelo).

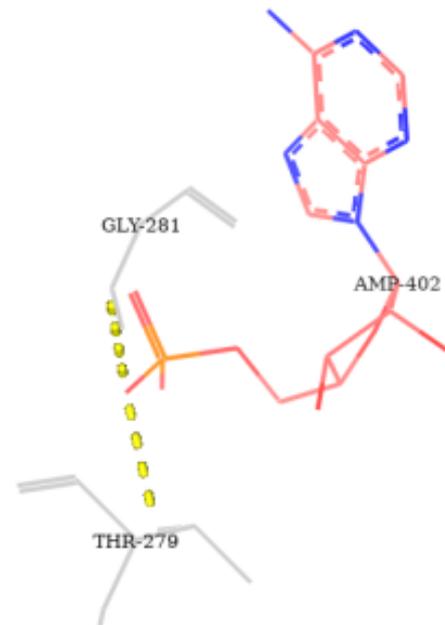


Figura 8. Sítio de ligação da ATP da *SmAK1*. Demonstração da AMP interagindo com os aminoácidos 267Gly281 e 265Thr279 (cinza). Interações polares (amarelo).

Comparando AK humana com *SmAK2* do parasita, Romanello et al. (2013) observou que a região mais interna do sítio ativo é bastante conservada, pela presença da sequência de aminoácidos 296DTNGAGD302, e a região mais externa correspondente a uma alça (*loop*), exposta ao solvente, onde se liga a base nitrogenada do ATP é pouco conservada. Observa também que há substituições nos aminoácidos Lys68Arg, Phe289 por Asp 288 e Lys290 por Gln289, na *SmAK2* e AK humana, respectivamente. Já no sítio de ligação de ATP, há uma substituição no resíduo Gly289 que a AK humana faz interação com o substrato por uma Lys290 no parasita, mudando a orientação da cadeia lateral para o solvente. A figura 9 demonstra a sobreposição e a figura 10 demonstra o alinhamento da estrutura da AK humana com as AKs de *S. mansoni*.

Nas análises da AK humana com a *SmAK1*, observa-se a substituição da Ser65 na AK humana pelo resíduo equivalente Ala79 na *SmAK1* (Figura 11). Não é visível a interação da adenosina com a Ala136 na humana, que corresponderia aos resíduos funcionais Thr150 da *SmAK1* e Thr136 da *SmAK2* dos sítios ativos (Figura 12).

As comparações com a AK humana demonstraram diferenças entre alguns resíduos na região do sítio ativo que sugerem que esses dados devem ser complementados com ensaios de cinética enzimática com substratos e inibidores seletivos compatíveis com o parasito para inferir se esta enzima pode ser um bom alvo para o desenvolvimento de novos fármacos.

REFERÊNCIAS

- BHATTACHARYA, D.; CHENG, J. 3Drefine: Consistent protein structure refinement by optimizing hydrogen bonding network and atomic-level energy minimization. **Proteins: Structure, Function, Bioinformatics**, v. sk81, n. 1, p. 119-131, 2012.
- BENSON, D. A. et al. GenBank. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p. D36-D42, 2013.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. COORDENAÇÃO-GERAL DE DESENVOLVIMENTO DA EPIDEMIOLOGIA EM SERVIÇOS. **Guia de Vigilância em Saúde: volume único** [recurso eletrônico]. 4ª. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2019.725 p.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Boletim Epidemiológico. **Doenças tropicais negligenciadas**. Número Especial, 2021. 76 p.
- CALIXTO, P. H. M. Aspectos gerais sobre a modelagem comparativa de proteínas. **Ciência Equatorial**, v. 3, n. 1, 2013. 9-16.
- CDC. Saúde Global. Divisão de Doenças Parasitárias. Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). **Infecção por esquistossomose**. 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>. Acesso em: 01 dez 2019.
- CHOTHIA, C.; LESK, A. M. The relation between the divergence of sequence and structure in proteins. **The EMBO Journal**, v. 8, n. 4, p. 823-826, 1986.
- COUTO, F. F. B. **Resistência ao praziquantel por pressão quimioterápica em Biomphalariaglabrata infectada com Schistosoma mansoni**. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte, p. 99. 2010.
- DOVEY, H. F.; MCKERROW, J. H.; WANG, C. C. Purine salvage in *Schistosoma mansoni* schistosomules. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 11, p. 157-167, 1984.
- FALLON, P. G.; DOENHOFF, M. J. Drug resistant schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. **American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, n. 1, p. 83-88, 1994.
- FALLON, P. G. et al. Short Report: Diminished Susceptibility to Praziquantel in a Senegal Isolate of *Schistosoma mansoni*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 1, p. 61-61, 1995.
- LASKOWSKI, R. A. et al. PDBsum: a web-based database of summaries and analyses of all PDB structures. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 22, n. 12, p. 488-490, 1997.
- KATZ, N. et al. Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 7, n. 6, p. 381-387, 1973.
- NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 11ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 498 p.
- OMS. Organização Mundial da Saúde. **Schistosomiasis**. 2018. Disponível em: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>. Acesso em: 01 dez 2019.
- QUEIROZ, R. F. G. E. **Desenvolvimento e padronização de novas metodologias aplicadas ao diagnóstico e monitoração de cura da esquistossomose mansoni na fase inicial (aguda) e crônica**. Programa de Pós-Graduação

Modelagem molecular comparativa da enzima Adenosina ...

em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Belo Horizonte, p. 188. 2012.

ROMANELLO, L. et al. Adenosine kinase from *Schistosoma mansoni*: structural basis for the differential incorporation of nucleoside analogues. **Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography**, v. 69, n. Pt 1, p. 126-136, 2013.

SENFT, A. W. et al. Purine metabolism in *Schistosoma mansoni*. **International Journal for Parasitology**, v. 2, n. 2, p. 249-260, 1972.

SCHWEDE, T. et al. SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server. **Nucleic Acids Research**, v. 31, n. 13, p. 3381–3385, 2003.

STEGMAN, J. R. et al. Pathways of nucleotide metabolism in *Schistosoma mansoni* - IV: Incorporation of adenosine analogs *in vitro*. **Biochemical Pharmacology**, v. 22, n. 4, p. 459-468, 1973.

SCHRÖDINGER, LCC. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0.

Recebido em: 06/01/2021.

Aceito em: 02/02/2022.